



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA

FACULDADE DE FARMÁCIA

PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO

EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE DIFERENTES MARCAS
DE CHÁ VERDE (*Camellia sinensis*) COMERCIALIZADAS
EM SALVADOR-BAHIA**

LUZIANA DE AZEVEDO FIRMINO

Salvador – BA

2011

LUZIANA DE AZEVEDO FIRMINO

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE DIFERENTES MARCAS
DE CHÁ VERDE (*Camellia sinensis*) COMERCIALIZADAS
EM SALVADOR-BAHIA**

Orientadora: Dr^a. Maria Spínola Miranda

Dissertação apresentada ao programa de pós-graduação em Ciência de Alimentos da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre.

Salvador – BA

2011

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

- Figura 1.** Etapas do processamento dos tipos de chá (*Camellia sinensis*). 15
- Figura 2.** Flores e folhas de *Camellia sinensis*. Fonte: William C. Welch. 17
- Figura 3.** Reação química entre o BHT e o radical DPPH. 23
- Figura 4.** Estrutura de alguns flavonóides do chá verde. Adaptado de Miura et al., 2001. 26

CAPÍTULO 2

- Figura 1.** Superfície abaxial: detalhe da cicatriz deixada por um tricoma, presença de estômatos. 59
- Figura 2.** Presença de tricomas unicelulares longos; estômatos anomocíticos, células epidérmicas em roseta. 59
- Figura 3.** Face adaxial: campos primários de pontuação 60
- Figura 4.** *Liposcellis spp.* (psócido) 61

CAPÍTULO 3

- Figura 1.** Teores de polifenóis totais (mg/gEcat) em infusões de chá verde a granel. 87
- Figura 2.** Teores de flavonóides totais (mg/gEcat) em infusões de chá verde a granel. 88
- Figura 3.** Teores de polifenóis totais (mg/gEcat) em infusões de chá verde (sachês) obtidas com e sem agitação. 89
- Figura 4.** Teores de flavonóides totais (mg/gEcat) em infusões de chá verde em sachês. 90
- Figura 5.** Percentual de atividade antioxidante em infusões de chá verde a granel, obtidas por agitação. 98
- Figura 6.** Percentual de atividade antioxidante em infusões de chá verde em sachês, obtidas por agitação. 99
- Figura 7.** Correlação entre o teor de polifenóis totais e o percentual de atividade antioxidante em infusões de chá verde a granel, obtidas por agitação. 100
- Figura 8.** Correlação entre o teor de flavonóides totais e o percentual de atividade antioxidante em infusões de chá verde a granel, obtidas por agitação. 100
- Figura 9.** Correlação entre o teor de polifenóis totais e o percentual de atividade antioxidante em infusões de chá verde em sachês, obtidas por agitação. 101
- Figura 10.** Correlação entre o teor de flavonóides totais e o percentual de atividade antioxidante em infusões de chá verde em sachês, obtidas por agitação. 101

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

Tabela 1. Validade e origem das amostras de chá verde a granel.	55
Tabela 2. Validade e origem das amostras de chá verde em sachês.	55
Tabela 3. Percentual de umidade e atividade de água em amostras de chá verde a granel.	63
Tabela 4. Percentual de umidade e atividade de água em amostras de chá verde em sachês.	63
Tabela 5. Cinzas totais e cinzas insolúveis em ácido em amostras de chá verde a granel.	64
Tabela 6. Cinzas totais e cinzas insolúveis em ácido em amostras de chá verde em sachês.	65
Tabela 7. Resultados das análises macro e microscópicas	65
Tabela 8. Resultados das análises físico-químicas	66
Tabela 9. Resultado geral das análises no chá verde a granel	67
Tabela 10. Resultado geral das análises no chá verde em sachês	67

CAPÍTULO 3

Tabela 1. Polifenóis totais em amostras de chá verde a granel obtidos por infusão com e sem agitação, expressos em mg/gEcat, de erva seca.	87
Tabela 2. Flavonóides totais em amostras de infusão de chá verde a granel, preparadas com e sem agitação, resultados expressos em mg/gEcat de erva seca.	88
Tabela 3. Polifenóis totais em amostras de chá verde em sachês obtidos por infusão com e sem agitação, expressos em mg/gEcat, de erva seca.	89
Tabela 4. Flavonóides totais em amostras de chá verde em sachês obtidos por infusão com e sem agitação, expressos em mg/gEcat, de erva seca.	90
Tabela 5. Comparação dos teores de compostos bioativos, em infusões de chá verde dos sachês e equivalência relativa ao peso médio.	95
Tabela 6. Peso médio dos sachês	96
Tabela 7. Atividade antioxidante (% de inibição.), em infusões de chá verde a granel, obtidas por agitação.	98
Tabela 8. Atividade antioxidante (% de inibição) em infusões de chá verde em sachês, obtidas por agitação.	99

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	II
LISTA DE TABELAS	III
RESUMO	6
ABSTRACT	7
INTRODUÇÃO GERAL	8
REFERÊNCIAS	10
CAPÍTULO 1: REVISÃO DA LITERATURA	12
1.1 ASPECTOS HISTÓRICOS DO CHÁ VERDE	13
• Chá verde	14
• Características morfológicas da <i>Camellia sinensis</i>	17
• Efeitos biológicos do chá verde	18
• Radicais livres, substâncias antioxidantes	19
• Bioativos	23
• Parâmetros de qualidade do chá verde comercial	28
• Análise macroscópica e microscópica	34
REFERÊNCIAS	36
CAPÍTULO 2: AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA E MICROSCÓPICA E CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS NO CONTROLE DE QUALIDADE DO CHÁ VERDE	46
RESUMO	46
ABSTRACT	47
2.1 INTRODUÇÃO	48
2.2 MATERIAL E MÉTODOS	54
• Caracterização das amostras	54
• Avaliação macro e microscópica	55
• Atividade de água	57
• Umidade	57
• Cinzas totais	57
• Cinzas insolúveis em ácido clorídrico	57
2.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA	58
2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	58
2.5 CONCLUSÕES	68
REFERÊNCIAS	69
CAPÍTULO 3: POLIFENÓIS TOTAIS, FLAVONÓIDES E CORRELAÇÃO COM A ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM DIFERENTES MARCAS DE CHÁ VERDE	74
RESUMO	74
ABSTRACT	75
3.1 INTRODUÇÃO	75
3.2 MATERIAL E MÉTODOS	81

• Amostras	81
• Avaliação do teor de polifenóis e flavonóides totais	81
• Determinação de polifenóis totais	81
• Determinação de flavonóides totais	82
• Avaliação da atividade antioxidante	82
-Preparo das infusões	82
-Métodos	82
○ Método da atividade captadora do radical livre (DPPH)	83
○ Método de determinação da atividade antioxidante pela oxidação acoplada do β -caroteno/ácido linoléico	84
• Peso médio	85
3.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA	85
3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	86
CONCLUSÕES	102
REFERÊNCIAS	103
CONCLUSÃO GERAL	110

RESUMO GERAL

Os chás destacam-se como a segunda bebida mais consumida no mundo e são fontes significativas de compostos fenólicos os quais apresentam marcante atividade antioxidante. Os antioxidantes são compostos que atuam inibindo e/ou diminuindo os efeitos desencadeados pelos radicais livres e compostos oxidantes. Neste trabalho foi avaliada a qualidade de infusões de chá verde (*Camellia sinensis*), preparadas a partir de amostras adquiridas em farmácias e supermercados na cidade de Salvador-BA, no período de 2010 a 2011, quanto ao teor de compostos fenólicos totais, flavonóides e atividade antioxidante. Os compostos fenólicos totais foram determinados pelo método de Folin-Ciocalteu e a atividade antioxidante, através dos métodos do seqüestro do radical 2,2'-difeníl-1-picrilhidrazil (DPPH) e pelo sistema modelo β -caroteno/ácido linoléico, com o emprego do hidroxitolueno butilado (BHT) e catequina como padrões de referencia. Também foram realizadas determinações de: umidade, atividade de água, cinzas totais, cinzas insolúveis avaliação microscópica de sujidades e confirmação da identidade. Os resultados obtidos indicam que as amostras em sachês apresentaram qualidade superior àquelas apresentadas a granel quanto à atividade antioxidante. Também ficou comprovado no estudo que as amostras obtidas por infusão aquosa com agitação mecânica apresentaram maiores teores de polifenóis e flavonóides em relação aquelas que não foram submetidas à agitação. Em relação à presença de sujidades, 28% das marcas de chás verde avaliadas encontravam-se acima do limite máximo estabelecido para cinzas insolúveis em ácido, indicativo de contaminação por sílica. Além da presença de areia, em quatro marcas de chás, foram revelados, através da microscopia a presença de outros materiais estranhos. Os resultados obtidos no geral indicam a importância do controle de qualidade e das boas práticas na produção destes produtos. O estudo também revelou que a atividade de água pode ser considerada um importante indicador na medida de qualidade de chás e assim contribuir para a melhoria da qualidade desses produtos disponíveis para o consumidor.

Palavras chave: antioxidantes, compostos fenólicos, flavonóides, qualidade.

GENERAL ABSTRACT

The teas are distinguished as the second more consumed drink in the world and are significant phenolic compound sources which present outstanding antioxidant activity. The antioxidant substances are compounds that act inhibiting and/or diminishing the effect unchained for the free radicals and oxidant compounds. In this work they had been evaluated the quality of infusions of green tea (*Camellia sinensis*), prepared from samples acquired in pharmacies and supermarkets (Salvador city –BA), how much to the text of phenolic composites, flavonoids and antioxidant activity. The phenolic composites had been determined by the method of Folin-Ciocalteu and the antioxidant activity, through the methods of the kidnapping of the radical 2,2' - difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) and for the system model β -carotene/linoleic acid, with the job of the hidroxtolueno butylated (BHT) and catechin as standards. Also determination had been carried through of: humidity, activity of water, leached ashes, insoluble leached ashes in acid, microscopical evaluation of dirtiness and confirmation of the identity. The gotten results indicate that the samples in sachets had presented superior quality in bulk those presented how much to the antioxidant activity. Also he was proven in the study that the samples gotten for watery infusion with agitation mechanics had presented greater texts of phenolics compounds and flavonoids in relation those that had not been submitted to the agitation. In relation to the dirtiness presence, 28% of the marks of teas green evaluated met above of the established maximum limit for insoluble leached ashes in acid, indicative of contamination for sand. Beyond the sand presence, in four marks of teas they had been disclosed, through microscopy the presence of other strange materials (fungos, spiderweb, etc). These results emphasizes the importance of the quality control and good the practical ones in the production of these products to contribute for the improvement of the quality of the available teas green for the consumer.

Key words: antioxidants, phenolics compounds, flavonoids, quality.

INTRODUÇÃO GERAL

O chá verde produzido a partir da planta *Camellia sinensis* pertencente à família *Theaceae*, encontra-se entre as bebidas mais consumidas no mundo, isto se dá devido à marcante atividade antioxidante, e sua utilização, principalmente, como adjuvante para retardar o envelhecimento precoce e nas dietas direcionadas à perda de peso (MATSUBARA e RODRIGUEZ-AMAYA, 2006b; HALLIWEL, 2008).

Os antioxidantes presentes no chá verde e em outros produtos são compostos que atuam inibindo e/ou diminuindo os efeitos desencadeados pelos radicais livres e compostos oxidantes (DROGE et al. 2002).

Infusões de ervas que contêm teores relevantes de compostos fenólicos normalmente apresentam significativa atividade antioxidante e potencial de utilização tanto na conservação da qualidade de alimentos, como na preservação da saúde humana, quando presentes regularmente na dieta. O que dá importância e justifica o fato de que, vários estudos *in vitro* vêm apresentando o objetivo de avaliar o teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante em diferentes tipos de chás (FARHOOSH, et al., 2007; KARORI, et al., 2007; KOMES, et al., 2010; ZHU, et al., 2011).

Além das propriedades antioxidantes, a quantidade de polifenóis presente no chá verde está diretamente associada à cor, ao sabor e ao aroma e por isso são os principais compostos que definem sua qualidade (SOARES et al., 2002; MATSUBARA e RODRIGUEZ-AMAYA, 2006a; SCOTTI et al., 2007; LIMA et al., 2009).

A composição química dos chás pode variar quanto à espécie, idade das folhas, estação, clima (umidade, temperatura, latitude) e condições de cultivo (solo, água, minerais, fertilizantes, entre outros). Mas também é influenciada pelas condições de armazenamento e o tipo de processamento aos quais estes chás são submetidos (SCOTTI et al., 2007; MELO et al. 2009; OLIVEIRA et al. 2009).

Dentre outros parâmetros importantes para a qualidade do chá verde, estão a determinação do percentual de umidade, cinzas totais, cinzas insolúveis em ácido clorídrico, pesquisa de impurezas e confirmação da identidade do

material vegetal através de avaliação microscópica de acordo com os marcadores anatômicos característicos da *C.sinensis* (MELO, et al. 2004; NASCIMENTO et al. 2005; PAULA et al. 2008).

Procedimentos inadequados de manipulação e incorreto acondicionamento do material vegetal destinado ao preparo dos chás podem possibilitar o aumento da umidade, que, associado à presença de fungos e bactérias, pode representar riscos pela produção de substâncias tóxicas, as quais podem levar à destruição e/ou alteração dos princípios ativos; assim, o material vegetal torna-se impróprio para o consumo e pode acarretar prejuízos ao consumidor, desde a ausência dos efeitos benéficos pretendidos até possíveis efeitos colaterais (AMARAL et al., 2003).

Nesse contexto o objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade dos chás verde (*C.sinensis*) de diferentes marcas comercializadas na cidade de Salvador-BA no período de 2010-2011, através da análise de alguns parâmetros de qualidade microscópicos e físico-químicos, com destaque para a medida de atividade de água, substâncias bioativas e atividade antioxidante.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARAL, F.M.M.; COUTINHO, D.F.; RIBEIRO, M.N.S.; OLIVEIRA, M.A. Avaliação da qualidade de drogas vegetais comercializadas em São Luís/Maranhão. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.13, p.27-30, 2003.

DROGE, W. Free radicals in the physiological control of cell function. **Physiology Rev**, v.82, p.47-95, 2002.

FARHOOSH, R.; GOLMOVAHHED, G.A.; KHODAPARAST, M.H.H. Antioxidant activity of various extracts of old tea leaves and black tea wastes (*Camellia sinensis L.*). **Food Chemistry**, V.100, p.231-236, 2007.

HALLIWELL, B. Are polyphenols antioxidants or pro-oxidants? What do we learn from cell culture and in vivo studies? **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 476, p.107–112, 2008.

KARORI, S.M.; WACHIRA, F.N.; WANYOKO, J.K.; NGURE, R. M. Antioxidant capacity of different types of tea products. **African Journal of Biotechnology**, v. 6, n.19, p. 2287-2296, 2007.

KOMES, D.; HORZ´IC´,D.; BELŠC´AK, A.; GANIC´, K.K.; VULIC, I. Green tea preparation and its influence on the content of bioactive compounds. **Food Research International**, v.43, p.167–176, 2010.

LIMA, J.D.; MAZZAFERA, P.; MORAES, W.S.; SILVA, R.B. Chá: aspectos relacionados à qualidade e perspectivas. **Ciência Rural**, v.39, n.4, p. 1258-1266, 2009.

LIMA, V,L,A,G; MÉLO, E.A. Teor de Compostos Fenólicos Totais em Chás Brasileiros. **Brazilian. Journal. Food Technology**, v.7, n.2, p.187-190, 2004.

MATSUBARA, S.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Teores de catequinas e teafloavinas em chás comercializados no Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, vol.26, n.2, p. 401-407, 2006a.

MATSUBARA, S.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Conteúdo de miricetina, quercetina e kaempferol em chás comercializados no Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, n.2, p. 380-385, 2006b.

MELO, E.A.; MACIEL, M.I.S.; LIMA, V.L.A.G.; SANTANA, A.P.M. Capacidade antioxidante de hortaliças submetidas a tratamento térmico. **Revista da Sociedade Brasileira de Alimentos e Nutrição**, v. 34, n. 1, p. 85-95, 2009.

NASCIMENTO, V.T.; LACERDA, E.U.; MELO, J.G.; LIMA, C.S.A.; AMORIM, E.L.C.; ALBUQUERQUE, U.P. Controle de qualidade de produtos à base de plantas medicinais comercializados na cidade do Recife-PE: erva-doce (*Pimpinella anisum L.*), quebra-pedra (*Phyllanthus pp.*), espinheira santa

(*Maytenus ilicifolia* Mart.) e camomila (*Matricaria recutita* L.). **Revista Brasileira de plantas médicas**, v.7, n.3, p.56-64, 2005

OLIVEIRA, A.C. ; VALENTIM, I.B.; GOULART, M.O.F. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**. v. 32, n. 3, p.689-702, 2009.

PAULA, J.A.M; PAULA,J.R.; BARA, M.T.F.B. M.H.R.H.D., REZENDE H.D.F. SOARES, Sergio Eduardo. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v.15, n.1, p. 71-81, 2002.

SCOTTI, L.; SCOTTI, M.T.; CARDOSO, C.; PAULETTI, P.; CASTRO-GAMBOA, I.; BOLZANI, V.S.; VELASCO, M.V.R.; MENEZES, C.M.S.; FERREIRA, E.I. Modelagem molecular aplicada ao desenvolvimento de moléculas com atividade antioxidante visando ao uso cosmético. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.43, n.2, p.153-166, 2007.

ZHU, Y.; HUANG, H.; TU, Y. A review of recent studies in China on the possible beneficial health effects of tea. **International Journal of Food Science and Technology**, v.41, n.4, p.333-340, 2006.

CAPÍTULO 1: REVISÃO DA LITERATURA

O chá é uma das bebidas mais consumidas no mundo e considerado um alimento funcional amplamente utilizado (MUKHTAR e AHMAD, 2000; MATSUBARA e RODRIGUEZ-AMAYA, 2006a).

Anteriormente, seu consumo concentrava-se em países da Ásia e Europa, panorama que vem mudando ao longo dos últimos anos (MATSUBARA e RODRIGUEZ-AMAYA, 2006a), pois os chás têm atraído muita atenção devido às propriedades antioxidantes (ASOLINI et al., 2006).

Desde a década de 60, a utilização de plantas medicinais foi impulsionada pela tendência de preferência por alimentos naturais, aliados à comprovação científica da capacidade antioxidante e de outras propriedades benéficas divulgadas pela mídia (ASOLINI et al., 2006; GOMES et. al., 2007).

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), os chás são definidos como “produtos constituídos de partes vegetais, inteiras, fragmentadas ou moídas, obtidas por processos tecnológicos adequados a cada espécie, utilizados exclusivamente na preparação de bebidas alimentícias por infusão ou decocção em água potável, não podendo ter finalidades farmacoterapêuticas” (BRASIL, 2005b).

Apesar de não constar na definição, a restrição do uso dos chás somente para fins alimentares consta na Resolução. Além de restringir as espécies vegetais das quais o produto poderia ser obtido.

A Resolução de Diretoria Colegiada – RDC nº 267, de 22 de setembro de 2005, aprovou o “Regulamento Técnico de Espécies Vegetais para o Preparo de “chás”, onde se encontram relacionadas 47 Espécies Vegetais para o Preparo de Chás, além disso, na resolução é reforçada a exclusão das espécies vegetais com finalidade medicamentosa e/ou terapêutica (BRASIL, 2005a).

Percebe-se, por esta definição, que outras espécies, além da *C.sinensis*, são consideradas como chá no Brasil.

Em complementação as espécies vegetais aprovadas pela Resolução RDC nº 267, de 22 de setembro de 2005, foi aprovada a Resolução RDC nº 219, de 22 de dezembro de 2006 da ANVISA, na qual foi realizada a inclusão do uso

das espécies vegetais e parte(s) de espécies vegetais para o preparo de chás relacionados na RDC nº 267/2005 (BRASIL, 2005c).

1.1 ASPECTOS HISTÓRICOS DO CHÁ VERDE

Proveniente da China, através da *British East India Trading Company*, o chá penetrou na Inglaterra na primeira metade do século XVII, tendo sido essa introdução favorecida principalmente pelo fascínio que os produtos orientais exerciam sobre os europeus.

Inicialmente, devido a escassez, o preço do chá era elevado de tal forma que o consumo ficou restrito aos segmentos economicamente mais favorecidos, com isso este produto transformou-se em símbolo de *status*. Privilégio das classes dominantes, o chá era guardado a chaves para evitar furtos, as folhas e o açúcar eram controlados e trancados em pequenas caixas, também importadas da China (OWENS, 1995).

Curiosamente, criados das casas de chás de alto tratamento, com o desejo de experimentar, faziam uma nova infusão com as folhas usadas e em seguida revendiam as folhas para serem aproveitadas no preparo de uma terceira infusão (LIMA, 1997).

Apesar do costume cultural de se tomar o “chá das cinco”, considerado elegante pela nobreza, ter se iniciado na Inglaterra, por volta de 1800, com a duquesa de Bedford, o consumo de chá nesse país não teve origem nessa época, mas sim, com a portuguesa Catarina de Bragança, no século XVII, filha do rei João IV, ela era uma grande apreciadora dessa bebida em Portugal, e levou o hábito de consumir chá para a corte inglesa. (MACFARLANE e MACFARLANE, 2005).

Os trabalhadores das novas fábricas do século XVIII elegeram o chá como a bebida mais adequada para os seus dias de trabalho, mas a verdadeira responsável pela popularização do chá entre os trabalhadores foi a Companhia Britânica das Índias Orientais, no momento em que estabeleceu postos comerciais na China, no início do século XVIII, e começou a fazer importações diretas de mercadorias, o volume de chá comercializado aumentou e,

consequentemente, houve uma diminuição nos preços do produto. O chá, então, popularizou-se por todas as camadas sociais (MACFARLANE e MACFARLANE, 2005).

O papel do chá em nosso país é pouco abordado na literatura, apesar de acontecimentos históricos importantes estarem relacionados a essa bebida (PAGANINI-COSTA & DA-SILVA, 2011).

Introduzido no Rio de Janeiro no início do século XIX, com a vinda da corte portuguesa, à essa época o chá verde já era tão popular que D. João VI fez iniciar o plantio da *C. sinensis* para assegurar o seu abastecimento à corte. Porém, mais tarde, com o lucro proporcionado pela cultura do café, o plantio do chá foi desestimulado pelo próprio D. João VI (LIMA, 1997).

O chá das cinco só conseguiu penetrar no Brasil com o fim do modo de produção escravista (LIMA, 1997).

