

Elis Regina Varalda Rodrigues

**EFEITO ANTIOXIDANTE DA ERVA MATE (*Ilex
paraguariensis*) EM VOLUNTÁRIOS SADIOS**

BRAGANÇA PAULISTA

2009

Elis Regina Varalda Rodrigues

**EFEITO ANTIOXIDANTE DA ERVA MATE (*Ilex
paraguariensis*) EM VOLUNTÁRIOS SADIOS**

ORIENTADOR

Prof. Dr. Marcelo Lima Ribeiro

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências da Saúde da Universidade São Francisco (USF) para a obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

BRAGANÇA PAULISTA

2009


577.23 Rodrigues, Elis Regina Varalda.
R612e Efeito antioxidante da Erva Mate (*Ilex paraguariensis*)
em voluntários sadios / Elis Regina Varalda Rodrigues --
Bragança Paulista, 2009.
82 p.

Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-
Graduação *Stricto Sensu* em Ciências da Saúde da
Universidade São Francisco.
Orientação de: Marcelo Lima Ribeiro.

1. Erva Mate (*Ilex paraguariensis*). 2. Estresse
oxidativo. 3. Ensaio cometa. 4. Malonaldeído. I. Título.
II. Ribeiro, Marcelo Lima.

Ficha catalográfica elaborada pelas bibliotecárias do Setor de
Processamento Técnico da Universidade São Francisco.

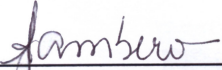
RODRIGUES, Elis Regina Varalda. “Efeitos Antioxidante da Erva Mate (*Ilex paraguariensis*) em voluntários sadios”. Dissertação defendida e aprovada no programa de Pós Graduação *Stricto Sensu* em Ciências da Saúde da Universidade São Francisco em trinta de Junho de 2009 pela Banca examinadora constituída pelos professores:



**Prof. Dr. Marcelo Lima Ribeiro- Orientadora e Presidente
Universidade São Francisco**



**Prof(a). Dr(a). Fernanda Borchers Coeli
Centro Universitário Amparense**



**Prof(a). Dr(a). Alessandra Gambero
Universidade São Francisco**

Dedicatória

Aos meus pais – Ivani e Juarez (in memória)

Aos meus irmãos e família – Regina e Nestor, Patrícia, Júlia e Gustavo

Aos meus tios com carinho – Inis e Arnaldo Varalda (in memória)

Aos meus queridos avós: Bohemia (in memória) e Ângelo (in memória)

Aos meus queridos amigos e companheiros nesta jornada

Às minhas lindíssimas e queridas: Teca, Flor e Sol.

Agradecimentos

*Ao Prof. Dr. Marcelo Ribeiro pela valiosa orientação
Imprescindível para a boa qualidade desta pesquisa de mestrado, pelos direcionamentos
que contribuíram na minha formação como pesquisadora.*

*À toda equipe do Laboratório do Prof. Dr. Marcelo,
que muito contribuíram, e pelos momentos de paciência e compreensão, e dedicação, em
especial para o Mestre Demétrius, e as discentes Karina e Tanila.*

*À equipe do laboratório da Profa Dra. Patrícia, pela atenção, carinho e ajuda, durante a
coleta de dados, em especial para a discente Fernanda, pelas suas orientações e auxílio.*

*Aos meus alunos da enfermagem-Pedro, Marcelo, Bárbara e Vânia, pela contribuição no
desenvolvimento do trabalho, durante a coleta, e também pelo carinho e dedicação.*

*Aos amigos pela compreensão da ausência durante todo o processo de desenvolvimento da
pesquisa,*

e em especial para as queridas amigas:

*Márcia Thomaz, Dra. Amariles e Profa Estatística Márcia, não só pelas palavras
de conforto e estímulo, mas por o todo o tempo de dedicação.*

*Um agradecimento especial à Faculdade de Medicina de Jundiaí, à coordenadora de
enfermagem.*

*Profa Dra. Maria Cristina Traldi e Diretor Dr. Itibagi Rocha Machado,
pelo incentivo e confiança.*

*Agradecimento também especial à coordenadora de enfermagem da Universidade São
Francisco*

Profa. Dra Beatriz e à todas as colegas e amigas de trabalho.

*À todos que direta e/ou indiretamente colaboraram com o
desenvolvimento deste trabalho de pesquisa.*

Aos voluntários pela participação e dedicação.

À Deus e Nossa Senhora..... sempre presente em todos os momentos!

*"Somos feitos para o esquecimento.
Mas algo fica, e esse algo é a história ou a poesia,
que não são essencialmente distintas."*

Jorge Luis Borges

Sumário

1 – INTRODUÇÃO.....	11
1.1 Estresse Oxidativo.....	13
1.1.1 Radicais Livres.....	13
1.1.2 Antioxidantes.....	15
1.1.3 Estresse Oxidativo.....	19
1.2 Erva Mate.....	19
1.2.1 Utilização da erva mate.....	20
1.2.2 Utilização da erva mate como chá – principais produtos.....	21
1.2.3 Composição e propriedades funcionais da erva mate.....	23
2– OBJETIVOS.....	26
2.1 Objetivo geral.....	27
2.2 Objetivos específicos.....	27
3 – MATERIAL E MÉTODO	28
3.1 Material Vegetal.....	29
3.2 Desenho experimental.....	29
3.2.1 Chá mate.....	29
3.2.2 Seleção dos voluntários.....	30
3.2.3 Avaliação Fisiológica: Peso e Altura e Pressão Arterial.....	32
3.2.4 Coleta de Exames.....	33
3.3 Determinação da atividade antioxidante – Ensaio cometa	33
3.4 Determinação da atividade antioxidante – Método TBARS.....	35

3.5 Análise estatística.....	36
4 - RESULTADOS.....	37
4.1 Voluntários.....	38
4.2 Determinação da atividade antioxidante – Método TBARS.....	38
4.3 Determinação da atividade antioxidante – Ensaio Cometa.....	39
5 - DISCUSSÃO.....	41
6 - CONCLUSÃO.....	46
REFERÊNCIAS.....	48
ANEXOS.....	63
1 Controle da Ingestão do chá mate.....	64
2 Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	65
3 Questionário de Avaliação Geral.....	68
4 Recordatório Alimentar.....	70
5 Inventário dos Sintomas de Estresse de Lipp.....	72
6 IV Diretriz de pressão Arterial da Soc. Brás. De Hipertensão.....	74
7 Tabelas de Caracterização dos Voluntários.....	77

RESUMO

Estudos atuais mostram o papel de vários nutrientes antioxidantes na prevenção de doenças e alterações orgânicas. O Estresse oxidativo é uma alteração no equilíbrio dos Radicais Livres, resultando em dano tecidual ou na produção de compostos tóxicos ou danosos aos tecidos, causando alterações às proteínas e ao DNA, com danos às funções celulares, além de diminuir as reservas celulares de substâncias antioxidantes. A erva mate (*Ilex paraguariensis*) é um produto natural, com um papel importante no estresse oxidativo das células e tecidos, reconhecida por ter propriedades antiinflamatórias, terapêuticas, estimulantes, diuréticas, entre outras. Há várias pesquisas sobre a erva mate, sendo a maioria voltada para estudos epidemiológicos e suas atividades no organismo humano. Estudos comparativos entre o chá verde e o vinho, relacionam a erva mate com alterações antioxidantes e de lipoproteínas. Mas há escassez de pesquisas em seres humanos, relacionando o consumo da erva mate com alterações orgânicas. Este trabalho teve como objetivo verificar os efeitos biológicos da erva mate no organismo, através da avaliação do estresse oxidativo em seres humanos. Foi desenvolvido em 33 voluntários, sendo 15 (45%) homens e 18 (55%) mulheres, que por 60 dias ingeriram o chá mate, na dosagem de 2,5 g/dia em 200 ml de água. Foi coletado sangue - antes do início da ingestão e após 60 dias de consumo - para avaliação do TBARS em linfócitos lisados e avaliação do cometa, podendo assim ser avaliado não só a atividade antioxidante, mas também o estresse oxidativo no DNA. As análises dos níveis de TBARS mostraram uma redução significativa na concentração de malonaldeído formado nos linfócitos lisados. Constatou-se que após o uso contínuo por 60 dias do chá mate, os voluntários apresentaram uma redução significativa dos níveis de estresse oxidativo ao DNA. Podemos concluir que os dados apontam uma redução nos danos oxidativos ao DNA e proteína, indicando uma possível proteção após a ingestão de chá mate.

Descritores: erva mate (*Ilex paraguariensis*), estresse oxidativo, ensaio cometa, malonaldeído.

ABSTRACT

Recent studies show the role of several antioxidant nutrients on illness prevention and organic alterations. The oxidative stress is an alteration on the Free Radicals equilibrium, resulting in a tissue damage or in the production of toxic compounds or compounds harmful to tissues, causing proteins and DNA alterations, with damage to cell functions, in addition it reduces the cell reserves of antioxidant substances. Yerba mate (*Ilex paraguariensis*) is a natural product with an important role on cells and tissues oxidative stress, being recognized as having anti-inflammatory, therapeutic, stimulant and diuretic properties, among others. Several researches have been made on yerba mate, most of them related to epidemiologic studies and its activities on human organism. Comparative studies with green tea and wine relate the yerba mate to antioxidant alterations and alterations of lipoproteins. Nevertheless, there is a shortage of researches on yerba mate in human beings, relating its consumption to organic alterations. The aim of this work is to verify the biologic effects of yerba mate in the organism, by evaluation of oxidative stress in human beings. It was developed with 33 volunteers, being 15 (45 %) men and 18 (55 %) women, who ingested mate tea in the dosage of 2.5 g/day in 200 mL of water for 60 days. Blood was collected – before the beginning of ingestion and after the 60 days of consumption – to TBARS evaluation in lysed lymphocytes and comet test, being possible in this way to evaluate not only the antioxidant activity, but also the DNA oxidative stress. Analysis of TBARS levels has shown a significative reduction on the concentration of malonaldehyde formed in the lysed lymphocytes. It was verified that after the continuous use of mate tea for 60 days, the volunteers presented a significative reduction on the levels of oxidative stress to DNA. We conclude that the data suggest a reduction on oxidative damages to DNA and protein, indicating a possible protection after the ingestion of mate tea.

Key-words: yerba mate (*Ilex paraguariensis*), oxidative stress, comet assay, malonaldehyde.

Introdução

1. Introdução

O estresse, as doenças e determinadas alterações orgânicas podem produzir oxidação celular, porém alguns substratos têm a capacidade de prevenir essa oxidação, melhorando a qualidade de vida do indivíduo. Nesse sentido, estudos que vêm sendo realizados, demonstram o potente papel dos nutrientes antioxidantes na prevenção desses males.

As pesquisas que têm sido feitas com a erva mate apontam para os benefícios que seu consumo traz à saúde, por conta da sua atividade antioxidante *in vitro* e *in vivo*, entre outros efeitos fisiológicos (Bastos e Torres, 2003; Bastos et al, 2006; Heck e Mejia, 2007).

Outros trabalhos, ainda, relacionam o uso do cigarro, fumaça do cigarro, uso de álcool, exercício físico em demasia, estresse diário, com os efeitos que os Radicais Livres (RL) podem causar no organismo, e seus danos irreparáveis (Mayne, 2003; Fagundes et al., 2006).

Rosein *et al* (2004) relata alguns estudos sobre o estresse no organismo e sua relação com os danos oxidativos, com alteração do sistema imunológico, provocando no indivíduo, infecções; alterações de colesterol, de vitaminas do complexo B, vitamina C, Cálcio, Magnésio, Ferro e Zinco.

1.1 Estresse Oxidativo

1.1.1 Radicais Livres

Os radicais livres são átomos ou moléculas que possuem um elétron ímpar em sua última camada eletrônica, e esse não emparelhamento lhe confere alta reatividade (Ferreira e Matsubara, 1997). Tem grande importância na manutenção das funções fisiológicas, além de serem mediadores para a transferência de elétrons em várias reações bioquímicas, além de desempenharem ações relevantes no metabolismo (Leite e Sarni, 2003).

Podemos encontrar como fonte de radicais livres as organelas citoplasmáticas, que metabolizam o oxigênio, o nitrogênio e o cloro. Sua produção excessiva leva a danos celulares e ao desenvolvimento de doenças. Nesse caso, os antioxidantes auxiliam a neutralizar direta ou indiretamente, diminuindo ou retardando lesões celulares (Shami e Moreira, 2004).

O oxigênio é um fornecedor de Radicais Livres, além do superóxido, radical de hidroxila, peróxido de hidrogênio e oxigênio singlet (Pereira, 1996).

O radical superóxido (O_2^- ou $O_2^{\cdot-}$ ou O_2^{\cdot}) é produzido pela reação de moléculas dentro da mitocôndria, em decorrência do metabolismo aeróbico, tendo como ação a defesa imunológica, o que auxilia nas doenças inflamatórias. Porém, quando sua produção é excessiva, pode provocar lesões nos tecidos. O radical hidroxila (OH^{\cdot}) é o mais reativo dos sistemas biológicos e pode reagir e alterar qualquer estrutura celular, tanto das enzimas, das membranas ou dos ácidos nucleicos, pela inativação ou mutação do DNA.

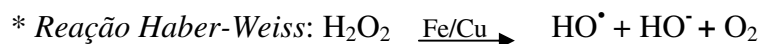
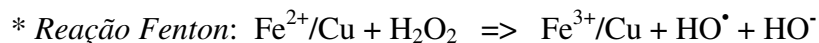
O Peróxido de hidrogênio (H_2O_2) não é considerado um radical livre, devido à ausência de elétrons desemparelhados na última camada, mas por representar um

metabólito de oxigênio parcialmente reduzido é capaz de atravessar camadas lipídicas. No entanto, pode ser altamente tóxico quando na presença de ferro em excesso (como nas doenças hereditárias, secundárias como a anemia, na sobrecarga dietética de Ferro, nas politransfusões de hemoderivados do sangue). O oxigênio singlet (O_2) é uma forma de oxigênio molecular, mas não possui elétrons desemparelhados em sua última camada. Está presente em algumas alterações biológicas, mas sua presença tem pouca relevância em algumas doenças (Ferreira e Matsubara, 1997; Shils *et al.*, 2003; Schneider e Oliveira, 2004).

Nas espécies de nitrogênio, o óxido nítrico (NO), além de muito reativo, atua no processo oxidativo em vários processos fisiológicos (como no relaxamento do músculo liso, atua na neurotransmissão e na regulação da imunidade) (Leite e Sarni, 2003; Schneider e Oliveira, 2004).

Os radicais livres constituem uma ação contínua e fisiológica no desenvolvimento das ações biológicas do organismo, e são formados por reações de óxido-redução, isto é, cedem elétrons, oxidando-os, ou recebem outro elétron, reduzindo-se. Tem como fonte principal o oxigênio e seus derivados, através de reações importantes como a de Fenton e a do radical hidroxil (reação Haber-Weiss). Os metais mais importantes envolvidos nas reações são o ferro e o cobre. O ferro entre os dois é o que tem maior disponibilidade.

A Reação de Fenton ocorre quando o radical hidroxil é formado e no momento em que o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) reage com os íons de ferro ou cobre. Na Reação de Haber-Weiss, os íons de metais podem catalisar a reação entre o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o superóxido ($O_2^{\cdot -}$ ou O_2^- ou O_2^{\cdot}), propiciando à produção do radical hidroxil como, conforme relatam Schneider e Oliveira (2004) e Colpo (2007):



Espécies Reativas de Oxigênio (EROs) definem melhor os agentes reativos patogênicos do que os radicais livres, pelo fato de nem todos os elétrons estarem emparelhados em sua última camada. Há ainda as Espécies Reativas de Nitrogênio (ERNs), que também participam da estrutura dos radicais livres, como o óxido nítrico (NO) (Canterle, 2005; Barreiros *et al.*, 2006).

A produção excessiva de EROs e ERNs pode causar danos celulares importantes e levar a cronicidade de várias doenças, porém estas reações podem ser prevenidas ou reduzidas por meio da ingestão de antioxidantes, que estão presentes nos alimentos e produtos, tendo a capacidade de neutralizar a ação ou participar indiretamente dos sistemas enzimáticos para diminuir a ação dos EROs e ERNs (Ferreira e Matsubara, 1997; Shami e Moreira, 2004).

O desequilíbrio dos radicais livres e a velocidade de sua remoção podem causar uma oxidação maciça de substratos biológicos, levando a um estresse oxidativo, provocando lesões celulares e problemas metabólicos, provocando o aparecimento de inúmeras doenças (Shami e Moreira, 2004).

1.1.2 Antioxidantes

São substâncias que, presentes em baixas concentrações, quando comparadas ao substrato oxidável, atrasa ou inibe a oxidação desses substratos de maneira eficaz,

impedindo a sua formação e interrompendo a reação da cadeia oxidativa, para minimizar os estragos causados pelos radicais livres. Esses agentes que protegem as células contra os efeitos dos radicais livres podem ser classificados de antioxidantes enzimáticos ou não-enzimáticos (Shami e Moreira, 2004).

As principais substâncias responsáveis pela defesa antioxidante, segundo sua estrutura são:

- **Superóxido dismutase (SOD)**: corresponde a uma família de enzimas; existem duas formas: SOD-cobre-zinco (presente no citosol) e SOD-manganês: localizado primariamente na mitocôndria, tem papel antioxidante, pois catalisa a dismutação (onde o elemento é ao mesmo tempo oxidado e reduzido, ou quando duas moléculas são transformadas em compostos diferentes) do radical superóxido em H_2O_2 e O_2 na presença de prótons H^+ , protege o DNA de lesões provocadas pela sobrecarga de Fe^{+++} . É decisiva quanto à proteção contra a toxicidade pelo oxigênio e seus radicais (Ferreira e Matsubara, 1997; Colpo, 2007).

- **Catalase**: converte o peróxido de hidrogênio em H_2O e O_2 . É encontrada no sangue, medula óssea, mucosas, rins e fígado. A suplementação de catalase exógena previne a oxidação da GSH, mediada pelo H_2O_2 em eritrócitos humanos normais (Ferreira e Matsubara, 1997; Colpo, 2007).

- **Glutationa-Peroxidase (GSH-Px)**: a presença de selênio na enzima explica sua importância e atuação como antioxidante. Catalisa a dismutação do peróxido de hidrogênio em H_2O e O_2 (Ferreira e Matsubara, 1997; Colpo, 2007).

- **Glutationa reduzida (GSH)**: a presença de selênio no substrato mostra a importância deste metal e sua atuação como antioxidante. É um dos agentes mais importantes do sistema de defesa antioxidante, protegendo a célula contra lesões à

exposição a agentes como íons de ferro, oxigênio hiperbárico, radiação e luz ultravioleta; diminui a suscetibilidade à lesão renal (pela isquemia e reperfusão); auxilia na síntese do DNA, de proteínas e de algumas prostaglandinas, entre outras ações (Barreiros *et al*, 2006; Colpo, 2007).

- **Vitamina E:** confere proteção à membrana celular por ser quelante dos oxidantes produzidos durante a lipoperoxidação (Bianchi e Antunes, 1999; Barreiros *et al*, 2006).

- **Ácido Ascórbico – Vitamina C:** no organismo é encontrado na forma de ascorbato; é hidrossolúvel, localizado nos compartimentos aquosos dos tecidos orgânicos. Age como redutor, diminuindo os metais de transição (Fe e Cu). Por ser hidrossolúvel, pode neutralizar os ERO, funcionando como pró-oxidante quando em doses altas ou quando expostas a metais, levando a lipoperoxidação (LPO). Protege a oxidação do DNA, prevenindo algumas doenças ou sendo cofator de enzimas de reparação (Bianchi e Antunes, 1999; Barreiros *et al*, 2006).

- **Vitamina A:** importante no crescimento e na diferenciação celular, prevenindo certos tumores, tem ação antioxidante (Bianchi e Antunes, 1999; Barreiros *et al*, 2006).

- **Carotenóides:** como o betacaroteno, o licopeno e a luteína, presente nas frutas e vegetais; tem estrutura química composta por ligações duplas conjugadas; são excelentes oxidantes, seqüestrando e inativando os radicais livres. Tem a função antioxidante em fase lipídica, bloqueando os radicais livres.

Naves e Moreno (2000), atribuem ao betacaroteno uma tendência a atividade quimiopreventiva na hepatocarcinogênese. Serra e Campos (2006) relatam a importância dos betacarotenos nas atividades antioxidantes. Scolastici (2006) mostra no seu experimento *in vitro* que o tratamento prévio e simultâneo com licopeno foi eficaz em reduzir os níveis de danos no DNA, induzidos pelo H₂O₂, quando avaliados pelo ensaio em

teste do cometa. Nachtigall (2007) comenta sobre o poder antioxidante da luteína, prevenindo danos causados pelos radicais livres nos tecidos, com proteção ocular e prevenção da aterosclerose, da catarata, do câncer de cólon e de outras patologias.

- **Flavonóides:** é um composto fenólico, presente nos vegetais e frutas. Como propriedades, seqüestram os radicais livres, inativando-os (Bianchi e Antunes, 1999). Os mais investigados são: (1) Ácido caféico, ácido gálico e ácido elágico - que auxiliam na inibição do processo de peroxidação lipídica; (2) Quercetina componentes de frutas, vegetais, podem reagir com o ferro e tornar-se pró-oxidante; (3) Miricetina e rutina - eficientes nos danos oxidativos pela H_2O_2 no DNA dos linfócitos; (4) Cumarina - tem efeito antipirético, efeito na carcinogênese (Stasi, 1995); (5) Ácido clorogênico - encontrado em grãos de soja, tem atividade antioxidante biológica (Soares, 2002).; (6) Ácido Ferúlico - possui uma boa atividade antioxidante, embora possua baixa solubilidade neste sistema, limitando em parte, sua utilização e seu potencial antioxidante, mas pode ser modificado para se tornar lipossolúvel através de alquilação ou esterificação com ácidos graxos de cadeia longa ou álcoois (Soares, 2002); (7) Ácido protocatequínico, gentísico, vanílico - mais encontrados em farelo de trigo (Soares, 2002).

- **Saponinas:** contém ação mucolítica, diurética e depurativa (Gambeta, 2008).

- **Teobramina e teofilina:** agem no relaxamento dos músculos lisos, são estimulantes cardíaco, diurético e vasodilatador (Gambeta, 2008)

- **Minerais:** o selênio, o cobre e o zinco, quando reduzidos, alguns autores relatam (Scieszka *et al*, 1997; Grigolo *et al*, 1998) como consequência uma concentração menor de antioxidantes no organismo e maior suscetibilidade a danos oxidativos importantes, com pré-disposição ao desenvolvimento de tumores e processos carcinogênicos.

1.1.3 Estresse Oxidativo

O Estresse oxidativo é uma alteração no estado de equilíbrio dos radicais livres, dos sistemas pró-oxidantes, resultando em dano tecidual ou na produção de compostos tóxicos ou danosos aos tecidos. Uma das principais lesões é a lipoperoxidação (LPO), onde há oxidação da camada lipídica da membrana celular, com danos às proteínas, ao DNA e às funções celulares, além de provocar a diminuição das reservas celulares de substâncias antioxidantes, como a glutatona e vitamina-E (Shils *et al.*, 2003; Schneider e Oliveira, 2004).

Vários estudos mostram o papel do estresse oxidativo nas células e tecidos, relacionando-o a etiologia de várias doenças, como: câncer, aterosclerose e doenças cardiovasculares, distúrbios reumáticos, diabetes, alterações oculares, alterações renais, doenças auto-imunes, desnutrição, lesões de pele, reações às drogas, doenças inflamatórias, alterações pancreáticas e envelhecimento (Bianchi e Antunes, 1999; Shils *et al.*, 2003; Giada e Mancini Filho, 2006).

1.2 Erva mate

A erva mate (*Ilex paraguariensis*) é um importante produto natural, reconhecida por ter propriedades antiinflamatórias, terapêuticas, estimulantes, diuréticas entre outras. Muito utilizada na medicina popular, é recomendada por herboristas para a artrite, dor de cabeça, constipação, reumatismo, hemorróidas, obesidade, fadiga, retenção de líquido, hipertensão, digestão lenta e desordens hepáticas (Anesini *et al.*, 2006).

A erva mate é uma árvore da família Aquifoliácea, originária da região subtropical da América do Sul. A classificação botânica da erva mate foi feita pelo naturalista francês Auguste Saint Hilare e foi registrada no Museu de História Natural de Paris com o nome de *Ilex paraguariensis* St. Hil (Ferrari, 2006).

Os maiores produtores de erva mate na América do Sul são o Brasil, o Paraguai e a Argentina. Quanto à produção, a Argentina lidera em primeiro lugar, vindo em seguida o Brasil (Miloca, Lobo e Martins, 2006).

O plantio no Brasil ocorre principalmente nos estados do Mato Grosso do Sul, Paraná, Santa Catarina, Rio Grande do Sul e São Paulo. Dados do IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística) de 1996 mostram que a produção, a exportação e o consumo aumentaram significativamente entre os anos de 1992 e 1996. As indústrias ervateiras estão em maior número no Rio Grande do Sul, depois no Paraná, Santa Catarina e por último em Mato Grosso (Neumann, 1999; Miloca, Lobo e Martins, 2006). Quanto à produção, segundo dados do IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e estatística) de 1998, está mais concentrada nos Estados do Paraná (49,4%), de Santa Catarina (21,4%), do Rio Grande do Sul (28,1%) e Mato Grosso (1,1%) (IBGE).