No Brasil as infusões caseiras, ou “chá de ervas”, tornaram-se populares em todo o país através de uma grande parcela da população, por meio da cultura popular e das muitas ervas com propriedades medicinais (VULCANO et al., 2003).

A cultura do chá da planta *C. sinensis*, introduzida no Rio de Janeiro por D. João VI, espalhou-se para Minas Gerais, São Paulo e Paraná. Atualmente, a principal região produtora do chá no Brasil é o Vale do Ribeira, em São Paulo (SP), principalmente os municípios de Registro, Pariquera- Açu e Cajati, sendo a colonização japonesa a grande responsável pela evolução e expansão dessa cultura na região (TSUKAMOTO et al., 1994).

1.2 CHÁ VERDE

Popularmente conhecido por chá-da-índia, o chá verde consiste em uma bebida de sabor agradável, preparada a partir da infusão de folhas secas de *C. sinensis*, planta pertencente à família *Theaceae* (Linnaeus) (TANAKA e KOUNO, 2003; SOARES et. al., 2002; MATSUBARA e RODRIGUEZ-AMAYA-, 2006a).

O chá verde é uma cultura perene, com vida útil produtiva por mais de 50 anos, desde que tenha tratamentos culturais adequados (TSUKAMOTO et al., 1994).

Atualmente existem cinco diferentes tipos de chás provenientes da planta *C. sinensis*: o branco, o preto, o verde, o amarelo e o vermelho (MANFREDINI et al., 2004; WU et al., 2007). Um esquema mostrando o processo de obtenção destes chás é apresentado na Figura 1.

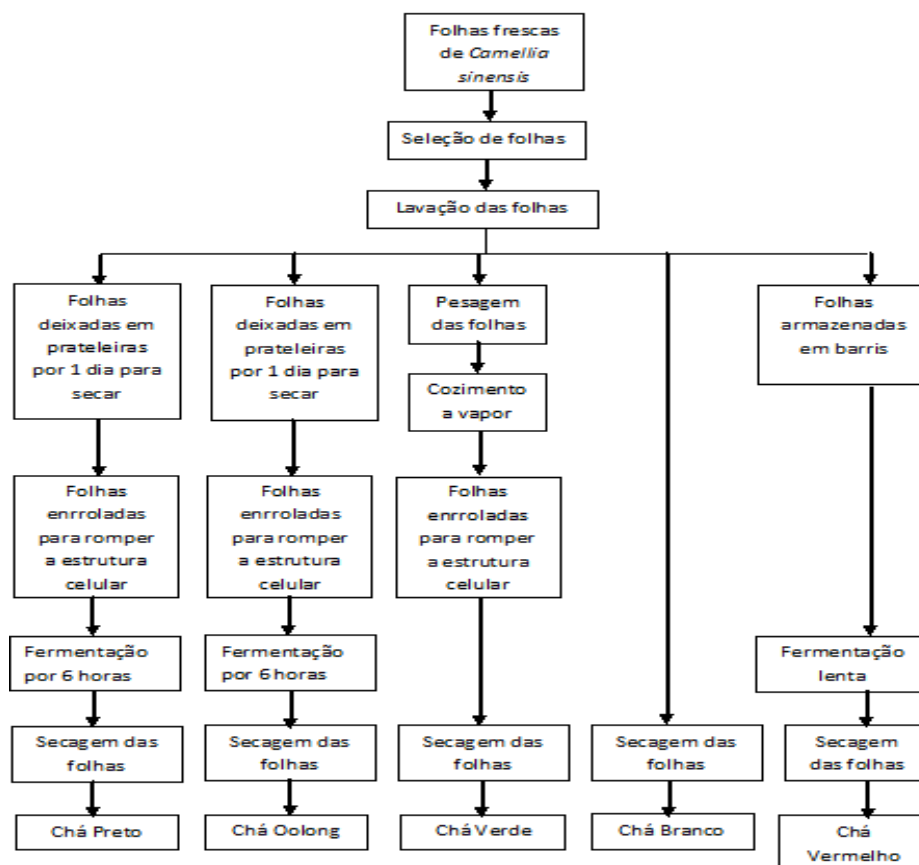


Figura 1. Etapas do processamento dos diferentes tipos de chá produzidos a partir da planta *C.sinensis*.

A idade das folhas determina diferentes tipos de chá verde disponíveis no comércio. Enquanto o “Ban-chá” é um chá verde constituído de folhas mais velhas e rasteiras das plantas de *C.sinensis*, o chá verde propriamente dito é feito de folhas mais novas e tenras e o chá branco é constituído de botões prateados (esbranquiçado) e pelas folhas apicais mais jovens (MATSUBARA e RODRIGUEZ-AMAYA, 2006; RUSAK et al., 2008).

O processo de manufatura do chá verde envolve o aquecimento de folhas colhidas frescas, a fim de promover a inativação de enzimas catalíticas,

particularmente a desnaturação da enzima polifenol oxidase. Este processamento deve ser realizado imediatamente após a colheita, desta forma, previne-se a oxidação dos bioativos do chá, obtendo-se um produto seco e estável, e de melhor qualidade (WANG et al 2000; MATSUBARA e RODRIGUEZ-AMAYA, 2006b). A fermentação parcial ou total das folhas de *C.sinensis* resulta em dois outros tipos de chá, o *oolong* e o chá preto, respectivamente (SOARES et. al., 2002; TANAKA e KOUNO, 2003; MATSUBARA e RODRIGUEZ-AMAYA, 2006a; PANZA et al., 2007).

A diferença entre o chá verde e o chá preto se dá através da inativação das enzimas foliares. Na fabricação do chá verde e do chá branco, as enzimas são inativadas imediatamente após a colheita das folhas. Portanto, a composição de polifenóis no chá verde tende ser semelhante a das folhas frescas. Já na produção do chá preto, as catequinas são oxidadas enzimaticamente, gerando uma mistura complexa de polifenóis, constituída de teaflavinas, teasinensinas e tearubiginas (TANAKA e KOUNO, 2003; RUSAK et al., 2008). Anteriormente acreditava-se que o processo era fermentativo e, por esse motivo, ainda é conhecido como “fermentação”, ao invés de oxidação (MATSUBARA e RODRIGUEZ-AMAYA, 2006; LIMA et al., 2009).

O cultivo da planta *C.sinensis* se dá preferencialmente por, meio de estacas. A estaca para reprodução deve possuir pelo menos uma folha desenvolvida e sua respectiva gema auxiliar com três a quatro centímetros, para permitir a nutrição no desenvolvimento inicial da planta (LIMA et al., 2011)

Esta planta apresenta marcante atividade antioxidante e seus principais componentes bioativos são os flavonóides e as catequinas os quais são potentes antioxidantes, quelantes de metais e inibidores da lipoperoxidação (PERON et. al., 2008).

De acordo com os resultados obtidos em estudo realizado por Chan et al., 2010, as infusões da planta *C.sinensis* apresentam maior capacidade antioxidante quando comparadas aos outros treze chás de ervas analisados.

Ainda, em estudo realizado por Rusak et al. (2008) foi comprovado que o chá verde apresenta maior teor de bioativos e capacidade antioxidante que o chá branco o qual é conhecido por apresentar maior concentração de polifenóis quando comparado ao chá verde.

Para obtenção da infusão do chá verde, são utilizadas as folhas e os brotos da planta (PERON et. al, 2008). A infusão geralmente apresenta coloração caracteristicamente verde devido à inativação da polifenol oxidase por meio do tratamento das folhas frescas por calor (HARBOW e BALENTINE ,1997).

- **Características morfológicas da *Camellia sinensis***

A *C.sinensis* é uma planta de pequeno porte, do tipo arbustivo. A planta apresenta folhas simples, alternas, inteiras, com margem serreada e textura coriácea. As flores são pequenas, brancas, geralmente com quatro a cinco pétalas e aparecem nas axilas das folhas em grupos de dois, três ou quatro, ver Figura 2. O fruto é uma cápsula com dois ou três centímetros de diâmetro (LORENZI e MATOS, 2002).



Figura 2. Flores e folhas de *C.sinensis*. Fonte: William C.W.

Segundo Duarte e Menarim (2006), a caracterização da organização estrutural de folha e caule de *C.sinensis* contribui para a morfodiagnose da espécie. Caracteres anatômicos, como estômatos anomocíticos exclusivamente na face abaxial, tricomas tectores unicelulares em ambas as superfícies, mesofilo dorsiventral, feixes vasculares colaterais, drusas de oxalato de cálcio e esclereides, permitem a identificação da folha que constitui a matéria prima vegetal. Tratando-se de insumo para a indústria de bebidas, somam-se às

características foliares as caulinares, a saber, bainha esclerenquimática, estrato de células de paredes espessadas em U, arranjo vascular colateral e medula heterogênea (PEREIRA et al., 2009).

- **Efeitos biológicos do chá verde**

Os benefícios à saúde associados ao consumo de chá têm sido atribuídos a altas concentrações de antioxidantes (RUSAK et al., 2008). Estes fatores aliados ao interesse crescente relativo aos benefícios do chá verde (*C.sinensis*) conduziram à inclusão do mesmo no grupo de bebidas com propriedades funcionais (ANESINI et al., 2008; WANG et al., 2010).

Infusões de ervas que contêm altos teores de compostos fenólicos normalmente apresentam significativa capacidade antioxidante e potencial de utilização tanto na conservação da qualidade de alimentos, como na preservação da saúde humana, quando presentes regularmente na dieta. O que dá importância e justifica o fato de que, vários estudos *in vitro* vêm apresentando delineamento experimental com objetivo de avaliar o teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante em diferentes tipos de chás (FARHOOSH et al., 2007; KARORI et al., 2007; KOMES et al., 2010; ZHU et al., 2011).

Segundo Cabrera et al., (2003) apesar de terem sido realizados vários estudos de coorte em diferentes países, ainda não foi bem esclarecido qual a melhor frequência e dosagem adequada no uso do chá verde, principalmente devido à influência exercida pela variação do tipo de chá e sua forma de preparo na concentração final de seus compostos ativos.

Com o objetivo de alcançar benefícios à saúde a *American Dietetic Association* (1999) recomenda o consumo de 4-6 xícaras/dia do chá verde, para a redução do risco de câncer esofágico e gástrico.

Estudos *in vitro* encontram-se bem avançados, mostrando possíveis mecanismos de ação contra o câncer, em todas as etapas do desenvolvimento da doença: iniciação, promoção e propagação. Vários destes trabalhos utilizaram extratos de chás, mas atribuíram o efeito protetor às catequinas, as quais apresentam atividade antioxidante e são seqüestradoras de radicais livres

(DROGE, 2002; MATSUBARA e RODRIGUEZ-AMAYA 2006a; SENGER et al., 2010).

O crescente interesse pela bebida deve-se grandemente a estudos que a mostram como fonte de flavonóides e a relação inversa entre seu consumo e o risco de doenças degenerativas como câncer (AZAM et al., 2004; PERON et. al., 2008), doenças cardiovasculares (HIGDON e FREI, 2003). Além disso, estudos em humanos sugerem que o chá verde pode contribuir para promover outros benefícios à saúde, tais como efeito hipoglicemiante, controle do peso corporal (por reduzir o apetite e aumentar o catabolismo de gorduras) (CHOO et al., 2003; KOO e NOH, 2007), proteção contra os raios ultravioleta e manutenção da densidade mineral óssea (PERON et. al., 2008; SENGER et al., 2010).

A fim de verificar se a principal catequina presente no chá verde, a galato de epigalocatequina (EGCG) promoveria a inibição da adipogênese e induziria apoptose em adipócitos, Lin et al. (2005) incubaram pré-adipócitos e adipócitos maduros por diferentes tempos e concentrações de EGCG. Os resultados mostraram que a catequina inibiu a adipogênese e causou apoptose em células adiposas maduras.

O mecanismo de ação dos antioxidantes, presentes em extratos de plantas, possui um papel importante na redução da oxidação lipídica em tecidos, vegetal e animal, pois quando incorporado na alimentação humana não conserva apenas a qualidade do alimento, mas também reduz o risco de desenvolvimento de patologias, como aterosclerose e câncer, o que justifica o estudo dos polifenóis mesmo sendo um componente dietético não essencial (RAMARATHNAM et al., 1995).

- **Antioxidantes e Radicais livres**

Para que possamos compreender as propriedades antioxidantes dos chás é necessário o entendimento dos mecanismos e conceitos envolvidos nas reações de oxidação.

Nos últimos anos, uma quantidade substancial de evidências tem indicado o papel chave dos radicais livres e outros oxidantes como grandes

responsáveis pelo envelhecimento e pelas doenças degenerativas associadas ao envelhecimento, como câncer, doenças cardiovasculares, catarata, declínio do sistema imune e disfunções cerebrais. A produção de radicais livres é controlada nos seres vivos por diversos compostos antioxidantes, os quais podem ter origem endógena (por ex., superóxido dismutase), ou serem provenientes da dieta alimentar e outras fontes. (ATOUI et al., 2005)

Os radicais livres ou espécies reativas do oxigênio (ERO) são substâncias altamente reativas, por apresentarem um elétron desemparelhado na última camada eletrônica, e tendem a reagir rapidamente com substratos oxidáveis (FERREIRA e MATSUBARA et al. 1997).

As ERO são formadas por reações de oxido-redução, após cederem ou receberem um elétron de outras moléculas instáveis e são conseqüências direta do metabolismo do oxigênio e da exposição da célula a xenobióticos (micotoxinas, radiação ionizante, pesticidas, etc.), que provocam a redução incompleta do oxigênio. (DROGE, 2002).

Além disso, os radicais livres oxigenados podem ser convertidos a outras espécies reativas não radicais, como peróxido de hidrogênio, ácido hipoclorídrico e peroxinitrito (FERREIRA e ABREU, 2007) Assim as ERO podem ser espécies radicais e não radicais (FANG et al., 2003).

Já os antioxidantes podem ser definidos como substâncias capazes de retardar ou inibir a oxidação de substratos oxidáveis, podendo ser enzimáticos ou não enzimáticos, tais como que α -tocoferol (vitamina E), β -caroteno, ácido ascórbico (vitamina C) e os compostos fenólicos (flavonóides e outros fenóis) (ASOLINI et al., 2006; SOUSA et al., 2007). A manutenção do equilíbrio entre a produção de radicais livres e as defesas antioxidantes é uma condição essencial para o funcionamento normal dos organismos vivos, por isso, uma vez produzidos, a maior parte dos radicais livres são removidos pelas defesas antioxidantes da célula que incluem enzimas e moléculas não enzimáticas (FERREIRA e ABREU, 2007).

Quando há limitação na disponibilidade de antioxidantes podem ocorrer lesões oxidativas de caráter cumulativo. Os antioxidantes são capazes de estabilizar ou desativar os radicais livres antes que ataquem os alvos biológicos nas células (ATOUI et al., 2005).

A eficiência antioxidante de compostos bioativos em alimentos de origem vegetal depende de sua estrutura e da sua concentração no alimento. Por sua vez, a quantidade destas substâncias em vegetais é amplamente influenciada por fatores genéticos e condições ambientais, além do grau de maturação e variedade da planta, entre outros aspectos (OLIVEIRA et al., 2009).

O consumo de antioxidantes naturais, como os compostos fenólicos, presentes na maioria das plantas, inibem a formação de radicais livres, e tem sido associado a uma menor incidência de doenças relacionadas com o estresse oxidativo, onde ocorre um desequilíbrio entre o balanço pró-oxidante/antioxidante, em favor da situação pró-oxidante, na qual pode ocorrer oxidação de lipídios da membrana celular, de proteínas e DNA, inibindo a função normal da célula, o que pode aumentar o risco para o desenvolvimento de várias doenças (DROGE, 2002; ASOLINI et al., 2006; FERREIRA e ABREU, 2007).

No entanto, em estudo realizado por Azam et al. (2004) foi evidenciado que a propriedade pró-oxidante apresentada pela epigallocatequina-3-galato (EGCG), presente no chá verde, pode induzir a ativação do mecanismo de apoptose o que pode ser um dos mecanismos moleculares importantes no que diz respeito as propriedades anticancerígenas atribuídas ao chá verde.

Devido a suspeita de atividade como promotores de carcinogênese, o uso dos antioxidantes sintéticos vem diminuindo. Este fator aliado ao conhecimento sobre o papel de alimentos com propriedades antioxidantes na prevenção de certas doenças e às evidências epidemiológicas promovem o interesse pela busca de antioxidantes seguros provenientes de fontes naturais e têm conduzido ao desenvolvimento de um grande número de métodos para determinar a capacidade antioxidante em alimentos (DROGE, 2002; PEREZ-JIMENEZ e SAURA-CALIXTO, 2005).

Devido à diversidade de métodos, não existe um procedimento metodológico universal para avaliar a capacidade antioxidante, principalmente, em decorrência da grande diversidade química existente entre os compostos antioxidantes (OLIVEIRA et al., 2009).

Vários ensaios têm sido desenvolvidos para avaliação da capacidade antioxidante de amostras. Alguns deles determinam a habilidade dos antioxidantes em sequestrar espécies reativas geradas no meio reacional. Outros

avaliam a eficiência dos antioxidantes em inibir a peroxidação lipídica por meio de: quantificação dos produtos da reação dienos conjugados e hidroperóxidos; quantificação dos produtos da decomposição da peroxidação lipídica, ou medição da inibição da oxidação do lipídio do sistema pelo antioxidante a ser testado. Estes ensaios diferem em relação ao mecanismo de reação, às espécies-alvo, às condições reacionais e na forma como os resultados são expressos (OLIVEIRA et al.,2009).

Os variados métodos podem gerar resultados muito diferentes, este fato impõe a necessidade de avaliar a capacidade antioxidante por diferentes ensaios, com fundamentos e mecanismos de ação diferentes (TARBAT et al., 2009).

Vários estudos foram realizados para a avaliação da atividade antioxidante, assim como para a quantificação dos compostos fenólicos, mas em muitos deles nas metodologias empregaram extratos obtidos pelo uso de solventes orgânicos. Ainda são poucos os relatos sobre os compostos fenólicos e atividade antioxidante em infusões de ervas, embora vários trabalhos tenham demonstrado a grande importância de se analisar a atividade antioxidante e a composição fenólica na forma como o chá é consumido (ATOUI, et al., 2005; AQUINO, 2007; MORAES DE SOUZA, 2007; MORAIS et al.,2009)

A comparação de dados a partir de diferentes estudos também é difícil. No momento, é preferível realizar uma bateria de ensaios, com medida de diferentes aspectos químicos dos antioxidantes, compará-los com compostos sintéticos consagrados como antioxidantes, gerando assim, um perfil antioxidante completo, sem perder de vista a relação com a potencial aplicação do produto. Devem-se escolher métodos comumente aceitos, validados e padronizados, com informações acumuladas na literatura (OLIVEIRA et al., 2009; TARBAT et al., 2009).

Um dos métodos mais usados para verificar a capacidade antioxidante consiste em avaliar a atividade seqüestradora do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH•), de coloração púrpura, que absorve em um comprimento de onda de 517 nm. Por ação de um antioxidante ou uma espécie radicalar (R•), o DPPH• é reduzido formando 2,2-difenilpicril-hidrazina (DPPH-H) (Figura 3), de coloração amarela, com conseqüente desaparecimento da banda de absorção,

sendo a mesma monitorada pelo decréscimo da absorbância. A partir dos resultados obtidos, determina-se a porcentagem de atividade antioxidante (quantidade de DPPH• consumida pelo antioxidante) ou sequestradora de radicais e/ou a porcentagem de DPPH• remanescente no meio reacional. O mecanismo de reação é baseado em transferência de elétrons, enquanto a abstração de átomo de hidrogênio é uma reação marginal, pois a mesma acontece lentamente em solventes que estabelecem fortes ligações de hidrogênio. O método é influenciado pelo solvente e pelo pH das reações. O método é considerado fácil e útil para análise de substâncias puras e amostras complexas.

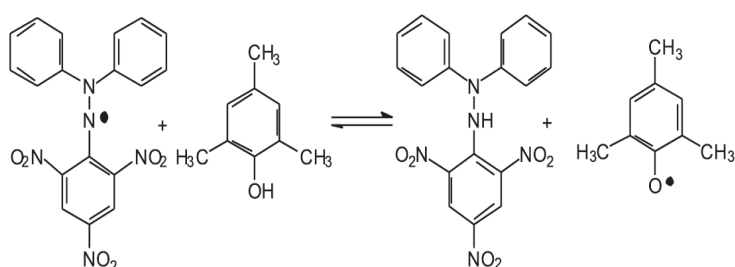


Figura 3. Reação química entre o butil-hidroxitolueno (BHT) e o radical ,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH).

Outra metodologia bastante utilizada, denominada de Sistema β -caroteno/ácido linoléico, foi originalmente descrito por Marco (1968) e posteriormente modificado por Miller (1971). Este método colorimétrico baseia-se na descoloração da solução preparada a base de β -caroteno e ácido linoléico, em meio aquoso.

- **Bioativos**

As dietas ricas em polifenóis são epidemiologicamente associadas à redução do risco de desenvolvimento de algumas doenças relacionadas à idade, nos seres humanos. Este efeito é frequentemente, atribuído a sua poderosa atividade antioxidante (HALLIWEL, 2008).

Na planta *C.sinensis*, popularmente conhecida por chá verde, os flavonóides e as catequinas são os principais componentes químicos terapêuticos, são potentes antioxidantes, quelantes de metais e inibidores da lipoperoxidação (SOARES et. al., 2002; MATSUBARA e RODRIGUEZ-AMAYA, 2006^a; PERON et. al., 2008).

A composição química do chá verde pode variar quanto à espécie, idade das folhas, estação, clima (umidade, temperatura, latitude) e condições de cultivo (solo, água, minerais, fertilizantes, entre outros). Em sua composição estão presentes: proteínas, glicídios, ácido ascórbico, ácido fólico, manganês, potássio, vitaminas do complexo B e bases púricas, polifenóis, monossídeos de flavonóides e flavonas, taninos, cafeína, epicatecóis livres e esterificados pelo ácido gálico e produtos de condensação, tendo como destaque a epigalocatequina-3-galato (EGCG) (SCOTTI et al., 2007).

Estudos mostraram que, no caso do chá, a localização da folha na planta afeta o seu conteúdo de cafeína. Por este motivo, os valores relatados na literatura podem variar entre 2 a 4,6% (BRENELLI et al., 2003).

O termo polifenol é utilizado para designar os compostos formados pela esterificação de um ou mais derivados do ácido *trans*-cinâmico com o ácido quínico, ou ácido 3-O-cafeoilquínico, metabólitos secundários, amplamente distribuídos no reino vegetal e encontrados em numerosas plantas superiores (DE MARIA e MOREIRA, 2004).

Os fenólicos são originados do metabolismo secundário das plantas e são essenciais no seu crescimento e reprodução das, além de atuarem como agente antipatogênico e contribuir na pigmentação dos vegetais (NACZK e SHAHIDI, 2004).

Os compostos fenólicos são estruturas químicas que apresentam hidroxilas e anéis aromáticos (SOUSA et al., 2007), nas formas simples ou de polímeros, que os confere elevada capacidade antioxidante (ROBARDS et al., 1999), e habilidade em complexar íons metálicos, inativar reações radiculares, prevenindo conversão de hidroperóxidos em oxi-radicais reativos, estas funções biológicas os tornam importantes constituintes dietéticos (OLIVEIRA et al., 2009). Além disso, em alimentos, são responsáveis pela cor, adstringência, aroma e estabilidade oxidativa (NACZK e SHAHIDI, 2004).

Os compostos fenólicos podem ser divididos em dois grupos: os flavonóides e os não flavonóides. Os denominados de flavonóides são os que apresentam a estrutura química descrita como C6-C3-C6 (HARBORNE et al., 1999). Já os compostos fenólicos do tipo não flavonóides, denominados ácidos fenólicos estão reunidos em dois grupos, a saber: derivados do ácido hidroxicinâmico e derivados do ácido hidroxibenzóico. Os derivados do ácido hidroxicinâmico são compostos fenólicos de ocorrência natural que possuem um anel aromático com uma cadeia carbônica, constituída por 3 carbonos ligada ao anel. Os ácidos p-cumárico, ferúlico, caféico e sináptico são os hidroxicinâmicos mais comuns na natureza. Estes ácidos existem nas plantas, usualmente na forma de ésteres, a exemplo do ácido clorogênico, éster do ácido quínico, cuja molécula é constituída pelo ácido quínico esterificado ao ácido caféico (DURAN e PADILLA, 1993; BURNS et al., 2000).

A planta *C.sinensis* apresenta elevados níveis de flavonóides (PERON et. al., 2008). Segundo Punyasiri et al. (2004) a presença de altas quantidades da enzima antocianidina redutase responsável por catalisar etapas chaves na produção das catequinas pode explicar os significativos teores de flavonóides encontrados nesta planta. Os flavonóides constituem cerca de 10-25% da massa seca de folhas jovens e brotos, sendo denominados de catequinas (HAMPTON, 1992), classificadas nos subgrupos (Figura 4): catequina (C), epicatequina (EC), epicatequina galato (ECG), epigalocatequina (EGC), epigalocatequina galato (EGCG) e galocatequina-galato (GCG) (TANAKA e KOUNO, 2003).

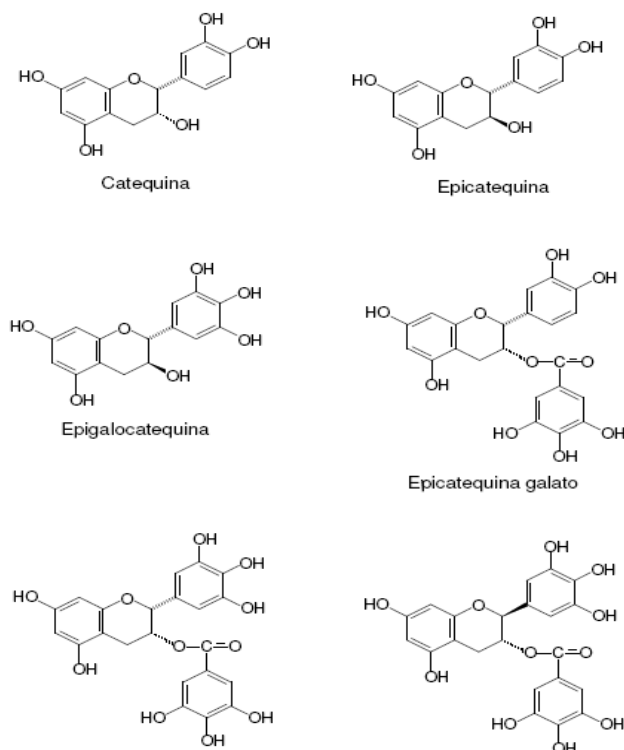


Figura 4. Estrutura de alguns flavonóides do chá verde. Adaptado de Miura et al., 2001.

Existem cerca de cinco mil polifenóis conhecidos (LIMA et al., 2009), dentre eles, destacam-se os flavonóides, ácidos fenólicos, fenóis simples, cumarinas, taninos, ligninas e tocoferóis (KING et al., 1999; ROBARDS et al., 1999; LEE et al., 2005). Os compostos fenólicos englobam desde moléculas simples até moléculas com alto grau de polimerização e estão presentes nos vegetais na forma livre ou ligados a açúcares (glicosídeos) e proteínas (BRAVO, 1998).

A estrutura química dos flavonóides consiste em dois anéis aromáticos, denominados anel A e B, unidos por três carbonos que formam um anel heterocíclico, denominado anel C. O anel aromático A é derivado do ciclo acetato/malonato, enquanto o anel B é derivado da fenilalanina. Variações em substituição do anel C padrão resultam em importantes classes de flavonóides, como flavonóis, flavonas, flavanonas, flavanóis (ou catequinas), isoflavonas e antocianidinas. Substituições dos anéis A e B originam diferentes compostos

dentro de cada classe de flavonóides. Estas substituições podem incluir oxigenação, alquilação, glicosilação, acilação e sulfação (HOLLMAN et al., 1999).

Os usos das substâncias fenólicas são variados, na indústria alimentícia e farmacêutica como flavorizante, corante, aromatizante e principalmente como antioxidante (NEGRI, 2007).

Os antioxidantes fenólicos interagem, preferencialmente, com o radical peroxil por ser este mais prevalente na etapa da autoxidação e por possuir menor energia do que outros radicais, fato que favorece a abstração do seu hidrogênio (DECKER, 1998).

Este mecanismo de ação dos antioxidantes, presentes em extratos de plantas, possui um papel importante na redução da oxidação lipídica em tecidos, vegetal e animal, pois quando incorporado na alimentação humana não conserva apenas a qualidade do alimento, mas também reduz o risco de desenvolvimento de patologias, como aterosclerose e câncer, o que justifica o estudo dos polifenóis mesmo sendo um componente dietético não essencial (RAMARATHNAM et al., 1995).

Independente do objetivo, seja para a conservação dos alimentos ou para a avaliação dos efeitos sobre a saúde, vários estudos têm utilizado diferentes metodologias e tipos de solventes na extração dos bioativos com potenciais atividades antioxidantes, o que dificulta a realização de comparações dos resultados obtidos, devido a falta de padronização.

A composição química dos chás pode variar quanto à espécie, idade das folhas, estação, clima (umidade, temperatura, latitude) e condições de cultivo (solo, água, minerais, fertilizantes, entre outros) (PERVA-USUNALIC et al. 2005; OWUOR et al., 2006; SCOTTI et al., 2007). Essas diferenças na matéria-prima refletem no sabor, cor e, possivelmente, nos teores de flavonóides (MATSUBARA & RODRIGUEZ-AMAYA, 2006a). Os teores dos flavonóis miricetina, quercetina e kaempferol encontrados em chás verde e preto comercializados no Brasil são comparáveis aos resultados encontrados na literatura (MATSUBARA & RODRIGUEZ-AMAYA, 2006b)

- **Parâmetros de qualidade do chá verde comercial**

A sociedade atual tem buscado na natureza hábitos mais saudáveis de vida. Essa tendência, associada ao alto custo dos medicamentos, tem levado ao aumento progressivo da produção e utilização dos chás e produtos fitoterápicos e, conseqüentemente, à preocupação em relação a qualidade destes produtos (ROCHA et. al.,2004). Essa realidade também é bastante evidente no Brasil (BUGNO et. al., 2005; PERON et. al, 2008).

O controle de qualidade de ervas tem impacto direto sobre a segurança e eficácia destes produtos (SAHOO et al., 2010), mas apesar do mercado para os produtos naturais ser promissor e de demanda crescente, a falta de qualidade, desde a matéria-prima ao produto acabado é um problema freqüente, devido a fatores, como o armazenamento inadequado, que além de gerar perda de princípios ativos do produto pode favorecer a contaminação por agentes diversos, que por sua vez podem causar danos à saúde do consumidor, além de determinar prejuízos econômicos (BUGNO et. al., 2005; VEIGA JUNIOR et al., 2005; FRANÇA et. al., 2008)

Embora a *C.sinensis* seja uma planta muito utilizada atualmente, a Farmacopéia Brasileira (2000), Farmacopéia Americana - USP 28 (2005), British Pharmacopoea (2000) e European Pharmacopea (2001) não contêm monografia sobre esta planta.

Para minimizar este problema e estimular a implantação do controle de qualidade de matéria prima vegetal, a Organização Mundial da Saúde (WHO) desenvolveu um relatório de diretrizes técnicas com recomendações e orientação aos países quanto aos procedimentos para a realização do controle para a segurança e garantia da qualidade de plantas medicinais e matérias primas vegetais.

A manutenção da composição química da planta através dos estágios de processamento de manufatura (colheita, estabilização, embalagem e tempo de conservação em prateleira) e a pureza são da máxima importância para assegurar a manutenção de teores significativos de bioativos e a segurança do consumidor quanto a qualidade do produto (SAHOO et al., 2010).

A análise química deve ser parte integrante do sistema de controle de qualidade. Além disso, o índice de umidade é considerado indicador da qualidade para chás e é primordial para qualidade do chá durante o período de armazenamento (NAITHANI et al., 2006; YAO et al., 2006;).

O chá é um produto muito higroscópico e a manutenção de sua qualidade alimentar e/ou fitoterápica depende em grande parte de seu conteúdo de umidade. Portanto, ao acondicioná-lo para comercialização, é imprescindível providenciar uma barreira eficaz contra a umidade. Associado a isto, o armazenamento com controle de temperatura e umidade adequadas para produtos secos vai evitar o desenvolvimento de fungos que, potencialmente, possam causar alteração no teor de princípios ativos ou produzir micotoxinas (GOMES et al., 2007).

Até o momento, os chamados degustadores de chá, são os responsáveis por avaliarem os chás de maneira subjetiva (BHATTACHARYYA et al., 2007), pois ainda não foram padronizados métodos para determinação da qualidade do chá (LIANG et al., 2003; OWUOR et al., 2006). Contudo, além dos compostos fenólicos, alguns componentes químicos têm sido considerados importantes, tais como as catequinas, cafeína e aminoácidos, pois contribuem para a força do licor e sabor do chá (OBANDA e OWUOR, 1997; SCHARBERT et al., 2004).

O estabelecimento de parâmetros químicos nas folhas para predição da qualidade do chá, além de poderem ser utilizados em programas de melhoramento, poderiam servir para acompanhar e detectar possíveis problemas nas práticas agrônômicas ou na fabricação (OWUOR e OBANDA, 2006).

Assim como o teor de polifenóis, as informações baseadas em outros parâmetros químicos relacionados à atividade biológica são consideradas indicadores complementares da qualidade do chá verde (ANESINI, 2008). Nesse sentido, a avaliação da atividade antioxidante pode e vem sendo utilizada, em muitos estudos, como um indicador complementar da qualidade do chá verde (KOMES et al., 2010; NISHIYAMA et al., 2010).

Uma das questões fundamentais para a área de alimentos é a relação entre a qualidade percebida pelo consumidor e a presença de compostos responsáveis por seu sabor e aroma, parâmetros essenciais da qualidade de

alimentos. Esta abordagem impacta diretamente na indústria, através da definição de índices que se relacionam com a qualidade e, portanto, com o valor agregado do produto (MACHADO e BASTOS, 2007).

De acordo com Ravichandran & Parthiban, (1998) a concorrência no mercado de chá tornou a qualidade o parâmetro mais importante para o estabelecimento do preço. Esse cenário resulta na necessidade de aumento de rentabilidade por meio do aumento da qualidade do produto e da manutenção de altos índices de produtividade (OWUOR et al., 2006).

No caso de infusões, como as de *C.sinensis* (chá verde, oolong e chá preto), o sabor determina a qualidade do produto e seu preço de mercado, evidenciando a importância do conhecimento das rotas bioquímicas de geração dos compostos voláteis, que são em grande parte responsáveis pelo aroma, e que sofrem alterações durante o processamento (RAVICHANDRAN e PARTHIBAN, 1998; KATO e SHIBAMOTO, 2001). As lípases presentes nas folhas, quando não inativadas, liberam ácidos graxos insaturados das membranas celulares que, por sua vez, sofrem outras reações de degradação originando compostos voláteis indesejáveis para este produto, como trans-2-hexenal. Já a degradação de carotenóides leva à formação de compostos responsáveis pelo aroma doce e agradável (RAVICHANDRAN e PARTHIBAN, 1998).

Segundo Naithani et al. (2006), no decorrer do tempo de armazenamento, pode ocorrer perda considerável nos níveis dos bioativos e da capacidade antioxidante nos alimentos armazenados por longos períodos.

Alguns dos fatores que contribuem para esta perda de qualidade são os processamentos inadequados da matéria prima expondo-a a contaminação por impurezas, tais como areia, coliformes fecais, dejetos de animais e partes de outras espécies vegetais; a falta do controle de umidade no armazenamento e a exposição ao calor favorecendo a perda de princípios ativos e contaminação por fungos e outros microorganismos, que por sua vez podem causar danos à saúde do consumidor, além de determinar prejuízos econômicos (AQUINO et. al., 2007; GOMES et. al., 2007).

A ocorrência de fraudes e a má qualidade dos produtos comercializados têm preocupado profissionais da área de saúde e a comunidade científica (VEIGA JUNIOR et. al., 2005).

Os desvios de qualidade, a adulteração e a incorreta utilização destes produtos, interferem na eficácia e até mesmo na sua segurança. Somado a estes fatores, faltam parâmetros específicos para a produção e comércio desses produtos e legislação própria para identificação, determinação de pureza e teor de constituintes químicos para muitos deles (VEIGA JUNIOR et. al., 2005).

Segundo Braga (2007), para a maioria das plantas comercializadas na forma de chá não existem parâmetros de avaliação de qualidade, embora sejam amplamente comercializadas em mercados, feiras livres, farmácias e ervanárias brasileiras. É prioritário criar-se padrões de qualidade físico-químicos, microbiológicos e do teor de constituintes químicos que venham atender ao mercado consumidor brasileiro.

Em estudos realizados por Bara et al. (2006), verificou-se que 60% das amostras analisadas de guaraná e ginkgo estavam em desacordo com as especificações farmacopéicas ou as declaradas pelos laudos dos fabricantes, em relação ao teor de princípios ativos. Além disso, 100% e 20%, respectivamente, das amostras de hipérico e de castanha-da-índia apresentaram teores de bioativos abaixo das especificações. Os dados obtidos mostraram ser de grande importância e necessidade a implementação de técnicas quantitativas no controle de qualidade físico-química de matérias-primas vegetais.

Segundo Bhattacharya et al. (2007), para a avaliação da qualidade do chá verde, são importantes os atributos físicos e físico-químicos, tais como cor, quantidade de resíduos e teor de sólidos solúveis, além da análise do sabor e aroma.

A qualidade do chá verde é fortemente influenciada pelos componentes orgânicos e inorgânicos das folhas jovens e dos brotos, os quais são alterados durante a sua transformação (aquecimento) em substâncias que determinam o sabor (LIMA et al., 2009). Além disso, a cor, o sabor e o aroma do chá verde estão diretamente associados à quantidade de polifenóis presentes que são os principais compostos que definem sua qualidade (SOARES et. al., 2002; MATSUBARA e RODRIGUEZ-AMAYA, 2006a; SCOTTI et al., 2007; LIMA et al., 2009).

A caracterização da qualidade sensorial de chás depende dos compostos voláteis que dão origem a índices de qualidade, como o VFC ("Volatile

Flavor Compounds”) e o índice de terpenos (“terpene index”) (MACHADO e BASTOS, 2007). Os chás considerados mais aromáticos apresentam maiores teores de linalol e seus óxidos e baixos teores de hexanal (RAVICHANDRAN e PARTHIBAN, 2000; RAVICHANDRAN, 2002; BIXBY et al., 2005). É provável que compostos terpênicos, seus óxidos, cetonas e alcoóis (limoneno, linalol, óxidos cis e trans linalol), além dos produtos de degradação de carotenóides sejam de importância para a qualidade sensorial destes produtos, no entanto, é imprescindível a avaliação olfatométrica destes compostos para se determinar sua importância odorífera (BASTOS et al., 2006; MACHADO e BASTOS, 2007).

As lipases presentes nas folhas liberam ácidos graxos insaturados das membranas celulares que, por sua vez, sofrem outras reações de degradação originando compostos voláteis indesejáveis para este produto, como trans-2-hexenal. Já a degradação de carotenóides leva à formação de compostos responsáveis pelo aroma doce e agradável (RAVICHANDRAN e PARTHIBAN, 1998).

Devido ao fato de as diferenças na qualidade dos chás terem sido, muitas vezes, atribuídas à variação genética (OWUOR et al., 2006), o cultivo de chá tem sofrido uma transformação dramática em termos do tipo de muda utilizado para implantação de novos plantios (OWUOR e OBANDA, 1999).

Atualmente, as mudas em geral são propagadas vegetativamente a partir de clones, geralmente de híbridos selecionados com base na produtividade, qualidade ou resistência a condições ambientais adversas, ou ainda, na combinação dessas características (OWUOR et al., 2006).

Nos diferentes países produtores, a produção de chá tem sido estudada em diferentes altitudes. Verificou-se que em maiores altitudes e com temperaturas amenas a planta apresenta crescimento mais lento e qualidade superior do chá em termos de sabor e brilho, quando comparado com o chá cultivado em baixa altitude, com temperatura e umidade mais altas (OWUOR et al., 2006).

As características geoquímicas de rochas e solos são importantes fatores que afetam o crescimento da planta de *C.sinensis* e a qualidade do chá (GUOHUA et al., 1995), em parte pelo fato dessa espécie acumular metais essenciais ou tóxicos para maioria das plantas. Como consequência, pode haver

acúmulo de metais benéficos ou prejudiciais à saúde humana neste chá. Desse modo, o teor de metais tem sido considerado atributo de qualidade, sendo utilizado inclusive para inferir sobre o país de origem do chá (FERNÁNDEZ-CÁCERES et al., 2001).

Alguns trabalhos comprovaram que o alumínio estimula o crescimento da planta *C.sinensis* (KONISHI et al., 1992), além disso, o alumínio acumulado é quelado por catequinas, outros polifenóis e ácidos orgânicos, este tem sido apontado como um modo eficiente de tolerância a esse metal. No chá, ocorre a quelação de alumínio por catequinas presentes nas folhas, uma exceção, pois normalmente esse metal não chega a ser transportado para a parte aérea da planta (SHU et al., 2003; VITORELLO et al., 2005).

A *C.sinensis* também acumula flúor (F), que, por sua vez, pode complexar alumínio, reduzindo sua fitotoxicidade (SHU et al., 2003). Considerando que o alumínio pode interagir com catequinas, a qualidade do chá pode ser afetada pela presença desse metal. Outros elementos minerais acumulados por *C.sinensis* são potássio (K), magnésio (Mg) (FERRARA et al., 2001), manganês (Mn), cálcio (Ca), zinco (Zn), cromo (Cr) e níquel (Ni)., 1998), além de selênio (Se) (ZHU et al., 2006), sendo alguns destes essenciais para a saúde humana.

O ponto de colheita da *C.sinensis* está diretamente relacionado com a qualidade do produto final, pois o grau de maturidade fisiológica das folhas afeta o conteúdo de catequinas (THOMAS et al., 2005).

De acordo com Ravichandran & Parthiban (1998), as folhas colhidas manualmente apresentam maiores teores de precursores bioquímicos importantes para a qualidade do chá em relação à colheita mecânica, que é não-seletiva e pode causar lesão por cisalhamento. No entanto, com o aperfeiçoamento tecnológico, o chá colhido mecanicamente freqüentemente tem apresentado qualidade similar ou superior ao chá colhido manualmente.

Em estudos realizados por Ravichandran (2004) foi observado que os precursores responsáveis pela qualidade do chá tais como polifenóis, aumentaram seu conteúdo no primeiro ano após a poda e depois diminuíram com o aumento do tempo de poda.

Além dos cuidados com a colheita, processamento e armazenamento, o controle de doenças merece atenção e é essencial, pois algumas ocorrem diretamente nas folhas novas e nos brotos do chá, podendo afetar tanto a produtividade, como a qualidade, sendo a deterioração da qualidade diretamente proporcional à severidade da doença (GULATI et al., 1999).

- **Análise macroscópica e microscópica**

A Organização Mundial da Saúde tem alertado para a necessidade de se coibir a contaminação de alimentos por agentes biológicos com potencial de causar danos à saúde. Há vários motivos que explicam a persistência ou até o aumento da contaminação dos alimentos (FAO/WHO, 1992; BALBANI et al., 2001).

Em 1998, a Organização Mundial da Saúde reuniu procedimentos no documento *Quality control methods for medicinal plant materials*, que podem ser tomados como base para que auxiliem as nações, a partir de sua legislação, a formar padrões de controle de qualidade de matérias primas vegetais e produtos derivados (WHO, 1998).

A autenticidade dos produtos transformados, modificados ou misturados nunca foi fácil, constituindo sempre ao longo do tempo um grande desafio para o controle de qualidade. O meio mais eficaz de prevenir a especulação e a fraude é garantir a autenticidade do alimento, confirmando através de análises a presença dos constituintes indicados na rotulagem e averiguando se há presença de outra matéria-prima não especificada na embalagem (FERREIRA et al, 1997).

Matérias macroscópicas são aquelas que podem ser detectadas por observação direta (olho nu) sem auxílio de instrumentos ópticos. Já para detecção das matérias microscópicas, é necessário o auxílio de instrumentos como o microscópio.

Através dos ensaios macroscópicos e microscópicos verificou-se a contaminação do produto por presença de matéria prejudicial à saúde humana, como: insetos, em qualquer fase de desenvolvimento, vivos ou mortos, inteiros ou

em partes, reconhecidos como vetores mecânicos; outros animais vivos ou mortos, inteiros ou em partes, reconhecidos como vetores mecânicos; parasitos; excrementos de insetos e ou de outros animais; objetos rígidos, pontiagudos e ou cortantes, que podem causar lesões no consumidor.

Esta classe de ensaios está diretamente vinculada à análise de rotulagem, pois verifica se o fabricante declara no rótulo do produto todos os ingredientes encontrados, que são identificados microscopicamente.