1.2.1 Utilização da erva mate

Os componentes presentes nas folhas da erva mate tem permitido a sua utilização além das bebidas quentes ou frias como o chimarrão, tererê e chá mate (queimado verde ou cozido e solúvel). Seu uso é feito também de maneira alternativa em processos industriais, como por exemplo (Kummer, Moura e Almeida, 2005; Maccari Jr , 2000 e2005):

- Extrato de folha diluído: utilizado em refrigerantes, sucos, cerveja e vinho;

- Clorofila e óleo essencial: para insumos alimentares, como sorvetes, balas, chicletes e bombom;
- Extrato de cafeína e teobramina e extrato de flavanóide: para medicamentos;
- Extrato de saponina e óleo essencial: para higiene em geral;
- Extrato de folhas seletivo e clorofila: para produtos de uso pessoal (perfumes, desodorantes, sabonetes).

1.2.2 Utilização da erva mate como chá – principais produtos

Chimarrão e Tererê

O chimarrão e o tererê são denominações dadas tradicionalmente à erva-mate seca, triturada e socada, com grande porcentagem de paus, folhas, pó e goma. O chimarrão é destinado à degustação em cuia, com água quente conservando o paladar amargo, enquanto o tererê consiste em infusão de erva mate e é degustado com água gelada (Bastos e Torres, 2003, Embrapa, 2006).

O processamento da erva mate para chimarrão e tererê consiste basicamente de três etapas: sapeco, secagem e cancheamento. O sapeco é realizado junto ao fogo direto e consiste na passagem rápida dos ramos com folhas sobre as chamas do sapecador. O equipamento consiste de um cilindro metálico, perfurado e inclinado, através do qual a erva colhida passa recebendo as chamas. Esta etapa tem por função a retirada da umidade superficial e inativação de enzimas (peroxidase e polifenoloxidase) que causam a oxidação do produto. A temperatura média da erva na entrada do sapecador é de 400°C e na saída é de 65°C. O tempo de residência oscila em torno de 8 minutos, porém tanto esse tempo

quanto a temperatura média da erva nos secadores, podem variar dependendo das características operacionais de cada sistema.

No secador de esteira, o tempo médio é de 3 horas e a temperatura varia entre 90 e 110°C. No secador rotativo, o produto permanece em contato direto com a fumaça por aproximadamente 30 minutos. No entanto, a temperatura não apresenta a mesma uniformidade da utilizada no secador de esteira, sendo que na entrada do secador a temperatura média é de 350°C e na saída 110°C. O cancheamento consiste na trituração da erva após o processo de secagem. Em seguida, a erva é peneirada e o material coletado passa a denominar-se erva cancheada. Esta pode ser usada diretamente como matéria-prima para a produção de chás ou após passar por um processo de soque, como chimarrão (Esmelindro *et al.*, 2002; Bastos e Torres, 2003).

Chá mate tostado

A erva mate padronizada para preparação do chá mate tostado é o produto beneficiado, constituído somente de folhas ou de folhas e de galhos triturados e tostados em equipamentos apropriados. A erva mate passa por um sistema de forno com fogo indireto semelhante ao que se usa para torrefação de café, para então dar origem ao chá mate tostado. Depois de tostado o mate passa por um processo de extração, por água quente e vapor sob pressão, em colunas extratoras, onde são retirados os sólidos solúveis. O líquido extraído (extrato) é adoçado transformando-se em xarope. O extrato é desidratado em contato com ar quente transformando-se em mate solúvel (Bastos e Torres, 2003; Embrapa, 2006).

O processo de torrefação leva a modificações importantes em produtos de origem vegetal devido à degradação térmica progressiva, como a perda de nutrientes, assim como a

possível diminuição do teor de polifenólicos. Contudo, este efeito pode ser minimizado pela formação de produtos antioxidantes da reação de Maillard, tais como as melanoidinas, que possuem uma forte atividade antioxidante atuando como captadores de metais pesados e promovendo a decomposição de hidroperóxidos. Essas mudanças refletem-se na atividade antioxidante desses produtos (Manzocco *et al.*, 2001; Bastos e Torres, 2003).

A erva mate padronizada para preparação do chá mate verde é o produto beneficiado, constituído somente de folhas, ou de folhas e de galhos, triturados, conservando a cor de origem (Bastos e Torres, 2003; Embrapa, 2006).

1.2.3 Composição e propriedades funcionais da erva mate

Ceni (2005) descreve os componentes que constituem a erva mate: água, celulose, gomas, dextrina, mucilagem, glicose, pentose, substâncias graxas, reserva aromática, leguminosas, albumina, cafeína, teofilina, cafeína, ácido matetânico, ácido fólico, ácido caféico, ácido virídico, clorofila, colesteroína e óleo essencial. Ainda nas cinzas encontra-se grande quantidade de potássio, lítio, ácido fosfórico, sulfúrico, carbônico, clorídrico e cítrico, magnésio, manganês, ferro, alumínio e traços de arsênico.

Os principais compostos bioativos presentes na erva mate são os compostos fenólicos, as saponinas e as metilxantinas. Nesta última classe de compostos podemos citar a cafeína, a teobramina e a teofilina (Alikaridis, 1987), componentes de reconhecida ação sobre o sistema nervoso central, aos quais é atribuída a ação estimulante do mate. Dentre a classe de saponinas encontram-se as agliconas, os ácidos ursólico e oleanólico, tais substâncias são responsáveis pelo amargor e espuma do mate e pela atividade antiinflamatória além de outras inúmeras propriedades biológicas (Gnoatto *et al.*, 2007).

Entre os compostos fenólicos, destaca-se o elevado conteúdo de derivados cafeoilquínicos, como o ácido clorogênico (ACGs) e seus isômeros, aos quais se atribui a ação adstringente e antioxidante do produto (Clifford, 1990; Lara Cardozo *et al.*, 2007). Além do ácido clorogênico, os flavonóides rutina, quercetina, diglicosídeo de luteolina, taninos e a cafeoilglicose também estão presentes no extrato aquoso de *Ilex paraguariensis* (Carini *et al.*, 1998; Filip *et al.*, 2001).

O interesse no potencial uso da erva mate para a promoção de saúde é relativamente recente. Em meados da década de 1990 foram publicados os primeiros trabalhos que demonstraram a atividade antioxidante *in vitro* e *in vivo* de infusões de erva mate verde seca em chimarrão (Gugliucci e Stahl, 1995; Campos *et al.*, 1996; Gugliucci, 1996).

Filip *et al.* (2000) e Filip *et al.* (2001) observaram um maior potencial antioxidante da erva mate quando comparada a diferentes espécies de *Ilex* consumidas na América do Sul. No estudo realizado por Bastos *et al.* (2007), os extratos de erva mate verde e tostada apresentaram atividade antioxidante *in vitro* superior à do chá verde (*Camellia sinensis*). Em outra pesquisa verificou-se que a erva-mate apresentava atividade antioxidante equivalente ou superior à vitamina C, Vitamina E, substâncias consideradas como padrão para essa propriedade (Laranjinha *et al.*, 1994; Vinson e Dabbagh, 1998; Schinella *et al.*, 2000; Gugliucci e Menini, 2002; Chandra e Mejia, 2004).

Outras pesquisas publicadas a partir de ensaios com infusões da erva mate verde demonstraram alguns dos efeitos farmacológicos, popularmente atribuídos a esta planta: efeito colerético e de propulsão intestinal (Gorzalczany *et al.*, 2001); inibição da glicação, reação na qual açúcares reagem com proteínas e lipídeos plasmáticos que se acumulam formando locais propícios à formação de radicais livres (Lunceford e Gugliucci, 2005); ação hipocolesterolêmica (Stein *et al.*, 2005) efeito vasodilatador e vasorelaxante (Baisch *et*

al., 1998; Stein *et al.*, 2005); atuação na progressão da aterosclerose (Mosimann *et al.*, 2005) e outros trabalhos sobre a atividade antioxidante relacionados ou não com a inibição do processo de oxidação da LDL (lipoproteína de baixa densidade) e alterações na estrutura e no sistema de reparo do DNA, o que poderia contribuir para prevenção da aterosclerose e câncer (Filip *et al.*, 2000; Gugliucci e Menini, 2002; Bracesco *et al.*, 2003; Ramirez-Mares *et al.*, 2004; Bastos *et al.*, 2006; Menini *et al.*, 2007; Miranda *et al.*, 2008).

A grande maioria das pesquisas aqui relacionadas foi conduzida com a erva mate beneficiada para chimarrão, isto é, a erva mate verde seca e cancheada. A torrefação promove mudanças na composição química da erva mate, como a degradação de cafeína e ácidos fenólicos e a formação de melanoidinas, pirazinas e pirinas, assim como altera a cinética de extração dos compostos bioativos (Bastos *et al.*, 2006), o que pode levar a modificações na biodisponibilidade e em atividades biológicas, como a atividade antioxidante.

Embora haja diversos trabalhos indicando as atividades biológicas da erva mate, os estudos com seres humanos ainda são escassos. Dentre os trabalhos desenvolvidos, em sua grande maioria, os dados foram obtidos a partir de estudos epidemiológicos. Os resultados oriundos desses trabalhos mostram uma associação entre a ingestão de erva mate (chimarrão) com um risco aumentado de desenvolvimento de câncer de esôfago (Dietz *et al.*, 2000; Fagundes *et al.*, 2006). No entanto, outros autores indicam que o risco aumentado de desenvolvimento de câncer de esôfago deve-se a um efeito termogênico, associado à temperatura em que o chimarrão é consumido (Victoria *et al.*, 1990; Castelisague *et al.*, 2000; Sewram *et al.*, 2003; Islami *et al.*, 2009). Tendo em vista a escassez de estudos em seres humanos, foram avaliados os efeitos da ingestão de erva mate nos níveis de danos oxidativos ao DNA e proteínas.

OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar os efeitos biológicos da erva mate no organismo, através da avaliação do estresse oxidativo em seres humanos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar através do método TBARS a existência ou não do estresse oxidativo, antes e após o consumo do chá mate.
- Avaliar por meio do ensaio cometa a atividade antioxidante, antes e após o consumo do chá mate.

MATERIAL E MÉTODO

3 MATERIAL E MÉTODO

3.1 Material vegetal

A erva mate tostada solúvel foi doada pela empresa Leão Jr, de Curitiba, Paraná. Um único lote foi utilizado para todo o experimento. O extrato usado contém 348.80 ± 16.35 mg/g de compostos fenólicos, determinado pelo método de Folin-Ciocalteu que usa ácido 5-cafeoilquínicos como o padrão para a curva de calibração, $5.82 + 0.17$ mg/g de cafeína, $32.25 + 0.50$ mg/g de ácido 5-cafeoilquínicos, ácido caféico $0.58 + 0.01$ e teobramina $3.30 + 0.35$, determinados por HPLC (cromatografia delgada de alta performance).

3.2 Desenho experimental

3.2.1 Chá Mate

Foi utilizado o chá mate liofilizado. Cada voluntário recebia 2,5 g/dia, dissolvido em um copo de 200 ml de água fria e filtrada. Para uma melhor organização na distribuição, diariamente, diluiu-se 62,5 g de chá mate em 5 litros de água, correspondendo a 25 copos. O chá mate liofilizado era pesado em balança digital, diminuindo o risco de erros ou dosagens com valores diferentes.

A Unidade de Farmacologia e Gastroenterologia (UNIFAG) da Universidade São Francisco cedeu um local para a pesquisa. O chá mate era oferecido diariamente nos horários: das 7:00 às 7:45 horas e das 12:00 às 13:00 horas. O controle foi realizado através

de um impresso próprio, com assinatura do voluntário (ANEXO 1), além de ser controlado o estado geral e o uso de medicamentos durante a pesquisa.

3.2.2 Seleção dos Voluntários

Os participantes foram orientados sobre toda a pesquisa, recebendo o Termo de Consentimento, Livre e Esclarecido (ANEXO 2), onde após terem feito a leitura, e concordar, assinaram o termo para participar da pesquisa. Foi aplicado em um primeiro momento um questionário para caracterização dos participantes, onde foram selecionados aqueles inclusos.

Instrumento para caracterização do voluntário

Foram utilizados os seguintes instrumentos de coleta de dados:

✓ Questionário de avaliação das características gerais do voluntário: idade, antecedentes pessoais e familiares, vida social, característica alimentar e estresse diário (ANEXO 3).

✓ Recordatório Alimentar dos últimos três dias da alimentação realizada (ANEXO 4).

✓ Avaliação do Estresse diário: utilizado o questionário de Lipp (2000), (ANEXO 5).

Critérios de Inclusão

1. Idade entre 18 e 35 anos.
2. Índice de massa corpórea (IMC) maior do que 19 (com variação de - 2) e menor do que 32 (com variação de ± 2) (Dietary Guidelines Committee, 1995).