Através da morfologia e dos elementos histológicos, observados microscopicamente na amostra e comparados com material da bibliografia especializada, é possível identificar as espécies vegetais presentes no produto.

As espécies vegetais devem constar da lista “Espécies Vegetais para o Preparo de Chás”, estabelecida pela legislação vigente (Resolução ANVISA/MS RDC nº 267/2005 e Resolução ANVISA/MS RDC nº 219/2006).

REFERÊNCIAS

ANESINI, C.; FERRARO, G.E.; FILIP, R. Total Polyphenol Content and Antioxidant Capacity of Commercially Available Tea (*Camellia sinensis*) in Argentina. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v.56, p.9225–9229, 2008.

AQUINO, S. Avaliação da microbiota fúngica e da presença de micotoxinas em amostras de plantas medicinais irradiadas adquiridas no comércio varejista e atacadista. 2007. 115p. Tese (Doutorado em Tecnologia Nuclear), Instituto de pesquisas energéticas e nucleares(IPEN) – Autarquia associada à Universidade de São Paulo, São Paulo-SP.

ASOLINI, F. C.; TEDESCO, A.M.; CARPES, S.T.; FERRAZ, C.; ALENCAR, S.M. Atividade Antioxidante e Antibacteriana dos Compostos Fenólicos dos Extratos de Plantas Usadas como chás. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 9, n. 3, p. 209-215, 2006.

ATOUI, A.K; MANSOURI, A.; BOSKOU, G.; KEFALAS, P. Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile. **Food Chemistry**, v. 89, p. 27–36, 2005.

AZAM, S.; HADI, N.; KHAN, N.U.; HADI, S.M. Prooxidant property of green tea polyphenols epicatechin and epigallocatechin-3-gallate: implications for anticancer properties. **Toxicology in Vitro**, v.18, p.555–561, 2004.

BARA, M.T.F.; RIBEIRO P.A.M.; ARANTES, M.C.B.; AMORIM, L.L.S.; PAULA, J.R. DE. Determinação do teor de princípios ativos em matérias-primas vegetais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, n.2, p.211 – 215, 2006.

BASTOS, A , D.H.M.; ISHIMOTOA, EMÍLIA Y; MARQUESB, MARCIA ORTIZ M.; FERRIB, ADALBERTO FERNANDO; TORRESA ,ELIZABETH A.F.S. Essential oil and antioxidant activity of green mate and mate tea (*Ilex paraguariensis*) infusions. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.19, p.538–543, 2006.

BIXBY, M; SPIELER, LAUREN; MENINI, TERESITA; GUGLIUCCI, ALEJANDRO; *Ilex paraguariensis* extracts are potent inhibitors of nitrosative stress: A comparative study with green tea and wines using a protein nitration model and mammalian cell cytotoxicity. **Life sciences**, v.77, p.345-358, 2005.

BALBANI, A.P.S.; BUTUGAN, O. Contaminação biológica de alimentos. **Revista de Pediatria**, v.23, n.4, p.320-8, 2001.

BHATTACHARYYA, N.; SETH, S.; TUDU, B.; TAMULY, P.; JANA, A.; GHOSH, D.; BANDYOPADHYAY, R.; BHUYAND, M.; SABHAPANDIT, S. Detection of optimum fermentation time for black tea manufacturing using electronic nose. **Sensors and Actuators** , v. 122, p. 627-634, 2007.

BRAGA, T.V.; OLIVEIRA, T.T.; PINTO, J.T.; DORES, R.G.R.; NAGEM, T.J; Determinação de massa fresca, massa seca, água e cinzas totais de folhas de

Cissus verticillata (L.) Nicolson & C. E. Jarvis subsp. *verticillata* e avaliação do processo de secagem em estufa com ventilação forçada; **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 28, n.3, p. 287 - 290, 2007.

BRASIL. Regulamento Técnico de Espécies Vegetais para o Preparo de Chás. Resolução de Diretoria Colegiada - RDC nº 267 de 22 de setembro de 2005, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária.(a)

BRASIL. Regulamento Técnico para café, cevada, chá, erva-mate e produtos solúveis. Resolução de Diretoria Colegiada - RDC nº 277, de 22 de setembro de 2005 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. (b)

BRASIL. Inclusão do uso das espécies vegetais e parte(s) de espécies vegetais para o preparo de chás. A Resolução de Diretoria Colegiada - RDC nº 219, de 22 de dezembro de 2006 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, foi editada em complementação as espécies aprovadas pela RDC nº 267, de 22 de setembro de 2005. (c)

BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. **Nutrition**, v.56, n.11, p.317-333, 1988.

BRENELLI, E.C.S. A extração de cafeína em bebidas estimulantes – uma nova abordagem para um experimento clássico em química orgânica. **Química Nova**, v. 26, n. 1, p.136-138, 2003.

BUGNO, A.; BUZZO, A.A.; NAKAMURA, C.T.; PEREIRA, T.C.; MATOS, D.; PINTO, T.J..A. Avaliação da contaminação microbiana em drogas vegetais. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, vol.41, no.4, pp. 491-497, 2005.

BURNS, J.;GARDNER, P. T.;O'NEIL, J.; CRAWFORD, S.;MORECROFT, I.; McPHAIL, Donald B.; LISTER, C.; MATTHEWS, D.; MacLEAN, M. R.; LEAN, M. E. J.;DUTHIE, G.G.; CROZIER, A. Relationship among antioxidant activity, vasodilatation capacity, and phenolics content of red wines. **Journal of Agriculture Food Chemical**, v.48, n.2, p.220-30, 2000.

CABRERA, C., GIMENEZ, R., & LOPEZ, M.C. Determination of tea components with antioxidant activity. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.51, p.4427–4435, 2003.

CALIXTO, J.B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). **Brasilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 33, p.179-189, 2000.

CHOO JJ. Green tea reduces body fat accretion caused by high-fat diet in rats through β -adrenoceptor activation of thermogenesis in brown adipose tissue. **J Nutrition Biochemistry**, v.14, n.11, p.671-76, 2003.

DECKER E. A. Strategies for manipulating the prooxidative/antioxidative balance of food to maximize oxidative stability. **Trends in Food Science & Technology**, v.9 n.6, p.241-248, 1998.

DE MARIA, C.A.B.; MOREIRA, R.F.A. Cafeína: revisão sobre métodos de análise. **Química Nova**, v.30, n. 1, p.99-105, 2007.

DROGE, W. Free radicals in the physiological control of cell function. **Physiology Ver**, v.82, p.47-95, 2002.

DUARTE, M.R.; MENARIM, D.O. Morfodiagnose da anatomia foliar e caulinar de *Camellia sinensis* (L.) Kuntze, Theaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, n.4, p.545-551, 2006.

DUARTE-ALMEIDA, Joaquim Maurício et. al. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema β -caroteno/ácido linoléico e método de seqüestro de radicais DPPH•. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, n.2, p. 446-452, 2006.

DURAN, R. M.; PADILLA, R. B. Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos. **Grasas y Aceites**, Sevilla, v. 44, n. 2, p.101-106, 1993.

FANG, M.Z.; WANG, Y.; AI, N.; HOU, Z.; SUN, Y. LU, H.; WELSH, W.; YANG, C.S. Tea Polyphenol (–)-Epigallocatechin-3-Gallate Inhibits DNA Methyltransferase and Reactivates Methylation-Silenced Genes in Cancer Cell Lines. **Cancer Research**, v.63, p.7563–7570, 2003.

FAO/WHO. World Declaration on Nutrition. International Conference on Nutrition; 1992; Rome, Italy. Available from <http://www.fao.org/waicent/faoinfo/economic/esn/icn/icnconts.htm>

FARHOOSH, R.; GOLMOVAHHED, G.A.; KHODAPARAST, M.H.H. Antioxidant activity of various extracts of old tea leaves and black tea wastes (*Camellia sinensis* L.). **Food Chemistry**, v.100, p.231–236, 2007.

FARMACOPÉIA AMERICANA. USP. 25. Toronto: The United States Pharmacopeial Convention, 2005.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 4.ed. São Paulo: Atheneu, 2000.

FERNÁNDEZ-CÁCERES, PEDRO L.; MARTÍN, MARÍA J.; PABLOS, FERNANDO; GONZÁLEZ, A. GUSTAVO. Differentiation of tea (*Camellia sinensis*) varieties and their geographical origin according to their metal content. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.49, n.10, p.4775-4779, 2001.

FERRARA, L.; MONTESANO, D.; SENATORE, A. The distribution of minerals and flavonoids in the tea plant (*Camellia sinensis*). **IL Farmaco**, v.56, n.5-7, p.397-401, 2001.

FERREIRA, I.C.F.R.; ABREU, R.M.V. Stress Oxidativo, Antioxidantes e Fitoquímicos. **Bioanálise**, v.4, n.2, 2007.

FERREIRA, A.L.A.; MATSUBARA, L.S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v.43, n.1, p.61-68, 1997.

FRANÇA, I.S.C.; SOUZA, J.A.; BAPTISTA, R.S.; BRITTO, V.R.S. Medicina popular: benefícios e malefícios das plantas medicinais. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v.61, n.2, pp. 201-208, 2008.

GOMES, E. C.; ELPO, E.R.S.; NEGRELLE, R.R.B. Armazenagem de chás no setor supermercadista. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.27, n.4, p. 675-680, 2007.

GULATI, A.; GULATI, A.; RAVINDRANATH, S.D.; GUPTA, A.K. Variation in chemical composition and quality of tea (*Camellia sinensis*) with increasing blister blight (*Exobasidium vexans*) severity. **Mycology. Res**, v.103, n.11, p.1380-1384, 1999.

GUOHUA, Z; LIXIN, ; TIANXIANG, R.; LIANSHENG, Z.; JINGIU, G. Geochemical characteristics affecting the cultivation and quality of Longjing Tea. **Journal of Geochemical Exploration**, v.55, n.1-3, p.183-191, 1995.

HALLIWELL, B. Are polyphenols antioxidants or pro-oxidants? What do we learn from cell culture and in vivo studies? **Archives of Biochemistry and Biophysics**. v. 476, p.107–112, 2008.

HIGDON, J.V.; FREI, B. Tea catechins and polyphenols: health effects, metabolism, and antioxidant functions. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. **The Journal of Nutrition**, v.43, n.1, p.89-143, 2003.

HOLLMAN, P.C.H, KATAN MB. Dietary flavonoids: intake, health effects and bioavailability. **Food Chemistry Toxicology**, v.37, p.937-942, 1999.

KARORI, S.M.; WACHIRA, F.N.; WANYOKO, J.K.; NGURE, R. M. Antioxidant capacity of different types of tea products. **African Journal of Biotechnology**, v. 6, n.19, p. 2287-2296, 2007.

KATO, M.; SHIBAMOTO, T. Variation of Major Volatile Constituents in Various Green Teas from Southeast Asia. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.49, n.3, p.1394-1396, 2001.

KING, A; YOUNG, G. Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. **Journal of the American Dietetic Association**, v.50 n.2, p.213-218, 1999.

KONISHI, S. Promotive Effects of Aluminium on Tea Plant Growth. **Japan Agricultural Research Quarterly**, v.26, p26-33, 1992.

KOO, S.I.; NOH, S.K. Green Tea as Inhibitor of the Intestinal Absorption of Lipids: Potential Mechanism for its Lipid-Lowering Effect. **Journal Nutrition Biochemistry**, v.18, n.3, p.179–183, 2007.

KOMES, D.; HORZˆICˆ,D.; BELŠCˆAK, A.; GANICˆ, K.K.; VULIC, I. Green tea preparation and its influence on the content of bioactive compounds. **Food Research International**, v.43, p.167–176, 2010.

LEE, K.W.; KIM,Y.J.;LEE,C.Y. Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 51, n.25, p. 7292-7295, 2003.

LIANG, Y.; LU, J.; ZHANG, L.; WU, S.; WU, Y. Estimation of black tea quality by analysis of chemical composition and colour difference of tea infusions. **Food Chemistry**, v.80, p.283–290, 2003.

LIMA, T.A. Chá e simpatia: Uma estratégia de gênero no Rio de Janeiro oitocentista. **Anais do Museu Paulista**, v.5, p.93-127, 1997.

LIMA, J. D.; MAZZAFERA, P.; MORAES, W.S.; SILVA, R.B. Chá: aspectos relacionados à qualidade e perspectivas. **Ciência Rural**, v.39, n.4, p. 1258-1266, 2009.

LIMA, J.D.; LIMA, A.P.S; BOLFARINI, A.C.B.; SILVA, S.H.M.G. Enraizamento de estacas de *Camellia sinensis* L. em função da época de coleta de ramos, genótipos e ácido indolbutírico. **Ciência Rural**, v.41, n.2, p.230-235, fev, 2011

LIN, JI; DELLA-FERA, M.A.; BAILE, C. A. Green Tea Polyphenol Epigallocatechin Gallate Inhibits Adipogenesis and Induces Apoptosis in 3T3-L1 Adipocytes. **Obesity Research**, v. 13, n.6, p.963-990, 2005.

LORENZI, H; MATOS, F.J.A.2002. Plantas medicinais do Brasil: nativas e exóticas. Nova Odessa: Plantarum.

MACHADO, C.C.B.; BASTOS, D.H.M. Determinação do perfil de compostos voláteis e avaliação do sabor e aroma de bebidas produzidas a partir da erva-mate (*Ilex paraguariensis*). **Química Nova**, v. 30, n. 3, p.513-518, 2007.

MACFARLANE, A.; MACFARLANE, I. The Empire of Tea. **The Overlook Press**: New York, 2004.

MANFREDINI, V.; MARTINS, V. D.; BENFATO, M. S. Chá verde: benefícios para a saúde humana. **Infarma**, Brasília, v.16, n.9-10, p.68-70, 2004.

MATSUBARA, S.; RODRIGUEZ-AMAYA, DELIA B. Teores de catequinas e teaflavinas em chás comercializados no Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, n.2, p. 401-407, 2006a.

MATSUBARA, S.; RODRIGUEZ-AMAYA, DELIA B. Conteúdo de miricetina, quercetina e kaempferol em chás comercializados no Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, n.2, p. 380-385, 2006b.

MIURA, Y.; CHIBA, T.; TOMITA, I.; KOIZUMI, H.; MIURA, S.; UMEGAKI, K.; HARA, Y.; IKEDA, M.; TOMITA, T. Tea catechins prevent the development of atherosclerosis in apoprotein E deficient mice. **Journal of Nutrition**, v. 131, p. 27-32, 2001.

MORAES DE SOUZA, A. R. Potencial antioxidante e composição fenólica de infusões de ervas consumidas no Brasil. 2007. 60p. Mestrado em ciências de alimentos - Concentração em ciência e tecnologia de alimentos. Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba-SP.

MORAIS, S. M.; CAVALCANTI, E.S.B.; COSTA, S.M.O. ; AGUIAR, L.A. Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.19, n.1B, p. 315-320, 2009.

MUKHTAR, H.; AHMAD, N. Tea polyphenols: prevention of cancer and optimizing health. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 71, p.1698-1702, 2000.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography**, v.1054, p. 95-111, 2004.

NAITHANI, V.; NAIR, S.; KAKKAR, P. Decline in antioxidant capacity of Indian herbal teas during storage and its relation to phenolic content. **Food Research International**, v.39, p.176–181, 2006.

NEGRI, M. L. S. Secagem das folhas de espinheira santa – *Maytenus icifolia* sob diferentes temperaturas e influência nos teores de polifenóis, na atividade antioxidante e nos aspectos microbiológicos. 2007. 95p. Dissertação (mestrado) em Ciências Farmacêuticas - Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

NISHIYAMA, M.F.; COSTA, M.A.F; COSTA, A.M.; SOUZA, C.G.M.; BÔER, C.G.; BRACHT, C.K.; PERALTA, R.M. Chá verde brasileiro (*Camellia sinensis* var *assamica*): efeitos do tempo de infusão, acondicionamento da erva e forma de preparo sobre a eficiência de extração dos bioativos e sobre a estabilidade da bebida. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.30(Supl.1), p.191-196, 2010.

OBANDA, M.; OWUOR, P.O. Flavanol composition and caffeine content of green leaf as quality potential indicators of Kenyan black teas. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.74, n.2, p.209-215, 1997.

OLIVEIRA, O.; AKISUE, G.; AKISUE, K.M. **Farmacognosia**, São Paulo: Atheneu, p.19-28, 2005.

OLIVEIRA, A.C.; VALENTIM, I.B.; GOULART, M.O.F. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p.689-702, 2009.

OWENS, W. Collectable Tea Caddies. The tea club magazine, Newsletter. The UK Tea Council, 1995.

OBANDA, M.; OWUOR, P.O.. Flavanol composition and caffeine content of green leaf as quality potential indicators of Kenyan black teas. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.74, n.2, p.209-215, 1997.

OWUOR, P. O.; OBANDA, M.; NYIRENDA, H. E.; MPHANGWE, N.I.K.; WRIGHT, L. P.; APOSTOLIDES, Z. The relationship between some chemical parameters and sensory evaluations for plain black tea (*Camellia sinensis*) produced in Kenya and comparison with similar teas from Malawi and South Africa. **Food Chemistry**, London, v.97, n.4, p.644-653, 2006.

PAGANINI-COSTA, P.; CARVALHODA-SILVA, D. Uma Xícara (chá) de Química. **Revista Virtual Química**, v.3, n.1, p.27-36, 2011.

PANZA, V.S.P. Efeito do consumo de chá verde no estresse oxidativo em praticantes de exercício resistido. 2007. 143p. Dissertação (Mestrado em Nutrição) Programa de Pós-Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina.

PEREIRA, A.V.; ALMEIDA, T.C.; BELTRAME, F.L.; COSTA, M.E.; GARRIDO, L.H. Determinação de compostos fenólicos em amostras comerciais de chás verde e preto - *Camellia sinensis* (L.) Kuntze, Theaceae. **Acta Scientiarum. Health Sciences**, v. 31, n. 2, p. 119-124, 2009.

PEREZ-JIMENEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. Literature data may underestimate the actual antioxidant capacity of cereals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, p.5036–5040, 2005.

PERON, A. P., MARCOS, M. C., CARDOSO, S. C., VICENTINI, V. E. Avaliação do potencial citotóxico dos chás de *Camellia sinensis* L. e *Cassia angustifolia vahl* em sistema teste vegetal. **Arquivos de Ciências e Saúde Unipar**, v. 12, n. 1, p. 51-54, 2008.

PERVA-UZUNALIC, A.; KERGET, M.S.; KNEZ, Z.E.; WEINREICH, B.; OTTO, F.; GRUÑER, S. Extraction of active ingredients from green tea (*Camellia sinensis*): Extraction efficiency of major catechins and caffeine. **Food Chemistry**, v.96, p.597–605, 2006.

PUNYASIRI, P.A.N.; ABEYSINGHE, I.S.B.; KUMAR, V.; TREUTTER, D.; DUY, D.; GOSCH, C.; MARTENS, S.; FORKMANN, G.; FISCHER, T.C. Flavonoid biosynthesis in the tea plant *Camellia sinensis*: properties of enzymes of the prominent epicatechin and catechin pathways. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.431, p.22–30, 2004.

RAMARATHNAM, N.; OSAWA, T.; OCHI, H.; KAWAKISHI, S. The contribution of plant food antioxidants to humans health. **Trends Food Science Nutrition**, v. 6, n.3, p.75-82, 1995.

RAVICHANDRAN ,R. ; PARTHIBAN , R. Changes in enzyme activities (PPO and PAL) with type of tea leaf & during black tea manufacture and the effect of enzyme supplementation of dhool on black tea quality. **Food Chemistry**, v.62, n.3, p. 277–281, 1998.

RAVICHANDRAN, R. Carotenoid composition, distribution and degradation to “flavor” volatiles during black tea manufacture and the effect of carotenoid supplementation on tea quality and aroma. **Food Chemistry**, v. 78, p. 23–28, 2002.

ROBARDS, K; RYAN, D.; LAVEE, S.. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. **Food Chemistry**, v.66, p.401-436, 1999.

ROCHA, L. O.; SOARES, M. M. S. R.; CORRÊA, C. L. Análise da contaminação fúngica em amostras de *Cassia acutifolia* Delile (sene) e *Peumus boldus* (Molina) Lyons (boldo-do-Chile) comercializadas na cidade de Campinas, Brasil. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 40, n.4, p. 522 - 523, 2004.

RUSAK,G.; KOMES, D.; LIKIC´, S.; HORZ´IC´, D.; KOVAC, M. Phenolic content and antioxidative capacity of green and white tea extracts depending on extraction conditions and the solvent used. **Food Chemistry**, v.110. p.852–858, 2008.

SAHOO, N.; MANCHIKANTI, P.; DEY, S. Herbal drugs: Standards and regulation. **Fitoterapia**, p.1-10, 2010.

SCHARBERT, S., HOLZMANN, N., HOFMANN, T. Identification of the astringent taste compounds in black tea infusions by combining instrumental analysis and human bioresponse. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, p.3498–3508, 2004.

SCOTTI, L.; SCOTTI, M.T.; CARDOSO, C.; PAULETTI, P.; CASTRO-GAMBOA, I.; BOLZANI, V.S.; VELASCO, M.V.R.; MENEZES, C.M.S.; FERREIRA, E.I. Modelagem molecular aplicada ao desenvolvimento de moléculas com atividade antioxidante visando ao uso cosmético. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.43, n.2, p.153-166, 2007.

SENGER, A.E.V.; SCHWANKE, C.H.A.; GOTTLIEB , M.G.V.; Chá verde (*Camellia sinensis*) e suas propriedades funcionais nas doenças crônicas não transmissíveis. **Scientia Medica**, v.20, n.4, p.292-300, 2010.

SOARES, Sergio Eduardo. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v.15, n.1, p. 71-81, 2002.

SOUSA, C.M.M.; SILVA, H.R.; VIEIRA-JR., G.M.; AYRES, M.C.C.; COSTA, C.L.S.; ARAÚJO, D.S.; CAVALCANTE, L.C.D.; BARROS, E.D.S.; ARAÚJO, P.B.M.; BRANDÃO, M.S.; CHAVES, M.H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química nova**, v.30, n. 2, p.351-355, 2007.

SHU, W.S.; ZHANG, Z.Q.; LAN, C.Y.; WONG, M.H. Fluoride and aluminium concentrations of tea products from Sichuan Province, PR China. **Chemosphere**, v.52, n.9, p.1475-1482, 2003.

TANAKA, T. & KOUNO, I. Oxidation of tea catechins: chemical structures and reaction mechanism. **Food Science and Technology Research**, v.9, n.2, p.128-133, 2003.

TABART, J.; KEVERS, C.; PINCEMAIL, J.; DEFRAIGNE, J.; DOMMES, J. Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various tests. **Food Chemistry**, v.113, p.1226–1233, 2009.

THOMAS J. Influence of age after pruning on the levels of flavanols and other bioconstituents in tea (*Camellia sinensis*). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.85, n.6, p.931-934, 2005.

TSUKAMOTO, R.Y. Teicultura no Brasil: Agricultura e indústria do chá no Brasil. 1994. Tese de doutorado - Departamento de Geociências, Universidade Estadual de Londrina - Paraná.

VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A.C. e MACIEL, M.A.M. Plantas medicinais: cura segura?. **Química Nova**, v.28, n.3, p. 519-528, 2005.

VITORELLO, V.A.; CAPALDI, F.R. and STEFANUTO, V.A. Recent advances in aluminum toxicity and resistance in higher plants. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v.17, n.1, p. 129-143, 2005.

VULCANO, I.R.C.; SILVEIRA, J.N.; ALVAREZ-LEITE, E.M. Teores de chumbo e cádmio em chás comercializados na região metropolitana de Belo Horizonte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, vol. 44, n. 3, 2008.

WANG, K.; LIU, F.; LIU, Z.; HUANG, J.; XU, Z.; LI, Y.; CHEN, J.; GONG, Y.; YANG, X. Analysis of chemical components in oolong tea in relation to perceived quality. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 45, p.913–920, 2010.

WHO, 1998. World Health Organization. Quality control methods for medicinal plant materials. Geneva, 115 p.

WILLIAM, C.W. Camellias for Texas Gardens. Texas A&M University, College Station, Texas, 2007. Acesso em dezembro 2010. Site: <http://aggie-horticulture.tamu.edu/newsletters/hortupdate /2007/ jan07/CamelliasTxGard.html>

WU, S.C.; GOW-CHIN, Y.; BOR-SEN W.; CHIH-KWANG, C; WEN-JYE Y.; LEE-WEN C.; PIN-DER, D. Antimutagenic and antimicrobial activities of pu-erh tea. **Food Science and Technology**, v.40, n.3, p.506-512, 2007.

ZHU, K.; LIAN,C.; GUO, X.; PENG, W.; ZHOU, H. Antioxidant activities and total phenolic contents of various extracts from defatted wheat germ. **Food Chemistry**, v. 126, p.1122–1126, 2011.

YAO, L.H.; JIANG, Y.M.; CAFFIN, N.; ARCY, B.D.; DATTA, N.; LIU, X.; SINGANUSONG, R.; XU, Y. Phenolic compounds in tea from Australian supermarkets. **Food Chemistry**, v.96, p.614–620, 2006.

CAPÍTULO 2: AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA, MICROSCÓPICA E CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DO CHÁ VERDE.

RESUMO

O chá verde (*Camellia sinensis*) é rico em compostos com propriedades antioxidantes, aos quais são atribuídos os efeitos benéficos à saúde. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade dos chás verde de diferentes marcas comercializados em Salvador-BA. Foram analisadas 25 amostras, quanto à autenticidade do produto, presença de impurezas, atividade de água, teor de umidade, cinzas totais e cinzas insolúveis em ácido clorídrico. As análises físico-químicas permitem avaliar se os produtos alimentícios estão dentro dos padrões estabelecidos pela legislação vigente ou estão sendo fraudados. Além disso, permite avaliar o produto e manter ou melhorar as suas condições, diante de muitos problemas encontrados nas matérias-primas vegetais, tais como excesso de umidade, presença de contaminantes, adulterações etc. Faz-se necessário um controle de qualidade para que a população possa sentir-se segura no consumo destes produtos. A análise da anatomia foliar das amostras permitiu confirmar a identidade vegetal de 24 das 25 marcas avaliadas, através da observação dos principais marcadores anatômicos típicos da espécie (estômatos anomocíticos, tricomas tectores unicelulares e esclereides). No entanto, na pesquisa de sujidades algumas das marcas encontrava-se em desacordo aos padrões de qualidade exigidos pela legislação. Em quatro das marcas foi constatada a presença de materiais estranhos, tais como os psócidos, vestígios de teia de aranha, desenvolvimento de fungos e presença de fragmentos de outra planta diferente da *C.sinensis*. Além disso, duas das marcas avaliadas apresentaram quantidade excessiva de galhos grossos, o que pode ser indício de adulteração do produto, pois o chá verde deve ser composto apenas por folhas e brotos. Dos chás analisados, 28% estavam fora do limite estabelecido para cinzas insolúveis em ácido, um forte indicativo de contaminação por sílica. Quanto ao teor de umidade, todas as amostras estavam de acordo com o limite máximo estabelecido pela legislação, no entanto quanto à atividade de água os valores encontravam-se propícios ao desenvolvimento de microorganismos em dez das marcas avaliadas, sendo que em uma destas já havia presença de fungos. Das 25 marcas avaliadas, 52% (13 marcas) apresentaram-se não conformes de acordo com a legislação brasileira, sendo sete a granel e seis em sachês. Os resultados encontrados confirmam problemas relacionados à qualidade dos chás comercializados em Salvador.

Palavras chave: *Camellia sinensis*, caracterização anatômica, pesquisa de impurezas, atividade de água.

CHAPTER 2: MACROCOSPIC, MICROSCOPICAL EVALUATION OF PHYSICAL AND CHEMICAL CHARACTERISTICS OF THE GREEN TEA.

ABSTRACT

The green tea (*Camellia sinensis*) is rich in compounds with antioxidant properties, which are attributed the beneficial effect to the health. The objective of this work was to evaluate the quality of the teas green of different marks commercialized in Salvador-BA, 25 samples had been analyzed, how much to the authenticity of the product, presence of impurities, water activity, humidity, leached ashes and insoluble leached ashes in hydrochloric acid. The physical and chemical analysis to assess whether food products are within the standards established by law or are being defrauded. Moreover, to evaluate the product and maintain or improve their conditions, before many problems found in raw vegetables, such as moisture excess, contaminants, tampering, etc. It is necessary to verify the quality control so that people can feel safe in the consumption of these products. The analysis of leaf anatomy of the samples confirmed the identity of the plant 25 of 24 evaluated through observation of the main anatomical markers typical of the species (anomocytic stomata, trichomes unicellular and sclereids). However, when searching for some dirt marks were in disagreement with the quality standards required by law. In four of the marks was found the presence of foreign materials such as psócidos, remains of spider webs, mold growth and presence of fragments of another different plant. Moreover, two of the evaluated marks has presented extreme amount of thick twigs, what it can be indication of adulteration of the product, therefore the green tea must be composed only for leaves and sprouts. Of the analyzed teas, 28% were of the limit established for insoluble leached ashes in acid, an indicative fort of contamination for silica. How much to the humidity, all the samples were in accordance with the maximum limit established by the legislation, however the activity of water was in propitious level to the development of microorganisms in ten marks, being that one of them was identified the development of mould in the macroscopic evaluation. Of the 25 evaluated marks, 52% (13 marks) were non-compliant in accordance with Brazilian law, seven and six bulk sachets. The results confirm problems related to the quality of the teas commercialized in Salvador.

Keywords: *Camellia sinensis*, anatomical characterization, water activity.

2.1 INTRODUÇÃO

A demanda por produtos naturais a base de plantas têm aumentado significativamente devido ao crescente interesse por esse tipo de produto. No entanto, no Brasil, as pesquisas para realizar a avaliação da qualidade dos produtos oferecidos ao consumidor, de acordo com a legislação e critérios estabelecidos cientificamente, ainda são escassas (AMARAL et al. 2003; CARVALHO et al. 2004; NASCIMENTO et al. 2005; VULCANO et al., 2008).

A infusão preparada a partir do chá verde (*Camellia sinensis*) é uma das bebidas mais consumidas no mundo (HALLIWEL, 2008; MATSUBARA e RODRIGUEZ-AMAYA, 2006a). Ele é considerado um alimento funcional amplamente utilizado (MUKHTAR e AHMAD, 2000), e tem atraído muita atenção devido às propriedades antioxidantes, conferidas, principalmente, através dos polifenóis (ASOLINI et al., 2006; KARORI et al., 2007; SILVA et al., 2010).

Com o aumento progressivo da produção e consumo dos chás vem crescendo a preocupação em relação à qualidade (ROCHA et al., 2004). Essa realidade também é bastante evidente no Brasil (BUGNO et al., 2005; PERON et al., 2008).

A melhoria da qualidade dos chás pode levar ao crescimento da demanda e ao aumento do valor agregado, embora ainda haja muito a ser aprimorado com relação à qualidade destes produtos (ESMELINDRO et al., 2002).

Para a obtenção de produtos de boa qualidade é indispensável adotar procedimentos de controle de qualidade que envolvam, numa primeira etapa, a identificação da planta através de análises macroscópicas e microscópicas, e a análise do grau de pureza da matéria prima vegetal (CHOI et al., 2002; OLIVEIRA et al., 2005).

A declaração dos constituintes dos chás no rótulo das embalagens, exigido pela legislação, não exclui a possibilidade de adulteração do produto. Além disso, as pesquisas e o controle da comercialização relativa à qualidade de produtos naturais à base de plantas ainda são incipientes no Brasil (BRAGA et al., 2007; BALBINO e DIAS, 2010).

Os resultados obtidos em alguns estudos publicados têm demonstrado grandes distorções entre a qualidade dos produtos analisados e os parâmetros estabelecidos pelas normas vigentes, confirmando desvios de qualidade mesmo em produtos industrializados (CHIMIN et al., 2008).

A avaliação das características da anatomia vegetal contribui com informações que podem subsidiar o controle de qualidade de alimentos de origem vegetal, de grande valia para a garantia da identidade vegetal das plantas comercializadas processadas ou utilizadas *in natura* (DUARTE E MENARIM, 2006; LEITE et al., 2007; SCOPEL et al., 2007).

Na avaliação macroscópica por observação direta (olho nu) sem auxílio de instrumentos ópticos, além da pesquisa de sujidades, é possível realizar a avaliação de alguns aspectos gerais das características macroscópicas do material analisado.

Apesar do mercado para os produtos naturais ser promissor e de demanda crescente, a falta de qualidade, desde a matéria-prima ao produto acabado é um problema freqüente (BUGNO et. al., 2005; VEIGA JUNIOR et al., 2005; FRANÇA et. al., 2008).

Além do teor de umidade, a embalagem, condições adequadas de armazenamento e o processamento industrial, também são importantes para a conservação dos produtos processados e vão influenciar na vida-de-prateleira dos chás e de outros alimentos desidratados os quais tendem a adquirir umidade durante o armazenamento por tempo prolongado, isso passa a ser um critério crítico e muito importante para a avaliação da qualidade dos alimentos industrializados, pois a maioria deles podem degradar em presença de umidade (ASLAN e TOGRUL, 2005).

Além de favorecer a degradação enzimática, a absorção de umidade durante a estocagem pode favorecer o crescimento microbiano, o que evidencia a importante função da embalagem na conservação de alimentos desidratados (PARK et al., 2008; CABRAL-MALHEIROS et al., 2009).

A água é, provavelmente, o fator que mais influi na alteração dos alimentos, afetando sua natureza física e suas propriedades químicas. Nesse sentido, a atividade de água tem sido o parâmetro de preferência por representar melhor a quantidade de água disponível, e pode ser utilizado em conjunto com o

teor de umidade por dessecação para uma melhor avaliação da qualidade e para melhor manutenção da vida de prateleira dos chás (BERTÉ et al., 2006; SANTÓPOULOS et al., 2001). O termo atividade de água (A_w) pode ser definido como a água disponível para o crescimento microbiano e demais reações de natureza química, física e enzimática que deterioram os alimentos (PARK et al., 2008). Entre as temperaturas de 26 a 30°C o valor de atividade de água para produtos desidratados como os chás, deve ser no máximo 0,600, para prevenir a proliferação de microorganismos (BERTÉ et al., 2006).

Através da variação do conteúdo de umidade em função da atividade de água em dada temperatura, são obtidas as isotermas de adsorção, as quais são essenciais na nos estudos e determinação da forma de processamento, tipo de embalagem e predição do tempo de prateleira dos produtos alimentícios (SILVA et al., 2010).

Segundo trabalho realizado por Li et al. (2011) a estabilidade dos bioativos do chá verde, especialmente as catequinas, é importante para a vida de prateleira do produto no sentido de garantir os benefícios à saúde, pois a cinética de degradação da catequinas do chá verde em pó é afetada pela umidade relativa e principalmente pela temperatura durante o tempo de armazenamento.

Uma vez que não há um controle efetivo sobre cultivo, colheita, secagem e envasamento das plantas comercializadas para o preparo de chás o material vegetal pode conter um grande número de fungos e bactérias, provenientes da microflora natural da planta, do solo, do processo de colheita, do processamento e armazenamento, por isso o risco de contaminação é alto, já tendo sido descrito por diversos autores, o que reforça a importância do controle de umidade e atividade de água (MELO et al., 2007).

O material vegetal comercializado para o preparo de infusões é um produto muito higroscópico e a manutenção de sua qualidade alimentar depende em grande parte de seu conteúdo de umidade. Portanto, ao acondicioná-lo para comercialização, é imprescindível providenciar uma barreira eficaz contra a umidade. Associado a isto, o armazenamento com controle de temperatura e umidade adequados para produtos desidratados vai evitar o desenvolvimento de fungos que, potencialmente, possam causar alteração no teor de princípios ativos ou produzir micotoxinas (GOMES et al., 2007).

A maioria das plantas comercializadas *in natura* ou embaladas para o preparo de chás apresenta-se fora do padrão de qualidade e não têm assegurados os teores de bioativos e propriedades aromáticas (GOMES et. al., 2007 ; AQUINO et. al., 2007). Alguns dos fatores que contribuem para esta perda de qualidade é o processamento inadequado da matéria prima expondo-a a contaminação por impurezas, tais como areia, coliformes fecais, dejetos de animais e partes de outras espécies vegetais; a falta do controle de umidade no armazenamento e a exposição ao calor favorecendo a perda de princípios ativos e contaminação por fungos e outros microorganismos, que por sua vez podem causar danos à saúde do consumidor, além de determinar prejuízos econômicos (AQUINO et. al., 2007; GOMES et. al., 2007).

Uma vez que não há um controle efetivo sobre cultivo, colheita, secagem e embalagem das plantas comercializadas para o preparo de chás, o risco de contaminação é alto e tem sido descrito por alguns autores (MELO et al., 2007).

Além disso, a ocorrência de fraudes e a má qualidade dos produtos comercializados têm preocupado profissionais da área de saúde e a comunidade científica (VEIGA JUNIOR et. al., 2005).

No Brasil, a maioria dos chás é comercializado como alimento, dada à maior facilidade de registro. E são submetidos, para fins de inspeção, à Portaria nº 326 do Ministério da Saúde, que norteia a avaliação de um “conjunto de atividades e requisitos para se obter uma correta conservação de matéria-prima, insumos e produtos acabados” (BARA et al., 2006). De acordo com a Resolução de Diretoria Colegiada – RDC nº 277, de 22 de setembro de 2005 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), o chá é definido tanto como produto do processamento de espécies vegetais quanto pela bebida obtida por infusão ou por decocção do referido produto, de alguma planta ou de partes dela (BRASIL, 2005b).

A Resolução de Diretoria Colegiada – RDC nº 267, de 22 de setembro de 2005, aprovou o “Regulamento Técnico de Espécies Vegetais para o Preparo de Chás”, onde se encontram relacionadas 47 Espécies Vegetais para o Preparo de Chás. Além disso, na resolução é reforçada a exclusão das espécies vegetais com finalidade medicamentosa e/ou terapêutica (BRASIL, 2005a). Em

complementação às espécies vegetais aprovadas pela Resolução RDC nº 267, de 22 de setembro de 2005, foi aprovada a Resolução RDC nº 219, de 22 de dezembro de 2006 da ANVISA, na qual foi realizada a inclusão do uso das espécies vegetais e parte(s) de espécies vegetais para o preparo de chás relacionados na RDC nº 267/2005 (BRASIL, 2005c).

A concorrência no mercado de chá tornou a qualidade o parâmetro mais importante para o estabelecimento do preço (RAVICHANDRAN e PARTHIBAN, 1998). Esse cenário resulta na necessidade de aumento de rentabilidade por meio do aumento da qualidade do produto e da manutenção de altos índices de produtividade (OWUOR et al., 2006).

Para garantir a qualidade do chá é fundamental, além de confirmar a identidade vegetal e quantificar na matéria seca do produto o teor de substância ativa, realizar a determinação do teor de umidade, determinação de cinzas, cinzas insolúveis em ácido, pesquisa de material estranho orgânico e inorgânico, como areia, partes de vegetais, insetos e pequenos vertebrados ou produtos oriundos destes (BARA et al., 2006).

A anatomia vegetal contribui com informações que podem subsidiar o controle de qualidade dos produtos vegetais, devido a variedade de nomenclatura e de espécies, torna-se importante a especificação correta e a confirmação da identidade vegetal da amostra (DUARTE e BARDAL, 2002; ALVES et al., 2007).

O primeiro passo para a identificação de uma espécie vegetal pode ser feito pelas suas características morfo-histoanatômicas, macro e microscópicas (DUARTE e MENARIM, 2006).

Na planta *Camellia sinensis* o aspecto foliar macroscópico pode ser descrito sendo composto por folhas simples, alternas, inteiras, com margem serrada e textura coriácea (DUARTE; MENARIM, 2006)

Já para detecção das matérias microscópicas, é necessário o auxílio de instrumentos ópticos como o microscópio óptico.

Os mais relevantes marcadores anatômicos da planta *C.sinensis*, segundo Duarte e Menarim (2006), são tricomas tectores unicelulares de parede espessada e lignificada e estômatos anomocíticos exclusivamente na face abaxial.

Através da morfologia e dos elementos histológicos, observados microscopicamente na amostra e comparados com material da bibliografia especializada, é possível identificar as espécies vegetais presentes no produto (INMETRO, 2009), estas plantas devem constar da lista “Espécies Vegetais para o Preparo de Chás”, estabelecida pela legislação vigente (Resolução ANVISA/MS RDC nº 267/2005 e Resolução ANVISA/MS RDC nº 219/2006).

Pela identificação das espécies vegetais presentes nas amostras pode-se também checar a lista de ingredientes e a designação do produto apresentadas na rotulagem.

A aceitabilidade do produto é diretamente relacionada ao seu aspecto estético, por este motivo a presença de materiais estranhos pode diminuir sua aceitação comprometendo a qualidade do chá.

Além disso, é responsabilidade do setor produtivo garantir, entre outras a qualidade sanitária das matérias-primas e/ou insumos utilizados, os quais devem atender às condições higiênico-sanitárias e às Boas Práticas de Fabricação. Nesse contexto a análise de matérias macroscópicas e microscópicas presentes nos alimentos deve ser baseada em aspectos relacionados ao risco à saúde humana (ANVISA, 2003).

As amostras submetidas à avaliação microscópica devem estar dentro dos limites fixados pela legislação na RDC nº 175, de 08 de julho de 2003, que aprova o Regulamento Técnico de Avaliação de Matérias Macroscópicas e Microscópicas Prejudiciais à Saúde Humana em Alimentos Embalados.

A presença de matéria prejudicial à saúde humana detectada macroscopicamente torna o produto/ lote avaliado impróprio para o consumo humano e dispensa a determinação microscópica (ANVISA, 2003).

Matéria prejudicial à saúde humana é aquela matéria detectada macroscopicamente e/ou microscopicamente, relacionada ao risco à saúde humana e abrange insetos em qualquer fase de desenvolvimento, vivos ou mortos, inteiros ou em partes, reconhecidos como vetores mecânicos; outros animais vivos ou mortos, inteiros ou em partes, reconhecidos como vetores mecânicos; parasitos; excrementos de insetos e ou de outros animais; objetos rígidos, pontiagudos e ou cortantes que podem causar lesões no consumidor.

De acordo com a Association of Official Analytical Chemistry (AOAC), matérias estranhas são conceituadas como qualquer material que não seja inerente ao produto, quer seja associado a condições ou práticas inadequadas de produção, estocagem ou distribuição, incluindo sujidades, contaminantes vegetais (partes de outra planta ou outra parte da própria planta, não indicada na legislação para o preparo de infusões) material decomposto (tecidos podres, devido a causas parasíticas ou não parasíticas) e miscelâneas areia, terra, vidro, ferrugem) ou outras substâncias, exceto as contagens bacterianas (AOAC, 1984).

Segundo Melo et al. (2004), a grande quantidade de impurezas encontrada em diferentes tipos de chás pode ser atribuída a um processo inadequado de separação das partes vegetais de uma limpeza precária na produção dos mesmos.

Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar macro e microscopicamente e determinar o teor de umidade, atividade de água, cinzas totais e cinzas insolúveis em ácido, em 25 amostras de diferentes marcas de chá verde (*Camellia sinensis*) comercializadas em Salvador-BA.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

- **Caracterização das amostras**

Foram utilizadas amostras de 25 diferentes marcas comercializadas em Salvador-Ba. Destas, 14 eram na forma de sachês (folhas divididas em pequenos fragmentos) e 11 eram a granel (folhas em fragmentos maiores ou folhas quase inteiras). Os chás foram selecionados de acordo com a disponibilidade das marcas a serem avaliadas no mercado (farmácias e grandes redes de supermercados).

Para o delineamento da colheita e o preparo das amostras, incluindo a inspeção, o acondicionamento, o transporte e a divisão por quarteamento, utilizaram-se as normas do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 1985) e a legislação brasileira (Brasil, 2001). Esta legislação (RDC no 12/01) prevê a realização de análises de amostras denominadas indicativas, as quais dispensam amostragem

estatística. Dessa forma, colheu-se uma unidade amostral (equivalente a 100 g de produto) para cada lote analisado.

As amostras comerciais foram separadas, distribuídas por quarteamento e, em seguida, submetidas à análise macroscópica e microscópica, pesquisa de elementos estranhos, determinação do teor de umidade, atividade de água, cinzas totais e cinzas insolúveis em ácido.

Tabela 1. Validade e origem das amostras de chá verde a granel.

Amostras (granel)	Validade	Origem
1	6/2012	Brasil/PR
2	12/8/2011	Brasil/PR
3	8/9/2011	Brasil/RS
4	20/8/2011	Brasil/PR
5	4/11/2010	Brasil/RS
6	01/03/2011	Brasil/BA
7	9/8/2011	Brasil/CE
8	2/8/2011	Brasil/BA
9	12/05/2011	Brasil/SP
10	9/2011	Brasil/BA
11	20/9/2011	Brasil/BA

Tabela 2. Validade e origem das amostras de chá verde em sachês.