3. Ter boas condições de saúde: não ter doenças ou estar em tratamento médico.
4. Não utilizar nenhum tipo de medicamento.
5. No caso das mulheres participaram aquelas em uso de anticoncepcionais orais.
6. Não ser fumante.
7. Não ser usuário de drogas ilícitas.
8. Não ingerir diariamente bebida alcoólica ou ser. Participaram os voluntários que faziam uso apenas eventualmente, de fim de semana ou feriados em doses mínimas (cerveja – 1 a 2 latas, destilado – 1 a 2 doses), e que no período da pesquisa aceitaram não ingerir nenhuma bebida alcoólica.
9. Manter durante toda a pesquisa, uma alimentação saudável, evitando o consumo de café, chás diversos, chocolate, comidas condimentadas 15 dias antes do início da ingestão do chá mate para a pesquisa, e durante toda a pesquisa.
10. Aceitar a ingestão do chá mate diariamente na UNIFAG - Unidade de Farmacologia e Gastroenterologia (em dias úteis) e realizar a ingestão do mesmo em casa, conforme orientação, nos fins de semana e feriados, durante toda a pesquisa.
11. Aceitar a coleta de sangue antes do início, e periodicamente, até o fim da pesquisa.
12. Ser capaz de compreender a natureza e objetivo do estudo de pesquisa, e com a intenção de cooperar com o pesquisador e agir de acordo com os requerimentos estabelecidos.

Critérios de Exclusão

1. Todo participante que não estivesse de acordo com os critérios de inclusão apresentados acima, e que estivessem com os exames de sangue alterados na primeira coleta, antes do início da ingestão do chá mate.
2. Todos os participantes que faltassem mais de uma vez durante a ingestão do chá mate.
3. Todo participante que desenvolvesse qualquer tipo de doenças ou alteração orgânica, mesmo a gripe ou resfriado ou iniciasse a ingestão de algum tipo de medicamento.

Os voluntários que se adequaram aos critérios acima mencionados receberam orientação sobre o consumo do chá mate e de sua alimentação, durante os 60 dias da pesquisa. Quanto à coleta de exames de sangue, o primeiro foi realizado 15 dias antes do início da ingestão do chá mate. Caso os resultados não estivessem dentro dos padrões de normalidade pré-estabelecidos pelo laboratório, onde foi feita a dosagem, os voluntários não participariam da pesquisa. Uma coleta de sangue adicional foi realizada no final da pesquisa, após 60 dias da ingestão do chá mate.

3.2.3 Avaliação Fisiológica: Peso e altura, e Pressão Arterial (PA)

Os dados antropométricos para o Índice de Massa Corpórea (IMC) e a verificação de Pressão Arterial (PA) foram outros critérios utilizados para a escolha dos voluntários, além de serem controlados após 30 e 60 dias de consumo do chá mate.

A verificação do IMC (Índice de Massa Corpórea) é calculada pela divisão da massa corporal em kilogramas pela estatura, em metros, ao quadrado (P/A^2) (Dietary Guidelines Committee, 1995).

O peso e altura foram aferidos em uma balança antropométrica, com capacidade para 130 kg e variação de 0,1 kg. Todos os voluntários durante o procedimento ficaram sem sapatos, com os bolsos vazios, e mantinham o mínimo de roupa possível (calça comprida, blusa, meias) (World Health Organization, 1990).

Foi utilizada a técnica de verificação de Pressão arterial, seguindo as normatizações segundo a IV Diretriz de Pressão Arterial da Sociedade Brasileira de Hipertensão (ANEXO 6). A verificação da PA foi realizada antes da coleta de sangue.

3.2.4 Coleta de Exames

A primeira coleta de exames de sangue foi realizada 15 dias antes do início da ingestão do chá mate ($T=0$), foi coletado uma amostra de sangue para avaliação do TBARS dos linfócitos lisados e avaliação do cometa. Após 60 dias de consumo do chá mate, foi realizada nova coleta de sangue ($T=1$) para uma nova avaliação do TBARS dos linfócitos lisados e avaliação do cometa..

3.3 Determinação da atividade antioxidante – Ensaio Cometa

Após a retirada do sangue, este foi congelado apropriadamente em freezer a -80°C para a determinação dos danos oxidativos ao DNA. A avaliação dos danos oxidativos ao

DNA de linfócitos foi feita por meio do *comet assay*. Através desta técnica foi possível detectar danos no DNA em linfócitos. A análise de danos foi feita de acordo com o Pool-Zobel *et al.* (1994). Resumidamente, 1,5 ml de sangue foram postos cuidadosamente sobre 1,5 ml de HISTOPAQUE -1077 (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) e centrifugados a 400 g a 20°C por 30 minutos. Após descartar o plasma, os linfócitos foram transferidos para um novo tubo, lavados com 4 ml de solução de Hank's (HBSS, Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) e centrifugados 100 g a 20°C por 15 minutos. Descartado o sobrenadante, as amostras foram ressuspensas em 500 µL de Hank's. A fim de avaliar o possível efeito protetor contra danos oxidativos ao DNA, 200 µL da suspensão celular foi tratada com peróxido de hidrogênio (H₂O₂) 100 µM a 4°C por 30 minutos.

A versão alcalina do ensaio do cometa foi realizada de acordo com Singh *et al.* (1988). Em suma, 10 µl da suspensão celular previamente obtida foram misturados à agarose *low melting point* 0.5 % (Promega), postos sobre uma lâmina e cobertos com uma lamínula. Estas foram imersas em uma solução de lise gelada (2,5 M NaCl (cloreto de sódio), 100 mM EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético), 10 mM Tris (tris-hidroximetil-amino-metano), 1% SDS (Dodecil Sulfato de Sódio), pH 10 com 1% Triton X-100 e 10% DMSO) e permaneceram a 4°C *overnight*. Este procedimento removeu o citoplasma e a maior parte das proteínas nucleares, deixando o DNA *supercoiled* em um formato nucleóide. A presença de quebras no DNA relaxa a sua espiralização e a subsequente eletroforese alcalina relaxa ainda mais as alças do DNA, que ficaram, após a eletroforese, com o aspecto de um cometa. O tamanho da cauda de cometa reflete a extensão das rupturas das hélices de DNA, e pode ser quantificado por métodos de intensificação de imagem e análise computacional.

Após a lise, as lâminas foram expostas a um tampão alcalino (1 mM EDTA e 300 mM NaOH (hidróxido de Sódio), pH~13,4) por 40 minutos a 4°C. A eletroforese foi realizada neste tampão a 4°C por 30 minutos a 25V e 300 mA. Após a corrida, as lâminas foram neutralizadas (0,4 M Tris, pH 7,5), coradas com *SYBR Safe™* (Invitrogen) e analisadas com um microscópio de fluorescência. Cem células foram aleatoriamente selecionadas (50 de cada réplica) e analisadas usando o *software* Komet 5.5 (Kinetic Imaging, USA).

3.4 Determinação da atividade antioxidante – Método TBARS

Encaminhado o sangue para avaliação do cometa são separados os linfócitos lisados, para determinação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), que é uma técnica pela qual se verifica a presença de malonaldeído e de outras substâncias, provenientes da peroxidação lipídica no material biológico (Buege e Aust, 1978), formando um complexo colorido que pode ser quantificado por espectrofotometria.

O conteúdo da substância reativa do ácido tiobarbitúrico (TBARS) foi homogeneizado e determinado da seguinte forma: utilizado 250 µL da amostra de linfócito lisado, 25 µL de BHT (ácido tiobarbitúrico) 4% em metanol, 1 ml de TCA (ácido tricloroacético) 12%, 1 ml TBA 0,73% e 750 µl Tris-Hcl (tris-hidroximetil-amino-metano, ácido clorídrico) com ph 7,4 (Ohkawa *et al.*, 1979).

A solução foi posta em banho-maria a 100°C por 60 minutos, facilitando a reação química, e em seguida no banho de gelo. Acrescentou-se 1,5 ml da solução de Butanol, que permaneceu por 30 segundos no vortex, e por 10 minutos na centrífuga. Aspirou-se o n-butanol (solvente orgânico, que se reproduz em quase todos os solventes orgânicos, e com

relativa solubilidade em água) e realizou-se a leitura no espectrofotômetro da marca Jenway à 532 nm, de absorbância.

3.5 Análise estatística

Para a significância dos dados, utilizou-se a análise de variância (ANOVA), seguido por Bonferroni's post hoc teste para comparações múltiplas. Todos os dados obtidos foram analisados utilizando-se o programa estatístico SPSS 12.0 (SPSS Inc., USA). Os resultados são apresentados como razões de chance com um intervalo de confiança de 95%. As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando $p \leq 0,05$.

RESULTADOS

4 RESULTADOS

4.1 Voluntários

Foram selecionados 68 voluntários, sendo 30 (44%) do sexo masculino e 38 (56%) do sexo feminino. A média de idade geral foi de 24 anos, (Homens 24 ± 6 ; 2,98; Mulheres: $22,6 \pm 6$, 2,92). No decorrer da pesquisa muitos voluntários apresentaram infecção, ou outras alterações orgânicas que os levaram ao uso de antiinflamatórios e antibióticos. Houve outros casos em que os voluntários apresentaram problema renal, sofreram intervenção cirurgia oral, tiveram dor e fizeram uso por tempo prolongado de analgésicos. Por esses motivos, 35 voluntários tiveram de ser eliminados. Ao final do processo foram incluídos no presente trabalho 33, sendo 15 (45%) do sexo masculino e 18 (55%) do sexo feminino.

No Anexo 7 estão dispostas as tabelas com a caracterização dos voluntários, seus dados antropométricos; caracterização da alimentação diária, da pressão arterial, do estado geral e do estresse do dia a dia.

4.2 Determinação da atividade antioxidante – Método TBARS

Na determinação de malonaldeído (MDA) - formado a partir dos linfócitos lisados pelo método de TBARS -, realizado antes e após 60 dias de consumo do chá mate, a Tabela 1 mostra uma redução significativa a 1%, através do teste-t: duas amostras em par para médias.

Tabela 1. Efeito da intervenção da erva mate pela concentração de malonaldeído formado nos linfócitos lisados pelo método TBARS.

	<i>TBA-0°Dia</i>	<i>TBA-60°dia</i>
Média	0,09	0,046
Variância	0,0015	0,0002
P	0,00068484*	

* $p < 0,01$

4.3 Determinação da atividade antioxidante – Ensaio Cometa

Os níveis de danos oxidativos ao DNA dos linfócitos foram avaliados por meio do ensaio cometa. Além disso, a resistência do DNA ao ataque induzido por H_2O_2 foi avaliado como um indicador da capacidade antioxidante. Os resultados provenientes destas análises acham-se descritos na Tabela 2. Os voluntários humanos foram submetidos durante 60 dias ao preparado do chá mate liofilizado, e apresentaram uma redução significativa nos níveis de danos ao DNA, se comparado à dosagem do início da pesquisa - período em que ainda não consumiam o chá mate.

Avaliando-se o efeito protetor contra danos oxidativos ao DNA, induzidos por H_2O_2 , os resultados provenientes das análises dos linfócitos mostraram que a intervenção do chá mate promove uma redução de forma significativa aos danos gerados após o consumo desse líquido (após 60 dias).

Tabela 2 . Efeito da intervenção com erva mate nos níveis de danos oxidativos ao DNA.

Ensaio Cometa	Danos ao DNA		Danos ao DNA induzidos por H ₂ O ₂	
	Antes**	Após**	Antes**	Após**
Homens	0.73 (\pm 0,40)	0.56 (+ 0,16)*	1.03 (\pm 0,18)	0,78 (+ 0,18)*
Mulheres	0.69 (\pm 0,30)	0.54 (+ 0,19)*	1.11 (\pm 0,56)	0.87 (+ 0,39)*

* p < 0,05

** Antes (do início da ingestão do chá mate) Após (60 dias de consumo do chá mate)

DISCUSSÃO

5 DISCUSSÃO

Os radicais livres têm sido objeto de estudo em diversas pesquisas. E os resultados apontam para a ação de substâncias antioxidantes, presentes naturalmente em alguns alimentos. Essas substâncias, de acordo com os estudos, seriam capazes de agir como protetoras dos organismos vivos, frente a esse processo de oxidação (Pereira, 1996; Bianchi e Antunes, 1999), diminuindo assim o estresse oxidativo celular (Shami e Moreira, 2004; Canterle, 2005; Barreiros *et al*, 2006; Colpo, 2007).

Vários são os alimentos ricos em atividades antioxidantes, antimutagênicas e antiinflamatórias. Estudos têm demonstrado que os flavonóides e outros pólifenois promovem efeitos preventivos em várias doenças (Bastos *et al.*, 2008; Clifford, 1999; Scalbert, Williamson, 2000). Sabe-se que os agentes antioxidantes podem proteger o organismo contra o desenvolvimento de diversas doenças, através da remoção dos EROS, antes que estes tenham a chance de induzir danos ao DNA. Com isso, evitam-se doenças e alterações da imunidade, auxiliando inclusive na recuperação de clientes internados por determinadas doenças e/ou alterações (Ames, 1983; Nojiri *et al*, 2001; De La Fuente, 2002; Oldham *et al*, 2002; Pérez *et al*, 2002; Mayne, 2003).