Amostras (sachês)	Validade	Origem
1	11/2011	Brasil/PR
2	20/12/2010	Brasil/PR
3	17/7/2011	Brasil/RS
4	4/2012	Brasil/SC
5	05/2011	Brasil/SC
6	01/2012	Brasil
7	04/01/2012	Brasil/SC
8	08/2011	Brasil/MG
9	03/07/2011	Brasil/SP
10	-	Brasil/PR
11	21/04/2011	Alemanha
12	07/2011	Brasil/MG
13	11/08/2011	Brasil/PR
14	26/04/2012	Brasil/SE

- **Avaliação macro e microscópica**

Com o objetivo de obter a confirmação da espécie *C.sinensis* nas amostras estudadas, foram avaliadas as características de autenticidade (caracteres macroscópicos, microscópicos) através da comparação com os

parâmetros especificados para a espécie na literatura científica (BEUX, 1997; FONTES e FONTES, 2005; DUARTE E MENARIM, 2006; PEREIRA et al., 2009).

Para o preparo da amostra utilizou-se o quarteamento. Neste a matéria vegetal é distribuída sobre uma área quadrada, dividida em quatro partes iguais, a mesma é distribuída por toda a área de modo homogêneo, rejeitando as porções contidas em dois quadrados opostos em uma das diagonais do quadrado. Juntaram-se as duas porções restantes e repetiu-se o processo, até adquirir quantidade de amostra necessária para proceder a análise.

A caracterização macroscópica das folhas foi realizada nos fragmentos maiores de folhas, antes de realizar a clarificação, à vista desarmada e por meio de observação com o auxílio de microscópio estereoscópico, quando necessário, segundo os parâmetros descritos por Oliveira e Akisue (2000).

Para análise dos caracteres microscópicos, as folhas de cada amostra foram hidratadas e em seguida selecionadas. Foram realizados, à mão livre com auxílio de uma lâmina cortante fina, cortes paradérmicos nas lâminas foliares dos fragmentos maiores. Os cortes paradérmicos e os fragmentos das folhas a granel e dos sachês, foram clarificados com hipoclorito de sódio (2%) até ficarem transparentes (BEUX, 1997; FONTES e FONTES, 2005; DUARTE e MENARIM, 2006; DONATO e MORRETES, 2007).

Após a clarificação, o material foliar foi levado à recipiente com água destilada, sendo posteriormente colocado sobre uma lâmina e coberto por uma lamínula. As lâminas foram visualizadas, fotografadas no microscópio e comparadas buscando identificar os principais marcadores para a morfodiagnose foliar dessa espécie.

Na análise de material estranho presente na amostra foram avaliados 10g de cada marca. Todo o conteúdo das amostras foi separado das impurezas pelo método de catação (quando possível) e posteriormente pesado, determinando-se a porcentagem de impurezas.

- **Atividade de água**

A atividade de água é um teste realizado principalmente em alimentos como um parâmetro da qualidade e serve para indicar a quantidade de água livre na amostra.

A determinação da atividade de água foi realizada conforme as especificações do fabricante, em triplicata, a 25°C, por medida direta.

Foi utilizado o aparelho Aqualab Modelo CX-2, que mede a atividade de água pela técnica do ponto de orvalho. Conforme ocorre a formação do orvalho e evaporação, o equipamento faz a leitura da temperatura e o cálculo da atividade de água em período determinado de tempo. Quando a diferença da atividade de água entre duas medidas for menor que 0,001 o instrumento dispõe a leitura no visor e aciona um sinal de ponto final de análise. Não é necessário calibrar o equipamento, porém testam-se a linearidade com solução salina padrão e água destilada. Para a água destilada a atividade deve ser de $1,000 \pm 0,003$. Caso o valor seja superior ou inferior ao especificado deve-se limpar o espelho e repetir a medida.

- **Umidade**

A determinação do teor de umidade foi realizada por gravimetria segundo a metodologia de perda por dessecação (umidade) (Número 012/IV) – Por secagem direta em estufa a 105°C, do Instituto Adolfo Lutz (2004).

- **Cinzas totais**

A determinação do resíduo por incineração (cinzas) foi realizado de acordo com a metodologia 018/IV, do Instituto Adolfo Lutz (2004).

- **Cinzas insolúveis em ácido clorídrico a 10% v/v**

As cinzas insolúveis em ácido foram determinadas segundo metodologia número 024/IV do Instituto Adolfo Lutz (2004).

2.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram processados pela análise de variância (ANOVA) por delineamento estatístico inteiramente casualizado. Diferenças significativas entre as medias foram determinadas pelo teste de Tukey ao nível de $p < 0,05$.

2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A identificação e a pureza da matéria prima vegetal assim como a avaliação de alguns aspectos de qualidade, tais como a determinação do teor umidade, atividade de água, determinação de cinzas e cinzas insolúveis em ácido, são tarefas indispensáveis para obter produtos de boa qualidade. (OLIVEIRA et al., 2005).

Na morfodiagnose dos fragmentos encontrados nos sachês e das amostras a granel da planta *C.sinensis*, em todas as amostras foram observadas, características macroscópicas e microscópicas descritas na literatura.

Foram observados vários estômatos anomocíticos inseridos no mesmo nível das células circunvizinhas na face abaxial (Figura 1) e muitos pelos tectores simples (unicelulares) e longos, de paredes espessadas, com ápice agudo e circundados na base por células epidérmicas em roseta (Figura 2).

Nas amostras dos sachês, devido ao pequeno tamanho dos fragmentos das folhas, não foram observados pêlos tectores na superfície dos fragmentos foliares, mas estavam presentes as pequenas cavidades (cicatrices dos tricomas) circundadas por células epidérmicas em roseta (Figura 1) nas quais se fixam os pêlos tectores.

Vale ressaltar que as cicatrizes de tricomas encontradas na superfície adaxial glabra desta espécie são indicativas de que haviam tricomas ali em alguma fase da vida deste vegetal (PEREIRA et al., 2009).

Os caracteres da epiderme foliar encontrados nas amostras de chá verde analisadas neste trabalho são concordantes com a descrição de vários autores (DUARTE & MENARIM, 2006; PEREIRA et al., 2009).

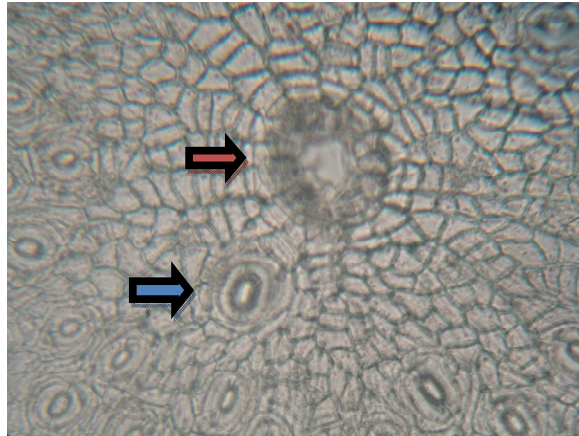


Figura 1. Superfície abaxial: detalhe da cicatriz deixada por um tricoma (seta vermelha), presença de estômatos anomocíticos inseridos no mesmo nível das células epidérmicas (seta azul).

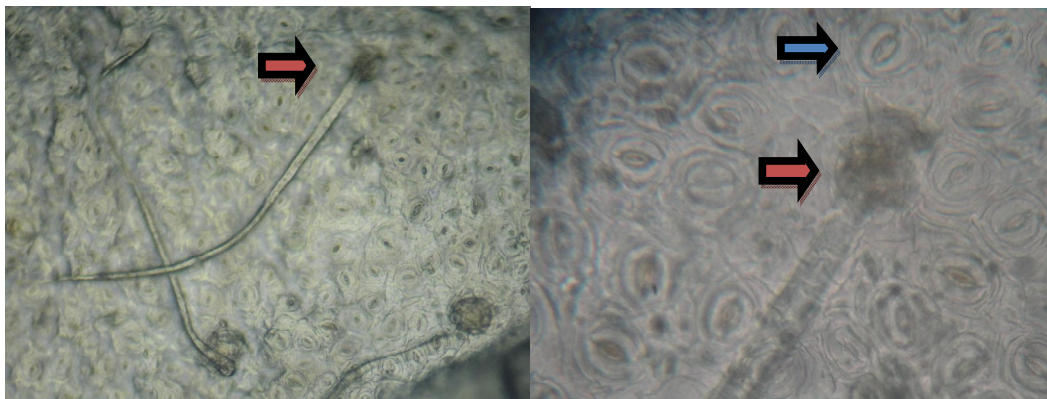


Figura 2. Superfície abaxial: presença de tricomas unicelulares longos, fixados à epiderme e circundados por células epidérmicas em roseta (seta vermelha); presença de vários estômatos anomocíticos (seta azul).

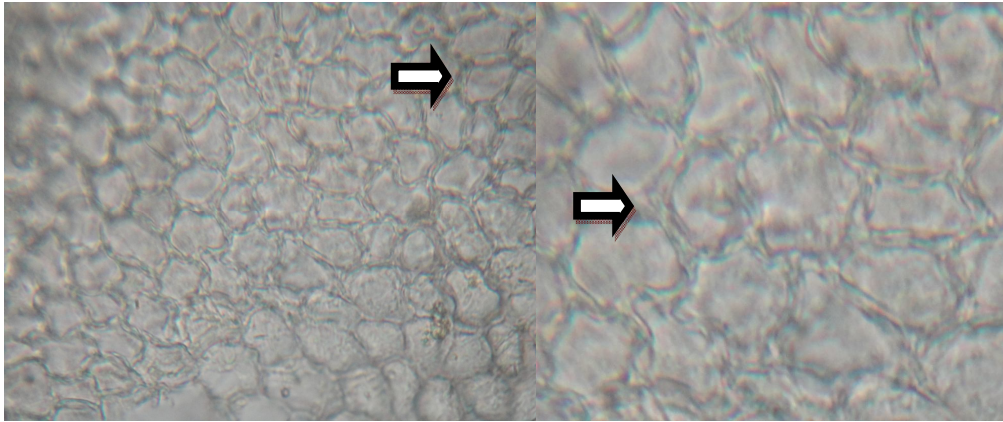


Figura 3. Face adaxial e campos primários de pontuação (seta branca).

Na pesquisa relativa à pesquisa de sujidades ou matéria estranha foram observadas irregularidades em algumas amostras. Na marca em sachês de número 12, foram encontradas duas unidades, ainda vivos, de *Liposcelis* spp (psócidos) (Figura 4), insetos que estão presentes, geralmente, em matéria orgânica em processo de decomposição. Embora os psócidos e alguns insetos não sejam considerados vetores mecânicos prejudiciais à saúde humana, são indicadores de práticas inadequadas em alguma etapa da produção (colheita, armazenamento e/ou processamento) e revela falta de higiene na conservação do chá além de indicar processo de deterioração da matéria prima vegetal (INMETRO, 2009).

Os psócidos podem sobreviver sem alimentação cerca de 26 a 51 dias e alimentam-se de uma grande variedade de produtos de origem vegetal e animal. São encontrados em grãos, farinhas, produtos moídos, papel, ninhos de aves, paredes dos armazéns e moinhos e, principalmente em produtos com elevado conteúdo de umidade ou em processo de deterioração. Sua dieta pode ainda, incluir micélios de fungos, carcaças de insetos mortos e ovos de coleópteros e lepidópteros presentes nos produtos armazenados. Sua presença geralmente indica deficiências nas condições de armazenamento, danos causados por outros insetos, excesso de umidade, desenvolvimento de fungos e/ou elevado conteúdo de impurezas. Quando sua população aumenta consideravelmente, podem cobrir as paredes dos armazéns, silos, depósitos, etc., sendo que os produtos estocados adquirem um odor desagradável (TURNER e ALI, 1993; LIN, et al., 2004; OGAWA, 2008; YOSHIKAWA e LIENHARD, 2010).



Figura 4. *Liposcelis* spp (psócido).

Outras irregularidades encontradas foram a presença de fragmentos de teia de aranha na amostra a granel de número 11 e galhos grossos da própria planta em quantidade acima dos 10% permitidos pela legislação, identificados nas amostras a granel de números 10 e 11. De acordo com a ANVISA, o chá verde é constituído por folhas e brotos da planta *C.sinensis*, dessa forma a presença de galhos grossos pode ser considerada uma contaminação ou adulteração para este tipo de produto.

Na amostra a granel de número 4, foram encontrados fragmentos histológicos de outra planta identificados já na avaliação macroscópica.

A amostra de número 14, apesar do teor de umidade abaixo de 12%, apresentou atividade de água acima de 0,600, mesmo com os sachês embalados individualmente em material plástico e ainda dentro do prazo de validade, apresentou intenso desenvolvimento de fungos, o que foi identificado na avaliação macroscópica pois o material vegetal estava com aparência esbranquiçada e formando agregados. Isso indica que a atividade de água torna-se mais relevante que o teor de umidade para a manutenção da estabilidade dos chás, associado a isso se dá grande importância às boas práticas agrícolas e de fabricação, pois em outras marcas com medida de atividade de água similares não foi observado o desenvolvimento de fungos. Este problema pode estar relacionado tanto à contaminação por falta de atenção ao Regulamento Técnico sobre as Condições Higiénico-Sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação, quanto ao armazenamento inadequado ou à embalagem do produto final com valor de

atividade de água propício ao desenvolvimento fungico. Este tipo de desvio de qualidade merece atenção, pois pode causar prejuízos à saúde dos consumidores, principalmente se considerarmos que determinados tipos de fungos podem produzir micotoxinas, especialmente aflatoxinas, que são altamente deletérias.

Os índices superiores ao permitido, com relação às sujidades nos produtos avaliados, se devem possivelmente ao manejo, limpeza e separação inadequada (AMARAL et al., 2003). A presença desses elementos estranhos nos produtos analisados prejudica a qualidade da matéria-prima e compromete a confiabilidade do consumidor em relação a esses produtos.

O limite da vida-de-prateleira de produtos desidratados pode ser estabelecido em função do teor de umidade. O uso de um material de embalagem com baixa taxa de permeabilidade ao vapor d'água mantém o nível de umidade aceitável e conseqüentemente não modifica significativamente o valor de atividade de água (BERTÉ et al., 2006).

Avaliando a atividade de água das amostras de chá verde analisadas, observa-se que seis amostras apresentaram valor acima de 0,60, já estando susceptível ao desenvolvimento de fungos e outros microorganismos.

Quanto ao teor de umidade, de acordo com as normas na Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) o teor máximo de umidade permitido para o chá verde é de 12%. Nas amostras de chá verde a granel, a umidade variou de 4,42 a 10,66% e nos sachês foram de 7,89 e 11,29%. Conforme pode ser observado nas Tabelas 3 e 4, todas as amostras avaliadas encontravam-se dentro do limite de percentual de umidade permitido pela ANVISA, que permite um teor máximo de 12%.

Os percentuais de água encontrados nos vegetais não seriam suficientes para promover a propagação e desenvolvimento de microrganismos (o que ocorreria somente com índice de umidade acima de 12%) ou acarretar a ação de enzimas (presentes em quantidades acima de 20% de água), ocasionando possível degradação dos constituintes químicos das amostras (BELTRAME et al., 2009). Além disso, levando em consideração o ensaio de atividade de água, de acordo com outros resultados disponíveis na literatura científica, apenas uma das

25 amostras estaria fora do limite seguro de atividade de água para este tipo de produto.

Tabela 3. Percentual de umidade e atividade de água em amostras de chá verde a granel.

Marcas	Teor de umidade (%) m/m ± desvio padrão	Atividade de água ± desvio padrão
1	8.48 ^{cd} ± 0,21	0.608 ^d ± 0,0005
2	8.03 ^d ± 0,09	0.575 ^e ± 0,002
3	9.37 ^b ± 0,28	0.650 ^a ± 0,002
4	10.30 ^a ± 0,32	0.641 ^b ± 0,001
5	10.66 ^a ± 0,19	0.643 ^b ± 0,0005
6	9.17 ^{bc} ± 0,1	0.466 ^g ± 0,002
7	7.99 ^d ± 0,37	0.507 ^f ± 0,0005
8	7.05 ^e ± 0,65	0.465 ^g ± 0,001
9	4.42 ^f ± 0,04	0.376 ^h ± 0,0005
10	9.10 ^{bc} ± 0,13	0.638 ^b ± 0,006
11	10.48 ^a ± 0,03	0.616 ^c ± 0,001

*Médias seguidas pela mesma letra, numa mesma coluna, não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

Tabela 4. Percentual de umidade e atividade de água em amostras de chá verde em sachês.

Amostras	Umidade m/m ± desvio padrão	Atividade de água ± desvio padrão
1	11.29 ^a ± 0,11	0.451 ⁿ ± 0,003
2	10.31 ^{abc} ± 0,44	0.573 ^h ± 0,002
3	9.70 ^{cde} ± 0,35	0.554 ^j ± 0,003
4	11.44 ^a ± 0,16	0.585 ^g ± 0,001
5	7.89 ^g ± 1,13	0.647 ^c ± 0,001
6	8.99 ^{defg} ± 0,05	0.417 ^o ± 0,003
7	11.26 ^a ± 0,11	0.638 ^d ± 0,006
8	10.95 ^{ab} ± 0,04	0.531 ^l ± 0,002
9	11.19 ^{ab} ± 0,37	0.687 ^a ± 0,001
10	10.09 ^{bcd} ± 0,11	0.562 ⁱ ± 0,001
11	10.85 ^{ab} ± 0,42	0.627 ^e ± 0,0005
12	9.25 ^{cdef} ± 0,19	0.597 ^f ± 0,001
13	8.39 ^{fg} ± 0,5	0.484 ^m ± 0,001
14	8.88 ^{efg} ± 0,49	0.666 ^b ± 0,002

*Médias seguidas pela mesma letra, numa mesma coluna, não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

O teor de cinzas totais acima do estabelecido como parâmetro para uma determinada matéria-prima vegetal indica presença de impurezas inorgânicas não-voláteis que podem estar presentes como contaminantes (SIMÕES, 2004).

Avaliando o teor de cinzas totais, apenas a amostra a granel número 2 (Tabela 6.) está em desacordo com o limite de 8% estabelecido pela ANVISA.

No entanto, ao analisar os resultados relativos ao teor de cinzas insolúveis em ácido, observa-se que 3 das amostras a granel (Tabelas 5.) e 4 amostras em sachês (Tabelas 6.), estão fora do limite de 1,5% estabelecido na legislação.

A determinação de cinzas insolúveis em ácido clorídrico destina-se à detecção de sílica e constituintes silicosos, que em quantidade acima da estabelecida para a matéria-prima vegetal influencia negativamente na qualidade do chá (FARMACOPÉIA BRASILEIRA IV, 1988; SIMÕES, 2004).

Tabela 5. Cinzas totais e cinzas insolúveis em ácido em amostras de chá verde a granel.

Marcas	Cinzas totais (%) m/m ± desvio padrão	Cinzas insolúveis em ácido (%) m/m ± desvio padrão
1	6.22 ^{cd} ± 1,76	0.52 ^{ef} ± 0,02
2	9.78 ^a ± 0,004	0.63 ^{def} ± 0,18
3	5.37 ^d ± 0,01	1.16 ^c ± 0,03
4	6.14 ^{cd} ± 0,06	0.66 ^{de} ± 0,0001
5	5.56 ^d ± 0,02	0.36 ^f ± 0,13
6	7.83 ^b ± 0,31	1.98 ^b ± 0,29
7	7.19 ^{bc} ± 0,27	1.98 ^b ± 0,14
8	6.09 ^{cd} ± 0,01	2.32 ^a ± 0,01
9	5.45 ^d ± 0,08	0.86 ^d ± 0,04
10	5.86 ^d ± 0,02	0.60 ^{def} ± 0,14
11	5.95 ^d ± 0,1	0.87 ^d ± 0,07

*Médias seguidas pela mesma letra, numa mesma coluna, não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

Tabela 6. Cinzas totais e cinzas insolúveis em ácido em chá verde em sachês.

Marcas	Cinzas totais (%) m/m ± desvio padrão	Cinzas insolúveis em ácido (%) m/m ± desvio padrão
1	5.05 ^g ± 0,02	0.66 ^{de} ± 0,07
2	5.26 ^g ± 0,1	0.68 ^{de} ± 0,05
3	6.24 ^{cd} ± 0,26	0.71 ^{de} ± 0,14
4	5.67 ^f ± 0,01	0.86 ^d ± 0,14
5	6.43 ^c ± 0,1	0.30 ^f ± 0,12
6	5.21 ^g ± 0,09	0.51 ^e ± 0,09
7	5.56 ^f ± 0,09	0.61 ^e ± 0,08
8	5.26 ^g ± 0,03	1.63 ^{ab} ± 0,0001
9	5.28 ^g ± 0,14	0.52 ^e ± 0,16
10	6.91 ^b ± 0,29	1.54 ^b ± 0,02
11	7.24 ^a ± 0,13	1.76 ^a ± 0,1
12	5.95 ^e ± 0,04	1.21 ^c ± 0,02
13	5.99 ^{de} ± 0,16	1.75 ^a ± 0,06
14	6.11 ^{de} ± 0,08	1.49 ^b ± 0,3

*Médias seguidas pela mesma letra, numa mesma coluna, não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

Na avaliação macroscópica e microscópica, três marcas a granel e duas de sachês apresentaram-se não conformes (Tabela 7.).

Tabela 7. Resultado das análises macroscópicas e microscópicas nas marcas de chá verde.

Marca	Observações	Resultado
4G	Identificados fragmentos histológicos de outra planta na avaliação macroscópica. Não atende às Resoluções ANVISA/MS RDC nº 267/2005 e nº 219/2006, quanto a identidade do produto, por conter espécie vegetal não prevista para o preparo do chá verde, o qual deve ser composto exclusivamente pela <i>C. sinensis</i> , conforme indicado no rótulo do produto.	Não conforme
10G	Presença de galhos grossos em quantidade acima de 10% levando em consideração peso seco da matéria vegetal. Denota contaminação, pois o chá verde deve ser produzido apenas a partir de folhas e brotos da <i>C sinensis</i> .	Não conforme
11G	Presença de fragmentos de teia de aranha e galhos grossos em quantidade acima de 10% levando em consideração peso seco da matéria vegetal. Denota contaminação, pois o chá verde deve ser produzido apenas a partir de folhas e brotos da <i>C sinensis</i> . Além disso os fragmentos de teia de aranha indicam falta de cuidados na conservação do produto durante a produção e/ou embalagem.	Não conforme
12S	A presença de 2 psócidos vivos (<i>Liposcelis</i> spp.) é indicativo de condições inadequadas de armazenamento e conservação de matérias-primas ou do produto, incompatível com as boas práticas de fabricação.	Não conforme
14S	Presença de fungos, tornando a matéria vegetal com aspecto esbranquiçado e formando aglomerados.	Não conforme
Resultados: Das 25 marcas analisadas, 5 foram consideradas não conformes.		

*Marca a granel (G) e marca em sachês (S).

Na avaliação físico-química, das 25 marcas analisadas, 8 foram consideradas não conformes, de acordo com a legislação Brasileira (Tabela 8.) No entanto, levando em consideração a atividade de água (Aw), como critério de qualidade relevante para a manutenção da estabilidade do produto, 18 marcas estariam não conformes pois 10 das marcas avaliadas apresentaram valor de Aw acima de 0,600. Diante disso, para melhorar a estabilidade da matéria vegetal dos chás, seria interessante que fosse incluída na legislação brasileira, como parâmetro de avaliação da qualidade dos chás, a análise de atividade de água.

Em estudo realizado por Calixto et al. (2000), os autores chegaram a conclusão que é necessária uma legislação mais detalhada e padronização dos métodos de avaliação da qualidade com intenção de obter matéria prima vegetal com estabilidade e qualidade uniforme, evitando erros de identificação, adulteração e contaminação das ervas a serem comercializadas. Além disso, segundo Sahoo et al. (2010) a regulamentação e os métodos utilizados para a realização do controle de qualidade de plantas para o preparo de infusões não é uniforme entre os países, e por isso se faz necessária uma padronização urgentemente.

Tabela 8. Resultado das análises físico-químicas nas marcas de chá verde.

Marcas	Observações				Resultado
	Umidade	Atividade de água	Cinzas totais	Cinzas insolúveis em ácido	
1G	C	NC	C	C	Conforme
2G	C	C	NC	C	Não conforme
3G	C	NC	C	C	Conforme
4G	C	NC	C	C	Conforme
5G	C	NC	C	C	Conforme
6G	C	C	C	NC	Não conforme
7G	C	C	C	NC	Não conforme
8G	C	C	C	NC	Não conforme
10G	C	NC	C	C	Conforme
11G	C	NC	C	C	Conforme
5S	C	NC	C	C	Conforme
7S	C	NC	C	C	Conforme
8S	C	C	C	NC	Não conforme
9S	C	NC	C	C	Conforme
10S	C	C	C	NC	Não conforme
11S	C	NC	C	NC	Não conforme
13S	C	C	C	NC	Não conforme
14S	C	NC	C	C	Conforme

*Marca a granel (G) e marca em sachês (S).

**Não conforme (NC); Conforme (C).

Das 11 marcas a granel analisadas, sete foram consideradas não conformes de acordo com a legislação Brasileira (Tabela 9.). No entanto, levando em consideração a atividade de água, como critério de qualidade relevante, 10 amostras seriam consideradas não conformes.

Tabela 9. Resultado geral das análises macroscópicas, microscópicas e físico-químicas nas marcas de chá verde a granel.

Marca	Análise Macroscópica e microscópica	Análise físico-química	Resultado geral
1	Conforme	Conforme	Conforme
2	Conforme	Não conforme	Não conforme
3	Conforme	Conforme	Conforme
4	Não conforme	Conforme	Não conforme
5	Conforme	Conforme	Conforme
6	Conforme	Não conforme	Não conforme
7	Conforme	Não conforme	Não conforme
8	Conforme	Não conforme	Não conforme
9	Conforme	Conforme	Conforme
10	Não conforme	Conforme	Não conforme
11	Não conforme	Conforme	Não conforme

Das 14 marcas em sachês analisadas, 6 foram consideradas não conformes de acordo com a legislação Brasileira (Tabela 10.). Mas levando em consideração a atividade de água (A_w) como critério de qualidade, 9 amostras seriam consideradas não conformes.

Tabela 10. Resultado geral das análises macroscópicas, microscópicas e físico-químicas nas marcas de chá verde em sachês.

Marca	Análise Macroscópica e microscópica	Análise físico-química	Resultado geral
1	Conforme	Conforme	Conforme
2	Conforme	Conforme	Conforme
3	Conforme	Conforme	Conforme
4	Conforme	Conforme	Conforme
5	Conforme	Conforme	Conforme
6	Conforme	Conforme	Conforme
7	Conforme	Conforme	Conforme
8	Conforme	Não conforme	Não conforme
9	Conforme	Conforme	Conforme
10	Conforme	Não conforme	Não conforme
11	Conforme	Não conforme	Não conforme
12	Não conforme	Conforme	Não conforme
13	Conforme	Não conforme	Não conforme
14	Não conforme	Conforme	Não conforme

De forma geral, as 25 marcas avaliadas 52% (13 marcas) apresentaram-se não conformes de acordo com a legislação brasileira, sendo sete a granel e seis em sachês.

Estes resultados concordam com os obtidos em outros estudos nos quais foram realizadas avaliações da qualidade de chás, e concluíram que a maioria das plantas comercializadas in natura ou embaladas para o preparo de chás apresentam-se fora do padrão de qualidade e não têm assegurados os teores de bioativos e propriedades aromáticas (AQUINO et. al., 2007; GOMES et. al., 2007).

2.5 CONCLUSÕES

Neste estudo, foi confirmada a identidade vegetal (*Camellia sinensis*) em 24 das 25 marcas avaliadas. No entanto, na avaliação macroscópica, algumas marcas encontravam-se em desacordo aos padrões de qualidade exigidos pela legislação. Em quatro das marcas foi constatada a presença de materiais estranhos, tais como os psócidos, vestígios de teia de aranha, desenvolvimento de fungos e presença de fragmentos de outra planta diferente da *C.sinensis*. Além disso, duas das marcas avaliadas apresentaram quantidade excessiva de galhos grossos, o que pode ser indício de adulteração do produto, pois o chá verde deve ser composto apenas por folhas e brotos.

Dos chás analisados, 28% estavam acima do limite estabelecido para cinzas insolúveis em ácido, um forte indicativo de contaminação por areia. As irregularidades observadas nas amostras avaliadas são, provavelmente, decorrentes de falhas no processo de produção e de ausência de controle de qualidade. Quanto ao teor de umidade, todas as amostras estavam de acordo com os limites estabelecido pela legislação. No entanto, embora não estabelecido o controle de atividade de água na avaliação da qualidade dos chás alimentícios pela legislação, dez marcas apresentaram amostras com nível de atividade de água que poderia favorecer o desenvolvimento de fungos no produto comercializado, inclusive em uma destas marcas foi identificada a presença de fungos na avaliação macroscópica. Das 25 marcas avaliadas 52% (13 marcas) apresentaram-se não conformes de acordo com a legislação brasileira, sendo sete a granel e seis em sachês. Os resultados encontrados confirmam problemas relacionados à qualidade dos chás comercializados em Salvador.

REFERÊNCIAS

AMARAL, F.M.M.; COUTINHO, D.F.; RIBEIRO, M.N.S.; OLIVEIRA, M.A. Avaliação da qualidade de drogas vegetais comercializadas em São Luiz. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.13, n.1, p.27-30, 2003.

ARSLAN, N.; TOGRUL, H. Modelling of water sorption isotherms of macaroni stored in a chamber under controlled humidity and thermodynamic approach. **Journal of Food Engineering**, v. 69, n. 02, p. 133-145, 2005.

ASOLINI, F. C.; TEDESCO, A.M.; CARPES, S.T.; FERRAZ, C.; ALENCAR, S. M.A. Antioxidante e Antibacteriana dos Compostos Fenólicos dos Extratos de Plantas Usadas como chás. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 9, n. 3, p. 209-215, 2006.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY. Extraneous materials. **Official methods of analysis**, Washington, 14ed. , p.1141, 1984.

AQUINO, S. Avaliação da microbiota fúngica e da presença de micotoxinas em amostras de plantas medicinais irradiadas adquiridas no comércio varejista e atacadista. 2007. 115p. Tese (Doutorado em Tecnologia Nuclear), Instituto de pesquisas energéticas e nucleares(IPEN) – Autarquia associada à Universidade de São Paulo, São Paulo-SP.

BALBINO, E.E.; DIAS, M.F. Farmacovigilância: um passo em direção ao uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.20, n.6, p.992-1000, 2010.

BARA, M.T.F.; RIBEIRO P.A.M.; ARANTES, M.C.B.; AMORIM, L.L.S.; PAULA, J.R. DE. Determinação do teor de princípios ativos em matérias-primas vegetais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, n.2, p.211 – 215, 2006.

BEUX, M.R. Atlas de microscopia alimentar: identificação de elementos histológicos vegetais. São Paulo, Livraria Varela, p.79.

BELTRAME, F.L.; FERRONI, D.C.; ALVES, B.R.V.; PEREIRA, A.V.; ESMERINO, L.A. Avaliação da qualidade das amostras comerciais de *Baccharis trimera* L. (Carqueja) vendidas no Estado do Paraná. **Acta Scientiarum Health Sciences**, v. 31, n. 1, p. 37-43, 2009.

BERTÉ, K.A.S.; FREITAS, R.J.S.; RUCKER, N.G.A.; RAPACCI, M. Vida-De-Prateleira: Microbiologia da Erva-Mate Chimarrão. **Acta Farmacêutica Bonaerense**, v.25, n.1, p.95-98, 2006.

BRAGA, T.V.; OLIVEIRA, T.T.; PINTO, J.T.; DORES, R.G.R.; NAGEM, T.J; Determinação de massa fresca, massa seca, água e cinzas totais de folhas de *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & C. E. Jarvis subsp. verticillata e avaliação do processo de secagem em estufa com ventilação forçada; **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 28, n.3, p. 287 - 290, 2007.

BRASIL. Regulamento Técnico de Espécies Vegetais para o Preparo de Chás. Resolução de Diretoria Colegiada - RDC nº 267 de 22 de setembro de 2005, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária.(a)

BRASIL. Regulamento Técnico para café, cevada, chá, erva-mate e produtos solúveis. Resolução de Diretoria Colegiada - RDC nº 277, de 22 de setembro de 2005 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. (b)

BRASIL. Inclusão do uso das espécies vegetais e parte(s) de espécies vegetais para o preparo de chás. A Resolução de Diretoria Colegiada - RDC nº 219, de 22 de dezembro de 2006 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, foi editada em complementação as espécies aprovadas pela RDC nº 267, de 22 de setembro de 2005. (c)

BUGNO, A.; BUZZO, A.A.; NAKAMURA, C.T.; PEREIRA, T.C.; MATOS, D.; PINTO, T.J..A. Avaliação da contaminação microbiana em drogas vegetais. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.41, n.4, p. 491-497, 2005.

CABRAL-MALHEIROS, G.; HECKTHEUER, L.H.R.; CANTO, M.W.; BALSAMO, G.M. O tempo e o tipo de embalagem sobre a erva-mate tipo chimarrão durante armazenagem em condições ambientais. **Ciência Rural**, p.1-7, 2009.

CARVALHO, A.C.B.; FERNANDEZ, M.G.; SANTOS, E.J.V.; MELO, A.F.M.; MEDEIROS, I.A. & DINIZ, M.F.F.M. Avaliação legal da propaganda e publicidade de medicamentos fitoterápicos anunciados na Paraíba (Brasil). **Acta Farmacêutica Bonaerense**, v.23, n.3, p.413-417, 2004.

CHIMIN, A.; LIMA, E.L.; BELTRAME, F.L.; PEREIRA, A.V.; ESMERINO, L.A. Avaliação da Qualidade de Amostras Comerciais de *Maytenus ilicifolia* (espinheira-santa) Comercializadas no Estado do Paraná. **Latin American Journal of Pharmacy**, v.27, n.4, p.591-597, 2008.

CHOI, D.W.; KIM, J.H.; CHO, SO Y.; KIM, D.H.; CHANG, S.Y. Regulation and quality control of herbal drugs in Korea. **Toxicology**, v.181-182, n.1, p. 581-586, 2002.

CHRISTENSEN, C.M.; KAUFMANN, H.H. MICROFLORA. IN: CHRISTENSEN, C. M. Storage of cereal grain and their products. **American Association of Cereal Chemists**, p.158-192, 1974.

DONATO,A.M.; MORRETES, B.L. Anatomia foliar de *Eugenia brasiliensis* Lam. (Myrtaceae) proveniente de áreas de restinga e de floresta. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.17, n.3, p.426-443, 2007.

DUARTE, M.R; BARDAL, D. Qualidade de amostras de fármacos vegetais Comercializados em Curitiba – PR. *Visão Acadêmica*. v.3, n.2, p.65-68, 2002.

DUARTE, M.R.; MENARIM, D.O. Morfodiagnose da anatomia foliar e caulinar de *Camellia sinensis* (L.) Kuntze, Theaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, n.4, p.545-551, 2006.

ESMELINDRO, M.C.; TONIAZZO, G. WACZUK, A.; DARIVA, C.; OLIVEIRA, D. Caracterização físico-química da erva-mate: Influência das etapas do processamento industrial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.22, n.2, p.193-204, 2002.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 1998.

FRANÇA, I.S.C.; SOUZA, J.A.; BAPTISTA, R.S.; BRITTO, V.R.S. Medicina popular: benefícios e malefícios das plantas medicinais. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v.61, n.2, p. 201-208, 2008.

FONTES, E.A.F.; FONTES, P.R. Microscopia de alimentos: fundamentos teóricos. Universidade Federal de Viçosa, 151 páginas, 2005.

GOMES, E.C.; ELPO, E.R.S.; NEGRELLE, R.R.B. Armazenagem de chás no setor supermercadista. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, V.27, n.4, p. 675-680, 2007.

HALLIWELL, B. Are polyphenols antioxidants or pro-oxidants? What do we learn from cell culture and in vivo studies? **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 476, p.107–112, 2008.

INMETRO. Programa de análise de produtos: relatório sobre análise em chás. p.1-20. 2009.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. v. 1: Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos. 4.ed. São Paulo, 2004. 1032p.

KARORI, S. M.; WACHIRA, F. N.; WANYOKO, J. K.; NGURE, R. M. Antioxidant capacity of different types of tea products. **African Journal of Biotechnology**, v. 6, n.19, p. 2287-2296, 2007.

LI, N; TAYLOR, L.S.; MAUER, L.J. Cinética de degradação de catequinas em pó de chá verde: efeitos da temperatura e umidade relativa. **J. Agricultural Food Chemistry**, v.59, n.11, p.6082-6090, 2011.

LIMA, V.L.A.G.; MÉLO, E.A. Teor de Compostos Fenólicos Totais em Chás Brasileiros. **Journal Brazilian of Food Technology**, v.7, n.2, p.187-190, 2004.

LEITE, S.N.; BIAVATTI, M.W. Avaliação da qualidade de chás medicinais e aromáticos comercializados em Itajaí-SC. **Revista brasileira de Farmacognosia**, v. 5, n. 2, p. 143-232, 1996.

LEITE J.P.V.; PIMENTA D.S.; GOMES R.S.D.L.; DANTAS-BARROS, A.M. Contribuição ao estudo farmacobotânico da *Echinodorus macrophyllus* (Kunth) Micheli (chapéude-couro) - Alismataceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.17, p. 242-248, 2007.

LIN, Y.C; CHAN, M.L; KO, C.W; HSIEH, M.Y. Nail infestation by *Liposcelis bostrychophila* Badonnel. **Clinical and Experimental Dermatology**, v.29, n.6, p.620-621, 2004.

MATSUBARA, S.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Teores de catequinas e teaflavinas em chás comercializados no Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, n.2, p. 401-407, 2006a.

MELO, J.G.; MARTINS, J.D.G.R.; AMORIM, E.L.C.; ALBUQUERQUE, U.P. Qualidade de produtos a base de plantas medicinais comercializados no Brasil: castanha-da-índia (*Aesculus hippocastanum* L.), capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf) e centela (*Centella asiatica* (L.) Urban). **Acta Botânica Brasileira**, v.21, n.1, p.27-36, 2007.

MUKHTAR, H.; AHMAD, N. Tea polyphenols: prevention of cancer and optimizing health. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 71, p.1698-1702, 2000.

NASCIMENTO, V.T.; LACERDA, E.U.; MELO, J.G.; LIMA, C.S.A.; AMORIM, E.L.C.; ALBUQUERQUE, U.P. Controle de qualidade de produtos à base de plantas medicinais comercializados na cidade do Recife-PE: erva-doce (*Pimpinella anisum* L.), quebra-pedra (*Phyllanthus* spp.), espinheira santa (*Maytenus ilicifolia* Mart.) e camomila (*Matricaria recutita* L.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.7, n.3, p.56-64, 2005.

OGAWA, G.M. Artrópodes em ninhos de *Columbia lívia* Gmelin, 1789 (Aves, Columbidae) em área urbana de Manaus, Amazonas, Brasil. **Entomo Brasilis**, v.1, n.3, p.69-72, 2008.

OLIVEIRA, F.; AKISUE, G. Fundamentos da farmacobotânica. 2.ed. São Paulo: Atheneu, p.178, 2000.

OLIVEIRA, O.; AKISUE, G.; AKISUE, K.M. **Farmacognosia**, São Paulo: Atheneu. p.19-28, 2005.

OWUOR, P. O.; OBANDA, M.; NYIRENDA, H. E.; MPHANGWE, N.I.K.; WRIGHT, L. P.; APOSTOLIDES, Z. The relationship between some chemical parameters and sensory evaluations for plain black tea (*Camellia sinensis*) produced in Kenya and comparison with similar teas from Malawi and South Africa. **Food Chemistry**, London, v.97, n.4, p.644-653, 2006.

PARK, K.J.B.; PARK, K.J.; CORNEJO, F.E.P.; DAL FABRO, I.M. Considerações termodinâmicas das isotermas. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.10, n.1, p.83-94, 2008.

PEREIRA, A.V.; ALMEIDA, T.C.; BELTRAME, F.L.; COSTA, M.E.; GARRIDO, L.H. Determinação de compostos fenólicos em amostras comerciais de chás verde e preto - *Camellia sinensis* (L.) Kuntze, Theaceae. **Acta Scientiarum. Health Sciences**, v. 31, n. 2, p. 119-124, 2009.

PERON, A.P.; MARCOS, M.C.; CARDOSO, S.C.; VICENTINI, V.E.P. Avaliação do potencial citotóxico dos chás de *Camellia sinensis* L. e *Cassia angustifolia vahl* em sistema teste vegetal. **Arquivos de Ciências e Saúde Unipar**, v. 12, n. 1, p. 51-54, 2008.

RAVICHANDRAN, R.; PARTHIBAN, R. Changes in enzyme activities (PPO and PAL) with type of tea leaf & during black tea manufacture and the effect of enzyme supplementation of dhool on black tea quality. **Food Chemistry**, v.62, n.3, p. 277-281, 1998.

ROCHA, L. O.; SOARES, M. M. S. R.; CORRÊA, C. L. Análise da contaminação fúngica em amostras de *Cassia acutifolia* Delile (sene) e *Peumus boldus* (Molina) Lyons (boldo-do-Chile) comercializadas na cidade de Campinas, **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 40, n.4, p. 522 - 523, 2004.

SCOPEL M, NUNES E, VIGNOLI-SILVA M, VENDRUSCOLO GS, HENRIQUES AT, MENTZ. LA. Caracterização farmacobotânica das espécies de *Sambucus* (Caprifoliaceae) utilizadas como medicinais no Brasil. Parte I. *Sambucus nigra* L. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.17, p.249-261, 2007.

SILVA, A.S. ALMEIDA, F.A.C.; ALVES, N.M.C.; MELO, K.S.; GOMES, J.P. Característica higroscópica e termodinâmica do coentro desidratado. **Revista Ciência Agronômica**, v. 41, n. 2, p. 237-244, 2010

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. Santa Catarina. Editora da UFSC, p. 199 – 222, 2001, 2004.

TURNER, B; ALI, N. Population variability in a domestic stored product pest, the parthenogenetic psocid *Liposcelis bostrychophila*: implications for control. **Life Sciences**, Proceedings of the First International Conference on Urban Pests. King's College, London, 1993.

VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A.C. e MACIEL, M.A.M. Plantas medicinais: cura segura?. **Química Nova**, v.28, n.3, p. 519-528, 2005.

VULCANO, I.R.C.; SILVEIRA, J.N.; ALVAREZ-LEITE, E.M. Teores de chumbo e cádmio em chás comercializados na região metropolitana de Belo Horizonte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 3, 2008.

YOSHIZAWA, K.; LIENHARD, C. In search of the sister group of the true lice: A systematic review of booklice and their relatives, with an updated checklist of Liposcelididae (Insecta: Psocodea). **Arthropod Systematics e Phylogeny**, v.68, n.2, p.181-195, 2010.

CAPÍTULO 3: POLIFENÓIS TOTAIS, FLAVONÓIDES E CORRELAÇÃO COM A ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM DIFERENTES MARCAS DE CHÁ VERDE

RESUMO

Os chás estão incluídos entre as bebidas mais consumidas no mundo. São fontes significativas de compostos com propriedades antioxidantes. Os benefícios de saúde atribuídos ao chá verde têm levado a um grande aumento na comercialização desses produtos no mercado. Dentre as diversas formas de apresentação destes, o chá verde e o chá preto são os mais populares. Neste trabalho, objetivou-se avaliar os teores de fenólicos totais e flavonóides e a correlação desses bioativos com a atividade antioxidante *in vitro* pelos métodos da atividade captadora do radical livre (1,1-difenil-2-picrilhidrazina) (DPPH) e de inibição da oxidação pelo sistema modelo β -caroteno/ácido linoléico (BCAL) em amostras de 25 diferentes marcas disponíveis à venda em farmácias e supermercado de Salvador-Ba, incluindo produtos na forma de sachês e folhas a granel. Os resultados obtidos mostraram diferenças significativas na concentração dos compostos fenólicos entre as marcas de chá verde estudadas nas formas à granel e sachê. No estudo, também ficou comprovado que, no preparo do chá verde, as amostras obtidas por infusão aquosa com agitação mecânica apresentaram maiores teores de flavonóides em relação aquelas que não foram submetidas à agitação. Os percentuais de inibição da oxidação variaram significativamente entre as amostras, mas apresentaram significativa correlação com os teores de polifenóis e flavonóides. No método de oxidação acoplada do β -caroteno/ácido linoléico (BCAL), a variação na atividade antioxidante foi de 54,87 a 92%, utilizando o BHT como controle. A maioria das amostras a granel e todas as amostras em sachês avaliadas neste estudo, apresentaram percentuais de inibição da oxidação em termos de captação do radical livre (DPPH) mais elevados quando comparados aos resultados da literatura científica. Das diferentes marcas avaliadas, apenas duas apresentaram atividade antioxidante inferior a média deste estudo.