O ensaio de TBARS foi proposto há mais de 40 anos e é um método usado para se descobrir a oxidação lipídica. Este procedimento mede o malonaldeído formado a partir de um subproduto de uma lipoperoxidação. O malonaldeído reage com substância ácido de thiobarbiturico (TBARS) formando um pigmento rosa, medido espectrofotometricamente com o máximo de absorbância entre 532–535 nm (Antolovich *et al.*, 2002). Várias metodologias têm sido aplicadas, a fim de verificar o potencial antioxidante através da

técnica do TBARS. Algumas pesquisas foram realizadas em plasma, em LDL de humanos (Giada e Mancini-Filho, 2002; Grotto *et al.*, 2008), outras pesquisas em tecidos, como o cardíaco (Burneiko *et al.*, 2004), por exemplo. Esta pesquisa empregou o ensaio das substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico (TBARS), avaliando a degradação oxidativa de ácidos, através do então produto chamado malonaldeído nos linfócitos lisados dos voluntários.

Observamos uma redução significativa na concentração do malonaldeído, indicando uma atividade antioxidante da erva mate nas células estudadas, após 60 dias de consumo. De modo complementar, outros autores também reportaram resultados semelhantes em amostras oriundas de plasma de seres humanos, antes e após o consumo do chá mate (Gugliucci, Stahl, 1995; Gugliucci, 1996; Bixby *et al.*, 2005).

A fim de avaliar a ação protetora/antioxidante de compostos naturais e sintéticos, diversos trabalhos mostram que o ensaio cometa (*single-cell gel electrophoresis*) é um método simples, sensível e reprodutível para a avaliação de efeitos antioxidantes *in vivo* e *in vitro*. Através deste é possível detectar quebras em fitas simples e duplas e oxidação em bases do DNA (Festa *et al.*, 2001; Oldham *et al.*, 2002; Porrini *et al.*, 2005). Adicionalmente, vários estudos têm avaliado os efeitos da indução de danos em DNA, por peróxido de hidrogênio (H_2O_2), para verificar a capacidade que as células teriam em se proteger após o desafio com H_2O_2 (Festa *et al.*, 2001; Shi *et al.*, 2002).

Os dados obtidos no presente trabalho indicam que a intervenção da erva mate reduz significativamente os níveis de danos oxidativos ao DNA - com ou sem indução por H_2O_2 - após os 60 dias de consumo do chá mate, quando comparado aos níveis observados anterior à ingestão desse líquido.

O mecanismo de ação proposto relaciona-se, possivelmente, com os altos teores de ácidos caféico e clorogênico (Clifford *et al.*, 1990; Bastos *et al.*, 2006), presentes na erva mate, os quais seriam capazes de quelar metais e sequestrar os radicais livres formados durante o processo oxidativo (Gugliucci, Stahl, 1995; Gugliucci, 1996; Gugliucci, Menini, 2002). Trabalhos recentes sugerem que esses metabólitos são absorvidos no trato gastrointestinal e estão biodisponíveis no plasma dentro de um período de 5 minutos à 4 horas, depois da sua ingestão. O pico de absorção ocorre após uma hora do consumo (Nardine *et al.*, 2002; Monteiro *et al.*, 2005).

Embora muitos trabalhos tenham sido publicados, a respeito dos efeitos benéficos da erva mate, alguns autores relatam uma associação positiva entre o seu consumo e um risco aumentado de câncer de bexiga e renal (Vassallo *et al.*, 1985; De Stefani *et al.*, 1990; De Stefani *et al.*, 1998; De Stefani *et al.*, 2007). Tal associação poderia ser atribuída à presença de alguns compostos carcinogênicos no processo de torrefação da erva mate. Adicionalmente estudos experimentais mostraram que o ácido caféico tem um efeito carcinogênico na bexiga de camundongos (Hagiwara *et al.*, 1991). Além disso, Fonseca *et al.* (2000) sugerem que a erva mate possui atividade mutagênica e clastogênica em cultura de células.

Esta pesquisa, no entanto, mostra que a erva mate não é genotóxica, pois os níveis de danos oxidativos ao DNA nos voluntários que ingeriram o chá mate - mantendo uma dieta normal sem abusos de determinados alimentos – foram mantidos após o período de intervenção.

Com relação ao efeito protetor contra danos oxidativos ao DNA, induzidos por H_2O_2 , os resultados provenientes das análises dos linfócitos indicaram também que a intervenção com chá mate foi capaz de reduzir de forma significativa os danos gerados nos

voluntários após a ingestão desse líquido. Esses achados corroboram dados encontrados em outro trabalho do nosso grupo (Miranda *et al.*, 2008), onde foi observada em camundongos - submetidos a uma dieta normolipídica - a atividade antioxidante da erva mate tostada. Além disso, o mesmo estudo demonstrou que houve uma melhora no sistema de reparo ao DNA, após a intervenção com erva mate. Acredita-se que a proteção observada deva-se a presença dos compostos polifenólicos, que possivelmente neutralizariam os radicais livres, formados pelo peróxido de hidrogênio antes que esses pudessem causar danos ao DNA celular.

CONCLUSÃO

6 CONCLUSÃO

- Observamos uma redução significativa na concentração de nas amostras de linfócitos lisados, após o consumo por 60 dias de chá mate, evidenciando uma atividade antioxidante.
- Em relação aos danos oxidativos ao DNA, estudados por meio do ensaio cometa, observou-se uma redução significativa nos danos do DNA quando comparado aos níveis basais detectados no início do tratamento.
- Adicionalmente, após o desafio com peróxido de hidrogênio verificou-se, por meio do ensaio cometa, que houve uma redução significativa nos danos oxidativos ao DNA, indicando uma possível proteção a esta molécula.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

- ALIKARIDIS, F. Natural constituents of *Ilex* species. **J Ethnopharmacol**,;20(2):121-44, 1987.
- AMES, B. N. Dietary Carcinogens and Anti-carcinogens (Oxygen Radicals and Degenerative Diseases). **Science**, 221, 1256-1264, 1983.
- ANESINI, C; TURNER, S.A; MANUELE, M. G.A; FERRARO, G.A.C.; FILIP R.C. Pharmacological activity of caffeine isolated from *Ilex paraguariensis* on peroxidase secretion in rat submandibular glands. **Pharmacology online**, 3: 372-375, 2006.
- ANTOLOVICH M, PRENZLER PD, PATSALIDES E, MCDONALD S, ROBARDS K. Methods for testing antioxidant activity. **Analyst**, 127, pp.183-198, 2002.
- ASOLINI, F.C.; TEDESCO, A.M.; CARPES, S.T. Atividade antioxidante e antibacteriana dos compostos fenólicos dos extratos de plantas usadas como chás. **Brazilian J of Food Technology**, v.9, n. 3, pp 209-215, jul/set, 2006.
- BAISCH, M.A.C.; JOHNSTON, K.B; PAGANINI STEIN, F.L. Endothelium-dependent vasorelaxing activity of aqueous extracts of *Ilex paraguariensis* on mesenteric arterial bed of rats. **J Ethnopharmacol**, 60 (2), pp.133-139, 1998.
- BARREIROS, A.L.B.; DAVID, J.; DAVID, J.P. Estresse Oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Quim Nova**, v..29, n. 1, pp.113-123, 2006.
- BARRETO, M; SAHR, C.L.L. **A Expansão do Capital Ervateiro e o Modo Faxinalense de Produção no Município de Rebouças – Estado do Paraná**1. XVIII Encontro Nacional de Geografia Agrária . Rio de Janeiro. 06 a 10 de novembro de 2006

BASTOS, D.H.M.; TORRES, E.A.E.S. Mate(*Ilex paraguariensis*) beverages and public health. **Nutrire Rev Soc Brás Aliment Nutr.** São Paulo. v.26, pp. 77-89. dez, 2003.

BASTOS, D.H.M; FORNARI, A.C.; QUEIROZ, Y.S.; TORRES, E.A.F.S.. Bioactive compounds contend of chimarrão infusions related to the moisture of yerbá maté (*Ilex paraguariensis*) leaves. **Braz Arch BiolTechnol**, v.49, n.3, pp.399-404, 2006.

BASTOS, D.H; SALDANHA, L.A.. Phenolic antioxidants identified by EST-MS from yerba mate (*Ilex paraguariensis*) and green tea (*Camelia sinensis*) extracts. **Molecules**. 12 (3), pp.423-32, 2007.

BIANCHI, M.L.P.; ANTUNES, L.M.G. Free Radicals and the Main Dietary Antioxidants. **Rev Nutr**, Campinas, 12 (2), pp.123-130, maio/ago, 1999.

BIXBY, M; SPIELER, L.; MENINI, T.; GUGLIUCCI, A.DSR *Ilex paraguariensis* extracts are potent inhibitions of nitrosative stress: A comparative study wity green tea and wines using a protein nitration model and mammalian cell cytotoxicity. **Life Sci**, 77, pp. 345-358, 2005

BRACESCO,N, DELL,M, ROCHA,A, BEHTASH,S, MENINI,T, GUGLIUCCI,A, NUNES,E. Antioxidant activity of a botanical extract preparation of *Ilex paraguariensis*: Prevention of DNA double-strand breaks in *Saccharomyces cerevisiae* and human low-density lipoprotein oxidation. **J Alter Complement Med**, v.9, n.3, pp.379-387, 2003.

BUEGE, J.A.; AUST, S.D. Microsomal lipid peroxidation. **Meth Enzymol**, v.52, p.302-310, 1978.

BURNEIKO, R.C.; DINIZ, Y.S.; FAINE, L.A.; CICOGNA, A.C.; GALHARDI, C.M.; PADOVANI, C.R.; NOVELLI, E.L.B. Impact of the training program on lipid profile and cardiac health. **Biol Res**, v.37, n.1, 2004.

CANTERLE, L.P. **Erva-Mate e Atividade Antioxidante**. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia dos Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, 2005.

CARINI, M.; FACINO, R. M.; ALDINI, G.; ALLONI, M.; COLOMBO, L. Characterization of phenolic antioxidants from mate (*Ilex paraguariensis*) by liquid chromatography/mass spectrometry and liquid chromatography/Tandem mass spectrometry. **Rapid Commun Mass Spectrom.** v. 12, pp.1813-1819, 1998.

CASTELLSAGUE, X.; MUÑOZ, N.; DE STEFANI, E. VICTORA, C.G.; CASTELLETTO, R.; ROLÓN, P.A.. Influence of mate drinking, hot beverages and diet on esophageal cancer risk in south America. **Int J Cancer**, 88, pp. 658-664, 2000.

CENI, G.C. **Oxidases de Erva-Mate (*Ilex paraguariensis* St. Hill): Extração, Estabilidade Térmica e Influência da exposição ao Microondas**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, RS, 2005.

CHANDRA, S.; MEJIA, E.G. Polyphenolic compounds, antioxidants capacity, and reductase activity of an aqueous extract of *Ardisia compressa* in comparison to mate (*Ilex paraguariensis*) and green (*Camellia sinensis*) teas. **J Agric Food Chem.** 52, pp.3583-3589, 2004.

CINTRA, R.M.G.C. **Efeito antioxidante de especiarias. Avaliação da salsa (*Retroselium sativum* Hoffmann), cebolinha verde (*Allium schoenoprasum*), orégano (*Origanum vulgare*) e alecrim (*Rosmarinus officinalis*)**. Tese Doutorado. Faculdade de Ciências Farmacêutica da USP. São Paulo, 1999.

CLIFFORD, M.N.; RAMIREZ-MARTINEZ, J.R. Chlorogenic acids and purine alkaloids contents on mate (*Ilex paraguariensis*) leaf and beverage. **Food Chem.** 35, pp.12-21, 1990.

CLIFFORD, M.N. Chlorogenic acids and other cinnamates—nature, occurrence and dietary burden. **J Sci Food Agric**. v. 79, pp. 362-372, 1999.

COLPO, E. **Avaliação dos marcadores de estresse oxidativo em indivíduos suplementados com ferro e ácido ascórbico**. Dissertação (Mestrado em Bioquímica Toxicológica) – Universidade Federal de Santa Maria, RS, 2007.

DE LA FUENTE, M. Effects of antioxidants on immune system ageing. **Eur J Clin Nutr**, 56, suppl.3, pp.55-58, 2002.

DE STEFANI, E.; MUÑOZ N.; ESTÈVE, J.; VASALLO, A.; VICTORA, C.; TEUCHMANN, S. Mate drinking, alcohol, tobacco, diet and esophageal cancer in Uruguay: a case-control study. **Cancer Res**, v. 50: pp.426–431, 1990.

DE STEFANI, E.; F., L. ; MENDILAHARSU, M.; RONCO, A.; LARRINAGA, M.T.; BALBI, J.C.; ALONSO, S.; DENEOPELLEGRINI, H. Meat intake, “mate” drinking and renal cell cancer in Uruguay: a case-control study. **Br J Cancer**, v.78, n.9, p.1239-1243, 1998.

DE STEFANI E, BOFFETTA P, DENEOPELLEGRINI H, CORREA P, RONCO AL, BRENNAN P, FERRO G, ACOSTA G, MENDILAHARSU M. Non-alcoholic beverages and risk of bladder cancer in Uruguay. **BMC Câncer**, 29;7:57. 2007.

DIETZ, J.; DIEHL, A.S.; PROLLA, J.C; FURTADO, C.D; FURTADO, A.D. Pesquisa de micronúcleos na mucosa esofágica e sua relação com fatores de risco ao câncer de esôfago. **Rev Assoc Med Brás**, São Paulo. v. 46, n.3, jul/set, 2000.

EMBRAPA. OLIVEIRA, R E; MALHEIROS, Y M. **Distribuição geográfica**. Disponível no site: http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Erva-mate/CultivodaErvaMate/02_distrib_geografica.htm. Acesso em: 2 de janeiro de 2008.

ESMELINDRO, M.C.; TONIAZZO, G.; WACZUK, A.; DARIVA, C.; OLIVEIRA, D. Caracterização físico-química da erva mate: influência das etapas do processamento industrial. **Cienc Tecnol Aliment**, 22 (2), pp.199-204, 2002.

FAGUNDES, R.B.; ABNET, C.C.; STRICKLAND, P.T.; KAMANGAR, F.; ROTH, M.J.; TAYLOR, P.R. Higher urine I-hydroxy pyrene glucuronide (I-OHPG) is associated with tobacco smoke exposure and drinking mate in healthy subjects from Rio Grande do Sul, Brazil. **BCM Câncer**, 6: 139, 2006.

FERRARI, E. **Os Potenciais da cadeia Produtiva da Erva-Mate como Fator de Desenvolvimento Regional Sustentável do Médio Alto Uruguai do Rio Grande do Sul**. Santa Cruz do Sul: EDUNISC, 2006.

FERREIRA, A.L.A.; MATSUBARA, L.S. Radicais Livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Rev Ass Med Bras**, 43 (1), pp. 61-8, 1997.

FESTA, F.; AGLITT, T.; DURANTI, G.; RICORDY, R.; PERTICONE, P.; COZZI, R. Strong antioxidant activity of ellagic acid in mammalian cells *In Vitro* revealed by comet assay. **Anticancer Res.**, 21, pp.3903-3908, 2001.

FILIP, R.; LOTITO, S.B.; FERRARO, G.; FRAGA, C.G. Antioxidant activity of *Ilex paraguariensis* and related species. **Nutr Res**, 20 (10), pp.1437-1446, 2000 .

FILIP, R.; LÓPEZ, P.; GILBERTI, G.; COUSSIO, J.; FERRARO, G.. Phenolic compounds in seven South American *Ilex paraguariensis* species. **Fitoterapia**, 72(7), pp.774-778, 2001.

FONSECA, C.A., OTTO, S.S., PAUMGARTTEN, F.J., LEITAO, A.C. Nontoxic, mutagenic, and clastogenic activities of Mate-Chimarrao (*Ilex paraguariensis*). **J Environ Pathol Toxicol Oncol**, v. 19, p 333-346, 2000.

GAMBETA, R.M. **Perfil Fitoquímico de diferentes extratos de Ilex paraguariensis St. Hilare**. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde do Departamento de farmácia) – Universidade regional Integrada do Alto do Uruguai e das Missões, Erechim, 2008.

GIADA, M.L.R.; MANCINE FILHO, J. The Importance of Dietary Phenolic Compounds in the Promotion of Human Health. **Pub UEPG Biol Health Sci**, Ponta Grossa, 12 (4): 7-15, dez. 2006.

GNOATTO, S.C.; DASSONVILLE-KLIMPT, A.; DA NASCIMENTO, S.; GALÉRA, P.; BOUMEDIENE, K.; GOSMANN, G.; SONNET, P.; MOSLEMI, S. Evaluation of ursolic acid isolated from *Ilex paraguariensis* and derivatives on aromatase inhibition. **Eur J Med Chem**, 2007.

GROTTO, D.; VALENTINI, J.; BOEIRA, S.; PANIZ, C.; SANTA MARIA, L.; VICENTINI, J.; MORO, A.; CHARÃO, M.; GARCIA, S.C. CARDOSO, S.G. Avaliação da estabilidade plasmática do estresse oxidativo – malonaldeído. **Quim Nova**, São Paulo. v.31, n.2, 2008.

GUGLIUCCI, A.; STAHL, A.J.C. Low Density Lipoprotein Oxidation is Inhibited by Extracts of *Ilex paraguariensis*. **Biochem Mol Biol Int**, v.35, n.1, pp.47-56, jan., 1995.

GUGLIUCCI, A. Antioxidant Effects of *Ilex paraguariensis*: Induction of Decreased Oxidability of Human LDL *in Vivo*. **Biochem Biophys Res Commun**, 224: 338-344, 1996.

GUGLIUCCI, A; MENINI, T. The botanical extracts of *Achyrocline satureoides* and *Ilex paraguariensis* prevent methylglyoxal-induced inhibition of plasminogen and antithrombin III. **Life Sci**, 72, pp.279-292, 2002.

GORZALCZANY, S.; FILIP, R.; ALONSO, M.R.; MINÕ, J.; FERRARO, G.E.; ACEVEDO, C. Choleric effect and intestinal propulsion of 'mate' (*Ilex paraguariensis*) and its substitutes or adulterants. **J Ethnopharmacol**, 75(2-3): 291-4, 2001

GRIGOLO, B.; LISIGNOLI, G.; TONEGUZZI, S.; MAZZETTI, I.; FACCHINI, A. Copper/Xine superoxide dismutase expression by different human osteosarcoma cell lines. **Anticancer Res**, Athens. v18, n.2A, pp. 1175-1180, 1998.

HAGIWARA A, HIROSE M, TAKAHASHI S, OGAWA K, SHIRAI T, ITO N. Forestomach and kidney carcinogenicity of caffeic acid in F344 rats and C57BL/6N x C3H/HeN F1 mice. **Cancer Res**, 51, pp.5655-60, 1991.

HECK, C.I.; MEJLA, E.G. Yerba Mate Tea (*Ilex paraguariensis*): A comprehensive review on chemistry, health implications, and technological considerations. **J Food Sci**, v.72, n.9, 2007.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pof/2002analise/tab02e.pdf> - 2004-12-16

ISLAMI, F.; POURSHAMS, A.; NASROLLAHZADEH, D.; KAMANGAR, F.; FAHIMI, S.; SHAKERI, R.; ARDEKANI, B.A.; MERAT, S.; VAHEDI, H.; SEMNANI, S.; ABNET, C.C.; BRENNAN, P.; MØLLER, H.; SAIDI, F.; DAWSEY, S.M; REZA MALEKZADEH, R.; BOFFETTA, P. Tea drinking habits and oesophageal cancer in a high risk area in northern Iran: population based case-control study. **BMJ**, ab, 2009.

KUMMER, C.I.; MOURA, M.S.G.; ALMEIDA, R.M. **Erva Mate**. (Monografia). Rio Grande do Sul: Curso: Matemática-Licenciatura, Universidade Regional do Noroeste do Rio Grande do Sul, 2005.

LARANJINHA, J.A.N.; ALMEIDA, L.M.; MADEIRA, V.C.M. Reactivity of dietary phenolic acids with peroxy radicals: antioxidant activity upon low density lipoprotein peroxidation. **Biochem Pharmacol**, 11, pp.145-151, 1994.

LANZETTI, M.; BEZERRA, F.; ROMANA-SOUZA, B.; BRANDO-LIMA, A.; KOATZ, V.; PORTO, L.; VALENÇA, S.. Mate tea reduced acute lung inflammation in mice exposed to cigarette smoke. **Nutrition**, v.24, pp. 375-381, 2008.

LARA CARDOZO, E.; FERRARESE-FILHO, O.; CARDOZO-FILHO, L.; FERRARESE, M.L.L.; DONADUZZI, C.M.; STURION, J.A. Methlxanthines and fenolic compounds contents in mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) progenies grown in Brazil. **J Food Compost Anal**, 20, pp.1-10, 2007.

LEITE, H.P.; SARNI, R.S. Free radicals, antioxidantes y nutrición.. **Rev Bras NutrClin**, 18 (2), pp.87-94, 2003.

LIPP, M.E.N. **Manual do Inventário dos Sintomas do Stress para Adulto de Lipp** (ISSL). São Paulo: Casa do Psicólogo, 2000.

LOWRY, O.H.; ROSENBROUGH, N.J.; FARR, A.L.; RANDALL, R.J. Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent. **J Biol Chem**, 193, 265-275, 1951.

LUNCEFORD, N.; GUGLIUCCI, A. *Ilex paraguariensis* extracts inhibit AGE formation more efficiently than gree tea. **Fitoterapia**, 76: 419-427, 2005.

MACCARI JR., A. (coord.) **Produtos Alternativos e Desenvolvimento da Tecnologia Industrial na Cadeia Produtiva da Erva-Mate**. Curitiba: Câmara Setorial da Cadeia Produtiva da Erva-Mate do Paraná/Ministério da Ciência e Tecnologia/Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, 2000.

MACCARI JUNIOR, A. **Análise do Pré-Processamento da Erva-Mate para Chimarrão**. Dissertação (Doutorado em Engenharia Agrícola) - Universidade Estadual de Campinas, SP, 2005.

MANZOCCO, L.; CALLIGARIS, S.; MASTROCOLA, D.; NICOLI, M.C.; LERICI, C.R. Review of non-enzymatic browning and antioxidant capacity in processed foods. **Trends Food Sci Technol**, 11, pp.340-346, 2001.

MAYNE, S.T. Antioxidant Nutrients and Chronic Disease: use of Biomarkers of Exposure and Oxidative Stress Status in Epidemiologic **J Nutr**, 133 933S-940S, 2003

MENINI, T.; HECK, C.; SCHUZE, J.; DE MEJIA, E.; GUGLIUCCI, A.. Protective action of *Ilex paraguariensis* extract against free radical inactivation of paraoxonase-1 in high-density lipoprotein. **Planta Méd**, 73 (11), 1141-7, 2007.

MILOCA, M.M.; LOBO, D.S.; MARTINS, R.S. **Determinação dos Principais Atributos da Logística de Suprimento na Agroindústria Ervateira do Paraná**. Anais do IX Simpósio de Administração da Produção, Logística e Operações Internacionais. IX SIMPOI, 2006..

Ministério da Saúde, A Secretária de Vigilância Sanitária. PORTARIA Nº 234, DE 25 DE MARÇO DE 1998. http://www.engetecno.com.br/legislacao/cha_erva_mate2.htm

MIRANDA, D.D.C.; ARÇARI, D.P.; PEDRAZZOLI Jr, J.; CARVALHO, P.O.; CERUTTI, S.M.; BASTOS, D.H.M.; RIBEIRO, M.L.. Protective effects of mate tea (*Ilex paraguariensis*) on H₂O₂-induced DNA damage and DNA repair in mice. **Mutagenesis**, 24 (4), 375-81, 2008.

MONTEIRO, M.C.; TRUGO, L.C.; Determinação de compostos bioativos em amostras de café torrado. **Quim Nova**, 28 (4), pp.637-641, 2005

MOSIMANN, A.L.P.; FILHO D.W.; SILVA, E.L. Aqueous extract of *Ilex paraguariensis* attenuates the progression of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. **BioFactors**, v.23 pp.1-12, 2005.

NACHTIGALL, A.M; STRINGHETA, P.C.; FIDELIS, P.C.; NACHTIGALL, F.M. Determinação do Teor de Luteína em Hortaliças. **B. Ceppa**, Curitiba. v. 25, n. 2, p. 181-192 jul./dez. 2007.

NARDINE, M.; CIRILLO, E.; NATELLA, F.; SCACCINI, C. Absorbtion of phenolic acids in human after coffee consuptiom. **J Agric Food Chem**, 50 (20), 5735-5741, 2002.

NAVES, M.M.V.; MORENO, F.S. Diferenciação Celular: importância na hepatocarcinogênese e papel modulador do β -Caroteno. **Rev Brás Cancerol**, 46(4), pp.389-99, 2000.

NEUMANN, R. I. **Anuário Brasileiro da Erva-mate**. Gazeta: Santa Cruz do Sul, 1999.

NOJIRI, S; DAIDA, H.; MOKUNO, H.; IWANA, Y.; MAE, K.; USHIO, F.; UEKI, T. Association of serum antioxidant capacity with coronary artery disease in middle-aged men. **Jpn Heart J**, 42 (6), pp677-690, 2001.

OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Anal Biochem**, 95, 351-35, 1979.

OLDHAM, K.M.; WISE, S.R.; CHEN, L.; STACEWICZ-SAPUNTZAKIS, M.; BURNS, J.; BOWEN, P.E.. A longitudinal evaluation of oxidative stress in trauma patients. **JPEN J Parenter Enteral Nutr**, v.26, n.3, 2002.

PEREIRA, B. Radicais Livres de Oxigênio e sua Importância para a Funcionalidade Imunológica. **Motriz**, v.2, n. 2, dez, 1996.

PÉREZ, D.D.; STROBEL, P.; FONCEA, R.; DÍEZ, M.S.; VÁSQUEZ, L.; URQUIAGA, I.; CASTILLO, O.; CUEVAS,A.; SAN MARTÍN, A.; LEIGHTON, A.F. Wine, Diet, Antioxidant Defensas, and Oxidative Damage. **Ann N Y Acad Sci**, 957, pp. 136-145, 2002.

POOL-ZOBEL BL, LOTZMANN N, KNOLL M, KUCHENMEISTER F, LAMBERTZ R, LEUCHT U, SCHRODER HG, SCHMEZER P. Detection of genotoxic effects in human gastric and nasal mucosa cells isolated from biopsy samples. **Environ Mol Mutagen**, 24(1):23-45, 1994.

PORRINI M, RISO P, BRUSAMOLINO A, BERTI C, GUARNIERI S, VISIOLI F. Daily intake of a formulated tomato drink affects carotenoid plasma and lymphocyte concentrations and improves cellular antioxidant protection. **Br J Nutr**, 93(1), pp.93-9, Jan, 2005.

RAMIREZ-MARES, M.V.; CHANDRA, S.; MEJIA, E.G. In Vitro chemopreventive of *Camelia sinensis*, *Ilex paraguariensis* and *Ardisia compressa* tea extracts and selected polyphenols. **Mutat Res**, 554, 53-65, 2004.

SCALBERT, A.; WILLIAMSON, G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. **J Nutr**, 130, 2000.

SCHNEIDER, C.D.; OLIVEIRA, A.R. Radicais Livres de Oxigênio e Exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. **Rev Bras Med Esporte**, v.10, n.4, jul/ag, 2004.

SCHINELLA, G.R.; TROIANI, V.; DÁVILA, P.; BUSCHIAZZO, P.M.; TOURNIER, H.A. Antioxidant effects of the aqueous extract of *Ilex paraguariensis*. **Biochem Biophys Res Commun**, 269, pp. 357-360, 2000.

SCIESZKA, M.; DANCH, A.; MACHALSKI, M.; DROZDZ, M. Plasma selenium concentration in patients with stomach and colon cancer in the Upper Silesia. **Neoplasma**, 44(6):395-7, 1997.

SCOLASTICI, C. **Ação do licopeno na proteção contra danos induzidos no DNA in vivo e in vitro**. Dissertação (Doutor em Patologia) – Universidade Estadual Paulista da Faculdade de Medicina de Botucatu, Botucatu, 2006.

SERRA, S.R; CAMPOS, R.G. Efeito Protetor do Licopeno. **Rev Bras Nutr Clin** 21(4):326-32, 2006.

SEWRAM, V.; STEFANI, E.; BRENNAN, P.; BOFFETTA, P. Maté consumption and the risk of squamous cell esophageal cancer in Uruguay. **Cancer Epidemiology, Biomarkers, Prevention**, v.12, pp. 508-513, june, 2003.

SINGH NP, MCCOY MT, TICE RR, SCHNEIDER EL. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. **Exp Cell Res**, 175(1), pp.184-91, Mar;1988.

SHAMI, N.J.I.E.; MOREIRA, E.A.M. Lycopene as na antioxidant agent. **Rev Nutr**, vol.17, n.2, pp. 227-236, 2004.

SHI, Y.; JAMES, A.E.; BENZIE, I.F.F; BUSWELL, J.A.. Mushroom-derived preparations in the prevention of H₂O₂-induced oxidative damage to cellular DNA. **Teratog, Carcinog, Mutagen**, 22, pp.103-111, 2002.

SHILS, M.E.; OLSON, J.A.; SHIKE, M.; ROSS, A.C. **Tratado de Nutrição Moderna na Saúde e na Doença**. 9 ed. Manole: São Paulo, 2003.

SIES, H.; STAHL, W. Vitamins E and C, B-caroteno, and other carotenoids as antioxidants. **Rev Nutr**, 62 (supl): 1315S-21S, 1995.

SOARES, S.E. Phenolic acids as antioxidants. **Rev Nutr**, Campinas. 15 (1), pp.71-81, jan/abr, 2002.

Sociedade Brasileira de Cardiologia. **IV Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial**. Disponível no site: <http://publicacoes.cardiol.br/consenso/2004/Diretriz%20HA.pdf>. Acessado em : 2 de janeiro de 2008.

STASI, L. C. **Plantas Mediciniais: Arte e Ciência**. Um Guia de Estudo Interdisciplinar. São Paulo: Unesp, 1995.

STEIN, F.L.P.; SCHMIDT, B.; FURLONG, E.B.; SOARES, L.A.S.; SOARES, M.C.F.;VAZ, M.R.; BAISCH, A.L.M.. Vascular responses to extractable fractions of *Ilex paraguariensis* in rats fed standard and high-cholesterol diets. **Biol Res Nurs**, vol. 7, No. 2, 146-156, 2005.

World Health Organization. **The use and interpretation of anthropometry**: report of a WHO expert committee. Geneva: World Health Organization; 1995. (Technical Report Series 854).

World Health Organization. **Dieta, nutrición y prevención de enfermedades crónicas**: Informe de un grupo de estudio de la OMS. Geneva: Food and Agriculture Organization/World Health Organization; 1990. (Série de Informes Técnicos 797).

VASSALLO,A.; CORREA,P.; DE STÉFANI, E.; CENDÁN,M.; ZAVALA,D.; CHEN,V.; CARZOGLIO,J.; DENSO-PELLEGRINI,H. Esophageal cancer in Uruguay: A casecontrol study. **J. Natl. Cancer Inst**, v.75, p.1005-1009, 1985.

VICTORA, C.G; MUÑOZ, N.; HORTA, B.L.; RAMOS, E.O. Patterns of mate drinking in a Brazilian city. **Cancer Res**, v.50, pp. 7112-7115, nov, 1990.

VINSON, J.A; DABBAGH, Y.A. Tea phenols: Antioxidant effectiveness of teas, tea compounds, tea fractions and binding with lipoproteins. **Nutr Res**, 18, 1067-107, 1998.

IV Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial. Disponível no site:
<http://www.sbh.org.br/documentos/index.asp>. Acesso em: 2 de janeiro de 2008.

ANEXOS

Anexo 1 Controle da Ingestão do Chá mate

Nome (Sigla): _____

Número Ficha: _____

Início da Ingestão Chá Mate: _____

Nº	Data	Local	*Estado Voluntário	Ass Voluntário
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				
11				
12				
13				
14				
15				
16				
17				
18				
19				
20				
21				
22				
23				
24				
25				
26				
27				
28				
29				
30				

Nº	Data	Local	*Estado Voluntário	Ass Voluntário
31				
32				
33				
34				
35				
36				
37				
38				
39				
40				
41				
42				
43				
44				
45				
46				
47				
48				
49				
50				
51				
52				
53				
54				
55				
56				
57				
58				
59				
60				

* (1) Saudável (2) Gripe/resfriado (3) dor constante (4) Infecção (5) outra doença

Anexo 2 Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Comitê de Ética em Pesquisa

Efeito Antioxidante da Erva Mate (*Ilex paraguariensis*) no Organismo.

Nome _____

Idade _____ RG _____

Endereço _____

Declaro a que é de livre espontânea vontade que estou participando desta pesquisa sob a responsabilidade dos pesquisadores **Elis Regina Varalda Rodrigues**, mestranda da Universidade São Francisco de Bragança Paulista, sob responsabilidade do **Prof. Dr Marcelo Lima Ribeiro** – e que obtive todas as informações necessárias para poder decidir conscientemente sobre minha participação neste projeto.

I. O objetivo da pesquisa é avaliar o efeito do Chá Mate no organismo humano, onde será dosado no sangue os seguintes exames: hemograma, bioquímica e perfil lipídico;

II. Asseguro que estou ciente e concordo com os termos de inclusão que são:

- Estar na idade entre 18 e 30 anos.
- O voluntário deverá ter seu índice de massa corpórea (IMC) maior do que 19 e menor do que 32 (com variância entre +- 2)(Dietary Guidelines Committee, 1995).

- Ter boas condições de saúde: não ter doenças ou estar em tratamento médico.
- Não estar fazendo uso de nenhum tipo de medicamento.
- No caso das mulheres poderão participar aquelas em uso de anticoncepcionais orais.
- Não ser fumante.
- Não ser usuário de drogas ilícitas.
- Não ingerir diariamente bebida alcoólica ou ser estilista. Poderão participar os voluntários que fazem uso apenas eventualmente, de fim de semana ou feriados em doses mínimas (cerveja – 1 a 2 latas, destilado – 1 a 2 doses), e que no período da pesquisa aceite não ingerir nenhuma bebida alcoólica.
- Manter durante toda a pesquisa, uma alimentação saudável, evitando o consumo de café, chás diversos, chocolate, comidas condimentadas 15 dias antes do início da ingestão do chá mate para a pesquisa, e durante toda a pesquisa.
- Aceitar a ingestão do chá mate diariamente na UNIFAG (em dias úteis) e realizar a ingestão do mesmo em casa, conforme orientação, nos fins de semana e derivados, durante toda a pesquisa.
- Aceitar a coleta de sangue antes do início, e periodicamente, até o fim da pesquisa.

III. A coleta de dados para a pesquisa será desenvolvida através de 02 questionários: um primeiro avaliando aspectos gerais do voluntário e familiares e um segundo realizando um inventário alimentar apenas do voluntário.

IV. Será coletado sangue antes, e após o início da ingestão do chá mate com de 60 dias, sendo que a ingestão do chá mate será diariamente, de 1 copo (200 ml)/dia, sendo seguida algumas recomendações;

V. Estou ciente do desconforto que causa a punção venosa para a coleta de sangue e o risco de formação de um hematoma causado pela punção.

VI. Estou ciente que tenho a liberdade de aceitar ou recusar a participar do estudo, bem como poderei interromper minha participação na pesquisa a qualquer momento, ou não responder algumas perguntas do questionário, se assim desejar.

VII. Sei que meu nome não aparecerá no questionário e que as informações colhidas servirão, única e exclusivamente, para fins de pesquisa e quando os resultados desta pesquisa forem divulgados, nunca será mencionado o meu nome.

VIII. Se necessário qualquer esclarecimento, poderá entrar em contato com a responsável pelo estudo, **Prof. Dr Marcelo Lima Ribeiro**, pelo telefone (0XX11) 4034-8000 ou contatar o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade São Francisco através do telefone (0XX11) 4034-8028, se assim desejar.

IX. Este termo de consentimento é feito em duas vias, sendo que uma permanecerá em meu poder e a outra com a responsável pelo estudo.

Bragança Paulista, _____ de _____ de 2008.

Voluntário

Elis Regina V Rodrigues
Pesquisadora

Prof. Dr Marcelo Lima Ribeiro
(responsável pelo estudo)

Anexo 3 Questionário de Avaliação Geral

Número da Ficha: _____

I. Identificação:

1. Nome (iniciais): _____
2. Sexo: fem () masc ()
3. Idade: _____
4. Endereço: _____
Tel contato: _____
5. Instrução: _____
Está estudando? Sim () não () _____
6. Trabalha? Sim () não () tipo de serviço: _____

II. Antecedentes pessoais:

- A) **Álcool:** sim () não () socialmente ()
Tipo bebida: _____
Quantidade: _____
- b) **Medicamentos:** sim () não () qual _____
- e) **Doenças anteriores / internações / cirurgias:** _____

III. Antecedentes Familiares

- a) **Tem familiares doentes na família?** Sim () não ()
- b) **Familiar:** _____ Doença: _____
Familiar: _____ Doença: _____
Familiar: _____ Doença: _____
Familiar: _____ Doença: _____
Familiar: _____ Doença: _____

IV. História da alimentação nos últimos 3 dias:

a) **Consumo de sal:** () menos 1 col/dia () 1 col/dia () 2col/dia () 3col/dia

b) **Carne vermelha:** () 1X/dia () 2X/dia () 3X/dia

Por refeição: () 1 bife () 2 bifos () 3 bifos

c) **Café:** () 1 xícara/dia () 2 xícaras/dia () 3xícaras/dia () 4xícaras/dia
() 5 xícaras/dia () mais 5 xícaras/dia

d) **Chá mate:** () 1 copo/dia () 2 copos/dia () 3 copos/dia () 4 copos/dia

Temperatura: () gelado () frio () quente () muito quente

e) **Chocolate:** () Bombom – quantidade/dia: _____

() Chocolate em barra pequena – quantidade/dia: _____

f) **Condimentos na alimentação:** () diariamente () eventualmente

g) **Faz quantas refeições/dia?** () 1 () 2 () 3 () 4 () 5

h) **Substitui lanches pela refeição?** () sim () não

Frequência: () diariamente () eventualmente

i) Consumo de alimentos:

Alimentos/ Consumo	Todos Dias	5-6X/sem	2-4X/sem	1X/sem	Raramente
Folhas Cruas					
Folhas Refogadas					
Hortaliça Crua					
Hortaliça refogada					
Frutas					

ANEXO 5 Inventário dos Sintomas de Estresse de Lipp

Nome: _____

Data: _____

Fase I:			
Alerta - sintomas apresentados nas últimas 24 horas		Sim	Não
<i>Sintomas físicos</i>			
aperto da mandíbula, ranger de dentes			
aumento da sudorese			
boca seca			
diarréia passageira			
hipertensão arterial súbita e passageira			
hiperventilação			
insônia			
mãos e pés frios			
mudança de apetite			
nó no estômago			
taquicardia			
tensão muscular			
<i>Sintomas psicológicos</i>			
aumento súbito de motivação			
entusiasmo súbito			
vontade súbita de iniciar novos projetos			
Fase II:			
Resistência - sintomas apresentados no último mês		Sim	Não
<i>Aspectos físicos</i>			
aparecimento de problemas dermatológicos			
aparecimento de úlceras			
cansaço constante			
formigamento das extremidades			
hipertensão arterial			
mal estar generalizado, sem causa específica			
mudança de apetite			
problemas com a memória			
sensação de desgaste físico constante			
tontura/sensação de estar flutuando			
<i>Sintomas psicológicos</i>			
diminuição da libido			
dúvida quanto a si próprio			
irritabilidade excessiva			
pensar constantemente em um só assunto			
sensibilidade emotiva excessiva			

Fase III:		
Exaustão - sintomas apresentados no último trimestre	Sim	Não
<i>Sintomas físicos</i>		
diarréia frequente		
dificuldades sexuais		
enfarte		
excesso de gases		
hipertensão arterial contínua		
insônia		
mudança extrema de apetite		
náusea		
problemas dermatológicos prolongados		
tiques		
tontura frequente		
úlceras		
<i>Sintomas psicológicos</i>		
angústia/ansiedade diária		
apatia, depressão ou raiva prolongada		
cansaço excessivo		

Manual do Inventário dos Sintomas do Stress para Adulto de Lipp (ISSL) (LIPP, 2000)

Correção e Avaliação: Método simplificado para o diagnóstico do estresse:

1º: Se o escore do quadro 1 for maior que 6, indica que a pessoa tem stress nesta fase.

2º: Se o escore do quadro 2 for maior que 3, indica que a pessoa tem stress nesta fase.

3º: Se o escore do quadro 3 for maior que 8, indica que a pessoa tem stress nesta fase.

Esta correção não indica a fase do estresse, e sim apenas se há ou não estresse.

Anexo 6 IV Diretriz de Pressão Arterial da Sociedade Brasileira de Hipertensão

A Pressão Arterial deverá seguir o procedimento descrito a seguir:

A posição recomendada é a sentada.

- Preparo do paciente para a verificação da PA:

1. Explicar o procedimento ao paciente;
2. Repouso de pelo menos 5 minutos em ambiente calmo;
3. Evitar bexiga cheia;
4. Não praticar exercícios físicos 60 a 90 minutos antes;
5. Não ingerir bebidas alcoólicas, café ou alimentos e não fumar 30 minutos antes;
6. Manter pernas descruzadas, pés apoiados no chão, dorso recostado na cadeira e relaxado;
7. Remover roupas do braço no qual será colocado o manguito;
8. Posicionar o braço na altura do coração (nível do ponto médio do esterno ou 4º espaço intercostal), apoiado, com a palma da mão voltada para cima e o cotovelo ligeiramente fletido;
9. Solicitar para que não fale durante a medida.

- Procedimento de Verificação de PA:

1. Medir a circunferência do braço do paciente;
2. Selecionar o manguito de tamanho adequado ao braço;

3. Colocar o manguito sem deixar folgas acima da fossa cubital, cerca de 2 a 3 cm;
4. Centralizar o meio da parte compressiva do manguito sobre a artéria braquial;
5. Estimar o nível da PAS (palpar o pulso radial e inflar o manguito até seu desaparecimento, desinflar rapidamente e aguardar 1 minuto antes da medida);
6. Palpar a artéria braquial na fossa cubital e colocar a campânula do estetoscópio sem compressão excessiva;
7. Inflar rapidamente até ultrapassar 20 a 30 mm Hg o nível estimado da pressão sistólica;
8. Proceder à deflação lentamente (velocidade de 2 a 4 mm Hg/s);
9. Determinar a PS na ausculta do primeiro som (fase I de Korotkoff), que é um som fraco seguido de batidas regulares, e, após, aumentar ligeiramente a velocidade de deflação;
10. Determinar a PD no desaparecimento do som (fase V de Korotkoff);
11. Auscultar cerca de 20 a 30 mm Hg abaixo do último som para confirmar seu desaparecimento e depois proceder à deflação rápida e completa;
12. Se os batimentos persistirem até o nível zero, determinar a PS no abafamento dos sons (fase IV de Korotkoff) e anotar valores da sistólica/diastólica/zero;
13. Esperar 1 a 2 minutos antes de novas medidas;
14. Informar os valores de PA obtidos ao paciente;
15. Anotar os valores e o membro.

Classificação da pressão arterial (>18 anos) e recomendações para seguimento com prazos máximos, modificados de acordo com a condição clínica do paciente.			
Classificação	Sistólica	Diastólica	Seguimento
Ótima	< 120	< 80	Reavaliar em 1 ano
Normal	< 130	< 85	Reavaliar em 1 ano
Limítrofe	130-139	85-89	Reavaliar em 6 meses*
Hipertensão			
Estágio 1 (leve)	140-159	90-99	Confirmar em 2 meses*
Estágio 2 (moderada)	160-179	100-109	Confirmar em 1 mês *
Estágio 3 (grave)	> 180	> 110	Intervenção imediata ou reavaliar em 1 semana*
Sistólica isolada	> 140	< 90	
* Quando a sistólica e diastólica estão em categorias diferentes, classificar pela maior.			
Considerar intervenção de acordo com fatores de risco maiores, co-morbidades.			

* IV Diretriz de Pressão Arterial da Sociedade Brasileira de Hipertensão

Anexo 7 Tabelas de Caracterização dos Voluntários

Caracterização dos voluntários que consumiram o chá mate, quanto às características pessoais. n.33

Características Pessoais	Masculino n. 15	Feminino n.18	Total n. %
Atividade do Voluntário			
alunos USF	2	2	4 12%
Voluntários Externos	13	2	2 6%
Voluntários Internos USF	0	14	27 82%
Instrução			
2ºGrau Completo	2	3	5 15%
Superior Incompleto	9	11	20 61%
Superior Completo	4	4	8 24%
Uso Medicamentos			
sim	0	1	1 3%
não	15	17	33 97%
<i>Obs(medic: anticoncepcional)</i>			
Doenças Atuais			
sim	0	0	0
não	15	18	33 100%
Consumo Café			
1xic/dia	5	8	13 39%
2xic/dia	2	2	4 12%
3xic/dia	1	1	2 6%
Não consome	7	7	14 43%
Consumo Chá			
1 copo/dia	4	3	7 21%
2 copos/dia	1	2	3 9%
Não consome	10	13	23 70%
Consumo Chocolate			
1 bombom/dia	1	3	4 12%
2 bombons/dia	0	2	2 6%
de vez em quando	3	7	10 30%
1 vez/semana	1	2	3 9%
Não consome	10	4	14 43%

Refeições/dia			
2 vezes/dia	2	2	4 12%
3 vezes/dia	5	5	10 30%
4 vezes/dia	8	8	16 49%
5 vezes/dia	0	3	3 9%
Substitui as Refeições			
sim	3	11	14 42%
não	12	7	19 58%
Freq. da Substituição			
Diariamente	0	2	2 6%
Eventualmente	3	9	12 36%
Não Substitui	12	7	19 58%

Caracterização dos voluntários quanto aos dados antropométricos. n.33

Dados	1º Controle*			2º Controle**			3º Controle***		
	Média	DP	CV (%)	Média	DP	CV	Média	DP	CV
Antropométricos									
Peso (kg)									
Masculino	79,3	15,8	19,9	81,9	15,4	18,80	79,6	16,2	20,4
Feminino	60,09	9,7	16,1	60,62	10,5	17,33	60,62	10,3	17,0
Altura (cm)									
Masculino	1,76	0,1	4,1						
Feminino	1,62	0,1	3,2						
IMC									
Masculino	25,5	3,6	14,0	26,6	3,9	14,74	25,5	3,5	13,9
Feminino	23	3,8	16,6	23,2	4,1	17,55	23,2	4,0	17,0

* Realizado antes da ingestão do chá mate

** Realizado com 30 dias de consumo do chá mate

*** Realizado com 60 dias do consumo do chá mate

CV: Coeficiente de Variação expresso em porcentagem

Caracterização dos voluntários quanto à sua alimentação. n.33

Consumo Alimentos	Sexo	Folhas Cruas		Folhas Refogadas		Hortal. Crua		Hortal. Refogada		Fruta	
		n°	%	n°	%	n°	%	n°	%	n°	%
Todo dia	<i>Masc.</i>	4		1		2		0		6	
	<i>Fem.</i>	4		2		1		0		6	
	Total e %	8	24,2%	3	9,1%	3	9,1%	0	0,0%	12*	36,4%
5-6X/sem	<i>Masc.</i>	0		0		0		1		0	
	<i>Fem.</i>	4		4		4		6		4	
	Total e %	4	12,1%	4	12,1%	4	12,1%	7	21,2%	4	12,1%
2-4X/sem	<i>Masc.</i>	9		9		5		5		9	
	<i>Fem.</i>	8		5		5		6		4	
	Total e %	17*	51,5%	14*	42,4%	10*	30,3%	11*	33,3%	13	39,4%
1X/sem	<i>Masc.</i>	1		1		3		2		0	
	<i>Fem.</i>	1		3		3		2		3	
	Total e %	2	6,1%	4	12,1%	6	18,2%	4	12,1%	3	9,1%
Raramente	<i>Masc.</i>	1		4		5		6		0	
	<i>Fem.</i>	1		4		5		5		1	
	Total e %	2	6,1%	8	24,2%	10*	30,3%	11*	33,3%	1	3,0%
Total e %	33	100,0%	33	100,0%	33	100,0%	33	100,0%	33	100,0%	

- Consumo mais frequente de alimentos

Caracterização dos voluntários quanto à Pressão Arterial. n.33

	Masc. n.15		Masc. n.15		Observação
	1ª Verif.		2ª Verific.		
	n.	%	n.	%	
Ótima	8	54%	10	67%	em apenas 1 voluntário a PA aumentou 2 voluntários na 2ª verificação melhoraram o valor da PA
Normal	5	33%	3	20%	2 voluntários melhoraram a PA e 3 mantiveram o valor
Limítrofe	0	0%	0	0%	
Hipertensão					
Estágio 1 (leve)	2	13%	2	13%	1 dos voluntários na 1ª verificação melhorou a PA 1 manteve o valor da PA 1 na 2ª verificação aumentou a PA

	Fem. n.18		Femin. N.18		Observação
	1ª Verif.		2ªverific.		
	n.	%	n.	%	
Ótima	13	72%	16	88%	todos com melhora PA
Normal	1	6%	1	6%	voluntário manteve a PA
Limítrofe	0	0%	0	0%	
Hipertensão					
Estágio 1 (leve)	4	22%	1	6%	voluntários da 1ª verificação- todos melhoraram na 2ª verificação outro voluntário com PA alta

Caracterização dos voluntários quanto ao estado geral. n.33

Estado Geral	Masc. N.15		Fem. n.18	
	nº	%	nº	%
Saudável	15	100%	18	100%
Gripe/resfriado	0	0%	0	0%
Dor constante	0	0%	0	0%
Infecção	0	0%	0	0%
outras doenças	0	0%	0	0%

Caracterização dos voluntários quanto ao estresse do dia a dia. n.33

Fase Estresse	Masc. n.15		Fem. n.18	
	n°	%	n°	%
Fase 1				
0	10	67%	8	44%
1	2	13%	6	33%
2	2	13%	3	17%
3	1	7%	1	6%
>3	0	0%	0	0%
Fase 2				
0	11	73%	8	44%
1	1	7%	3	17%
2	3	20%	7	39%
3	0	0%	0	0%
>3	0	0%	0	0%
Fase 3				
0	13	86%	11	61%
1	1	7%	4	22%
2	1	7%	1	6%
3	0	0%	2	11%
>3	0	0%	0	0%