Palavras chave: *Camellia sinensis*, bioativos, antioxidante, infusão, qualidade.

CHAPTER 3 TOTAL PHENOLS, FLAVONOIDS AND CORRELATION WITH ANTIOXIDANT ACTIVITY IN DIFFERENT MARKS OF GREEN TEA

ABSTRACT

The teas are included among the most widely consumed beverages in the world. Are significant sources of compounds with antioxidant properties. The health benefits attributed to green tea have led to a great increase in the commercialization of these products in the market. Amongst the diverse forms of presentation of these, the green tea and the black tea are most popular. This study aimed to evaluate the levels of total phenolics and flavonoids and the correlation of these bioativos with the antioxidant activity in vitro for the methods of the free radical activity sensor (1,1-diphenyl-2-picrilhidrazina) (DPPH) and of inhibition of the oxidation for the system model β -carotene/ linoleic acid (BCAL) in samples of 25 different available marks for sale in pharmacies and supermarket of Salvador-BA, including products in the sachets form and sheets in bulk. The gotten results had in bulk shown significant differences in the concentration of phenolics composites between the marks of green tea studied in in bulk form and sachet. In the study, was also shown that, in the preparation of green tea, the samples obtained by mechanical agitation with aqueous infusion showed higher levels of flavonoids compared those who were not subjected to agitation. The percentage of oxidation inhibition varied significantly between samples, but showed significant correlation with the levels of polyphenols and flavonoids. In the method of oxidation connected of β -carotene/linoleic acid (BCAL), the variation in the antioxidant activity was of 54,87 to 92%, using the BHT as control. The majority of the samples in bulk and all the samples in sachets evaluated in this study, had more presented percentages of oxidation inhibition in terms of the free radical capitation (DPPH) raised when compared with the results of scientific literature. Of the different marks evaluated, only two showed an antioxidant activity low than the average for this study.

keywords: *Camellia sinensis*, bioactive, antioxidant, infusion, quality.

3.1 INTRODUÇÃO

A sociedade atual tem buscado na natureza hábitos mais saudáveis de vida. Essa tendência tem levado ao aumento progressivo da produção e utilização dos produtos naturais e conseqüentemente, maior preocupação em relação à qualidade destes produtos (ROCHA et. al.,2004; LIMA et al., 2009; VUONG et al.,2011). Dentre estes se destacam os chás, uma das bebidas mais consumidas no mundo. (ASOLINI et al., 2006).

Nos últimos anos houve um grande crescimento na produção e comercialização dos produtos à base de chá verde (*C.sinensis*), principalmente devido aos benefícios de saúde atribuídos aos componentes bioativos, com capacidade antioxidante, disponíveis neste produto (KODAMA et al., 2010).

Infusões de ervas com significativa atividade antioxidante, apresentam potencial de utilização tanto na conservação da qualidade de alimentos, como na preservação da saúde humana, quando presentes regularmente na dieta. Tal fato dá importância e justifica o fato de que, vários estudos *in vitro* vêm apresentando o objetivo de avaliar o teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante em diferentes tipos de chás (KARORI, et al., 2007; FARHOOSH, et al.,2007; KOMES, et al., 2010; ZHU, et al., 2011).

Os benefícios associados ao consumo de chá têm sido atribuídos a poderosa capacidade antioxidante proporcionada pelas elevadas concentrações de compostos fenólicos e flavonóides (RUSAK et al., 2008). Estes compostos com marcante capacidade de captar radicais livres estão associados à menor incidência de doenças relacionadas ao estresse oxidativo, que ocorre quando há limitação na disponibilidade de antioxidantes e por conseqüência podem ocorrer lesões oxidativas de caráter cumulativo pela ação dos radicais livres. Os antioxidantes são capazes de estabilizar ou desativar os radicais livres antes que ataquem os alvos biológicos nas células (DROGE, 2002; ATOUI et al., 2005).

De acordo com Saito et al., 2007, o chá verde brasileiro apresenta teor de compostos fenólicos consideravelmente maior quando comparado com chás comercializados em outros países.

As dietas ricas em compostos antioxidantes naturais são epidemiologicamente associadas à redução do risco de desenvolvimento de

algumas doenças relacionadas à idade nos seres humanos (AZAM et al., 2004; JIAN et al., 2004; HALLIWELL, 2008; FUKINO et al., 2008; PERON et. al., 2008; SENGER et al., 2010; WANG et al., 2010).

Apresentando marcante atividade antioxidante, a planta *C.sinensis*, pertencente à família *Theaceae*, é conhecida popularmente por chá verde (MATSUBARA e RODRIGUEZ-AMAYA, 2006b; CHEN et al., 2010).

Estes fatores aliados ao interesse crescente relativo aos benefícios do chá verde (*C.sinensis*) conduziram à inclusão do mesmo no grupo de bebidas com propriedades funcionais (ANESINI, 2008).

O chá verde apresenta coloração caracteristicamente verde devido à inativação da polifenol oxidase por meio do tratamento das folhas frescas por calor (KOO e NOH, 2007).

Para obtenção do chá, são utilizadas as folhas e os brotos da planta (PERON et. al, 2008). Os chás produzidos a partir da planta *C.sinensis* são classificados em três categorias conforme o processo de fabricação: fermentado (preto), o semi-fermentado (oolong) e não-fermentado (verde) (SOARES et. al., 2002; TANAKA e KOUNO, 2003; MATSUBARA e RODRIGUEZ-AMAYA, 2006a). (repetido?)

Além dos polifenóis a *C.sinensis* apresenta elevados níveis de flavonóides. Segundo Punyasiri et al. (2004) a presença de altas quantidades da enzima antocianidina redutase responsável por catalisar etapas chaves na produção das catequinas pode explicar os significativos teores de flavonóides encontrados nesta planta.

Os radicais livres ou espécies reativas do oxigênio (ERO) são substâncias altamente reativas, por apresentarem um elétron desemparelhado na última camada eletrônica, e tendem a reagir rapidamente com substratos oxidáveis (FERREIRA e MATSUBARA et al. 1997).

As ERO são formadas por reações de óxido-redução, após cederem ou receberem um elétron de outras moléculas instáveis e são consequência direta do metabolismo do oxigênio e da exposição da célula a xenobióticos (micotoxinas, radiação ionizante, pesticidas, etc.), que provocam a redução incompleta do oxigênio. (DROGE, 2002). Além disso, os radicais livres oxigenados podem ser convertidos a outras espécies reativas não radicais, como peróxido de hidrogênio,

ácido hipoclorídrico e peroxinitrito (FERREIRA e ABREU, 2007), assim as ERO podem ser espécies radicais e não radicais (FANG et al., 2003).

Já os antioxidantes podem ser definidos como substâncias capazes de retardar ou inibir a oxidação de substratos oxidáveis, podendo ser enzimáticos ou não enzimáticos, tais como o α -tocoferol (vitamina E), β -caroteno, ácido ascórbico (vitamina C) e os compostos fenólicos (flavonóides e outros fenóis) (ASOLINI et al., 2006; SOUSA et al., 2007).

A eficiência antioxidante de compostos bioativos em alimentos de origem vegetal depende de sua estrutura e da sua concentração no alimento. Por sua vez, a quantidade destas substâncias em vegetais é amplamente influenciada por fatores genéticos e condições ambientais, além do grau de maturação e variedade da planta, entre outros aspectos (OLIVEIRA et al, 2009).

A composição química dos chás pode variar quanto à espécie, idade das folhas, estação, clima (umidade, temperatura, latitude) e condições de cultivo (solo, água, minerais, fertilizantes, entre outros) (USUNALIC et al. 2005; PERVA-OWUOR et al., 2006; SCOTTI et al., 2007; JAYASEKERA et al., 2011). Essas diferenças na matéria-prima refletem no sabor, cor e, possivelmente, nos teores de flavonóides (MATSUBARA e RODRIGUEZ-AMAYA, 2006a). Estes últimos são alguns dos principais componentes químicos antioxidantes da *C.sinensis*, sendo estes potentes quelantes de metais e inibidores da lipoperoxidação (PERON et. al., 2008).

Independente do objetivo seja para a conservação dos alimentos ou para a avaliação dos efeitos sobre a saúde, vários estudos têm utilizado diferentes metodologias e tipos de solventes (muitas vezes orgânicos) na extração dos bioativos com potenciais atividades antioxidantes, o que dificulta a realização de comparações dos resultados obtidos, devido a falta de padronização. Nesse sentido alguns trabalhos demonstraram a grande importância de se analisar a atividade antioxidante e a composição fenólica na forma como o chá é consumido (ATOUI, et al., 2005; MORAES DE SOUZA, 2007).

Segundo Braga et al. (2007), para a maioria das plantas comercializadas na forma de chá não existem parâmetros de avaliação de qualidade, embora sejam amplamente comercializadas em mercados, feiras

livres, farmácias e ervanárias brasileiras. Por este pressuposto torna-se prioritário a criação de padrões mínimos de qualidade organolépticos, físico-químicos, microbiológicos e de bioativos que venham atender ao mercado consumidor brasileiro.

A composição química do chá verde pode variar em função de vários fatores, e em geral, os consumidores preferem um chá com baixo amargor, dependendo do país e do segmento do consumidor (LEE et al., 2010).

A qualidade do chá verde é fortemente influenciada pelos componentes orgânicos e inorgânicos das folhas e dos brotos, os quais são alterados durante a sua transformação (aquecimento) em substâncias que determinam o sabor (LIMA et al., 2009). Além disso, a cor, o sabor e o aroma do chá verde estão diretamente associados à quantidade de polifenóis presentes que são os principais compostos que definem sua qualidade (SOARES et. al., 2002; MACHADO et al., 2007; SCOTTI et al., 2007; FRIEDMAN et al., 2009; LIMA et al.,2009;).

Durante um período de armazenamento por 15 meses, foi avaliada e constatada uma perda considerável da atividade antioxidante em alguns tipos de chás (NAITHANI et al., 2006).

Apesar do mercado para os produtos naturais ser promissor e de demanda crescente, a falta de qualidade, desde a matéria-prima ao produto acabado é um problema freqüente, e alguns produtos podem chegar ao consumidor com baixos teores de bioativos (BUGNO et. al., 2005; VEIGA JUNIOR et al., 2005; FRANÇA et. al., 2008).

Assim como o teor de polifenóis, as informações baseadas em outros parâmetros químicos relacionados a atividade biológica são considerados indicadores complementares da qualidade do chá verde (ANESINI, 2008). Nesse sentido, a avaliação da atividade antioxidante vem sendo utilizada, em muitos estudos, como um indicador complementar da qualidade do chá verde.

No entanto, apesar de alguns trabalhos indicarem a presença de antioxidantes em chás, a metodologia utilizada em vários estudos os extratos são obtidos por solventes orgânicos das folhas secas. Ainda há poucos relatos, no Brasil, sobre os compostos fenólicos e atividade antioxidante em infusões de ervas (AQUINO, 2007; MORAIS et. al.,2009).

De acordo com Perva-Uzunalic et al. (2006), a combinação mais eficiente para extração dos compostos fenólicos em ervas é uma temperatura inicial de infusão de 95 a 100°C e tempo de 5 a 10 minutos. Ainda de acordo com Lima et al.(2004) a maior quantidade de fenólicos obtida do chá preto (*C.sinensis*) ocorre no tempo de infusão de 10 minutos.

Vários trabalhos utilizam agitação mecânica durante o preparo dos extratos, porém, em todas as embalagens dos chás utilizados neste trabalho não há recomendação para agitação, a orientação exibida nas embalagens refere-se à infusão de forma estática durante 3 a 10 minutos ou até adquirir a coloração e sabor característicos do chá, mas para efeito de comparação com outros trabalhos publicados, foram analisados neste trabalho extratos aquosos preparados através de infusão pelo período de 10 minutos com e sem agitação.

Tendo em vista que um dos principais atrativos no consumo do chá verde é seu potencial de atividade antioxidante o qual é desempenhado principalmente pelos polifenóis, e estes últimos são um indicativo da qualidade desta matéria prima vegetal, pois as diferenças na quantidade de fenólicos podem acarretar uma grande variação nos efeitos esperados para estes produtos, este estudo teve por finalidade determinar o teor de polifenóis totais e flavonóides, em infusões preparadas a partir de amostras de diferentes marcas comercializadas em farmácias e supermercados de Salvador-BA

Tendo em vista que um dos principais atrativos no consumo do chá verde é seu potencial de atividade antioxidante, neste trabalho foi avaliada a atividade antioxidante em termos da capacidade de seqüestro de radicais livres pelos métodos da atividade captadora do radical livre (1,1-difenil-2-picrilhidrazina) (DPPH) e de inibição da oxidação pelo sistema modelo β -caroteno/ácido linoléico, em infusões de 25 diferentes marcas de chá verde para complementar a avaliação da qualidade do chá verde comercializado em Salvador-BA.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

- **Amostras**

Amostras de 14 diferentes marcas de chá verde (*C.sinensis* (L.) Kuntze) em sachês (saquinhos embalados individualmente e em caixas) e 11 marcas a granel (folhas soltas em pacotes para fracionamento posterior) disponíveis no comércio foram adquiridas no período de 2009 a 2010 em farmácias e supermercados da cidade de Salvador-BA.

Embora haja predominância da indicação da infusão por 3 minutos nas embalagens dos chás analisados, neste trabalho foi padronizado para 10 minutos, por ser o tempo no qual ocorre a melhor extração dos bioativos.

A proporção de erva/água, bem como o tempo de infusão e temperatura da água foram estabelecidos baseados nas melhores condições de extração de bioativos, segundo estudos realizados por outros autores e ensaios preliminares para confirmação (RAMIREZ-MARES et al., 2004).

Todos os extratos foram preparados na forma de infusão aquosa e analisados no mesmo dia.

- **Avaliação do teor de polifenóis e flavonóides totais**

Foram preparadas infusões sem agitação e submetidas à agitação por 30 segundos em homogeneizador tipo vórtex, utilizando 10mL de água, após a mesma atingir a temperatura de ebulição, adicionado 0,1g das folhas do chá e deixados em infusão por 10 minutos (RAMIREZ-MARES et al., 2004).

- **Determinação de polifenóis totais**

A quantificação dos compostos fenólicos totais foi realizada, em triplicata, através do método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu, utilizando o epicatequina como padrão de referência. Em tubo de ensaio adicionou-se sequencialmente, 0,1mL da amostra e 2,5mL do reagente do Folin a 10%, após reagir por 3 minutos, 2mL de carbonato de sódio 7,5%, após tampar e

homogeneizar os tubos foram levados ao banho Maria a 50°C por 5 minutos seguido por banho de gelo por 2 minutos e realizada a leitura em espectrofotômetro a 760nm. Álcool etílico PA foi utilizado como branco.

Os resultados foram expressos em miligrama (mg) de epicatequina equivalentes a quantidade em grama (g) de peso seco da planta (mg Ecat/g) (SINGLETON et al., 1965).

- **Determinação de flavonóides totais**

Para determinação do teor de flavonóides totais, foi utilizado um balão volumétrico de 10mL, no qual foi adicionado seqüencialmente 4mL de água destilada, 1mL da amostra, 0,3mL de nitrito de sódio 5%, após 5 minutos adicionou-se 0,3mL do cloreto de alumínio a 10%, após 1 minuto adicionaram-se 2mL de hidróxido de sódio 1M. Completou-se o volume do balão com água destilada e homogeneizou-se manualmente. A absorbância foi medida a 510nm (LEE et al., 2003).

- **Avaliação da atividade antioxidante**

- **Preparo das infusões**

Foram preparadas infusões submetidas à agitação por 30 segundos em homogeneizador tipo vórtex, utilizando 10mL de água, após a mesma atingir a temperatura de ebulição, adicionado 0,1g das folhas do chá e deixados em infusão por 10 minutos (Ramirez-Mares et al., 2004).

- **Métodos**

Devido à diversidade de métodos, não existe um procedimento metodológico universal para avaliar a capacidade antioxidante, principalmente, em decorrência da grande diversidade química existente entre os compostos antioxidantes (OLIVEIRA et al., 2009).

Os variados métodos podem gerar resultados muito diferentes, este fato impõe a necessidade de avaliar a capacidade antioxidante por diferentes

ensaios, com fundamentos e mecanismos de ação diferentes (ROBARDS, 2003;TARBAT et al. 2009).

As análises foram realizadas em triplicata, utilizando BHT como padrão de referência. Foram utilizados dois métodos espectrofotométricos, as leituras foram feitas em espectrofotômetro UV/VIS Lambda20 Perkin Elmer Norwalk CT 06859, na determinação da atividade antioxidante: o método da atividade captadora do radical livre DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazina) e o método de determinação da atividade antioxidante pela oxidação acoplada do β -caroteno/ácido linoléico.

- o **Método da atividade captadora do radical livre DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazina)**

Foi utilizada a metodologia descrita por Brand-Williams et al. (1995), a qual baseia-se na variação da absorbância obtida por uma perda estequiométrica da cor da solução do radical na presença de substâncias antioxidantes presentes na amostra do extrato.

Este é um dos métodos mais usados para verificar a capacidade antioxidante e consiste em avaliar a atividade sequestradora do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH•), de coloração púrpura, que absorve em um comprimento de onda de 517 nm. Por ação de um antioxidante o DPPH• é reduzido formando 2,2-difenilpicril-hidrazina (DPPH-H) (Figura 3), de coloração amarela, com conseqüente desaparecimento da banda de absorção, sendo a mesma monitorada pelo decréscimo da absorbância. A partir dos resultados obtidos, determina-se a porcentagem de atividade antioxidante (quantidade de DPPH• consumida pelo antioxidante) ou sequestradora de radicais e/ou a porcentagem de DPPH• remanescente no meio reacional. O mecanismo de reação é baseado em transferência de elétrons, enquanto a abstração de átomo de hidrogênio é uma reação marginal, pois a mesma acontece lentamente em solventes que estabelecem fortes ligações de hidrogênio. O método é influenciado pelo solvente e pelo pH das reações. O método é considerado fácil e útil para análise de substâncias puras e amostras complexas.

Foi utilizado como padrão (controle positivo), BHT a 200ppm.

A solução de DPPH utilizada foi preparada utilizando a proporção de 0,004g de DPPH/100mL de álcool etílico PA.

O decaimento da absorvância das amostras (Aam) correlacionado ao decaimento da absorvância do controle (Ac) resulta na porcentagem de seqüestro de radicais livres (% SRL), que pode ser expressa através da Equação1 :

$$\% \text{ SRL} = \frac{Ac - Aam}{Ac} \times 100$$

(Equação 1)

o **Método de determinação da atividade antioxidante pela oxidação acoplada do β -caroteno/ácido linoléico**

Este método foi originalmente descrito por Marco (1968) e posteriormente modificado por Miller (1971), determina a capacidade de uma amostra ou composto de proteger um substrato lipídico da oxidação. O método está fundamentado em medidas espectrofotométricas da descoloração (oxidação) do β -caroteno (DUARTE-ALMEIDA et. al., 2006).

Para o preparo de mistura reativa foram dissolvidos 5mg de β -caroteno em 5mL de clorofórmio, adicionados a um erlenmeyer contendo previamente 20 mg de ácido linoléico e 200 mg Tween 40. Após a secagem completa do clorofórmio sob nitrogênio, adicionaram-se 50 mL de água previamente saturada com oxigênio durante 30 minutos e agitou-se vigorosamente para a formação da emulsão. A mistura reativa deve estar límpida e apresentar absorvância entre 0,6 e 0,7 em 470 nm.

Para a reação de oxidação, em tubos de ensaio, foram adicionados 5mL da emulsão preparada e 0,5mL do extrato ou padrão (controle positivo) de BHT a 200ppm. Os tubos foram colocados em banho maria a 50°C. As leituras das absorvâncias foram realizadas, no início e com intervalos de 15 minutos durante 120 minutos. Água destilada foi utilizada como branco para calibrar o espectrofotômetro.

Quanto maior a atividade antioxidante da substância teste maior será a manutenção da cor característica do β -caroteno, pela menor degradação do mesmo.

Os resultados foram expressos como porcentagem de inibição da

oxidação, que foi calculada em relação ao decaimento da absorbância do controle (Ac), e deve ser menor que 0,2 para ser considerado que houve 100% de oxidação, após 120 min de reação. Eventualmente, se a absorbância não for menor que 0,2, deve-se aumentar a concentração do ácido linoléico (agente oxidante), aumentando-se também proporcionalmente a concentração do Tween 40 (agente emulsificante). A queda da absorbância das amostras (Aam) foi correlacionada com a queda do controle, obtendo-se a porcentagem da inibição da oxidação (% I) através da Equação 2 (DUARTE-ALMEIDA et al., 2006):

$$Ac = Abs_{\text{inicial}} - Abs_{\text{final}}$$

$$Aam = Abs_{\text{inicial}} - Abs_{\text{final}}$$

$$\% I = \frac{Ac - Aam}{Ac} \times 100$$

(Equação 2)

- **Peso médio**

Para as amostras em sachês, foi realizada a determinação da massa individual de 5 sachês de cada marca para a determinação do peso médio e cálculo do teor real de polifenóis totais e flavonóides de acordo com a proporção de erva seca e água indicada na embalagem.

Para permitir a comparação do teor real de polifenóis e flavonóides entre as marcas analisadas, foi realizado um cálculo de correção levando em consideração o peso médio do conteúdo efetivo dos sachês (quantidade do produto realmente contida na embalagem do produto pré-medido) e a proporção de erva seca/200mL de água.

3.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram processados pela análise de variância (ANOVA) por delineamento estatístico inteiramente casualizado. Diferenças significativas entre as medias foram determinadas pelo teste de Tukey ao nível de $p < 0,05$.

3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Uma das questões fundamentais para a área de alimentos é a relação entre a qualidade percebida pelo consumidor e a qualidade química apresentada na avaliação dos parâmetros essenciais relacionados à atividade biológica esperada dos alimentos classificados como funcionais.

Esta abordagem impacta diretamente na indústria, através da definição de índices que se relacionam com a qualidade e, portanto, com o valor agregado do produto.(MACHADO, 2007).

Vários estudos têm avaliado a qualidade do chá verde através da composição química, correlacionando-a a atividade antioxidante exibida pelo produto (RUSAK, et al., 2008; NISHIYAMA et al., 2010; VENDITI et al., 2010).

Nas amostras a granel, figura 1 e tabela 1, preparadas sob agitação os polifenóis totais variaram de 23,75 a 65,71 mg/g da planta seca em equivalentes a epicatequina (mg/gEcat), enquanto nas amostras sem agitação a variação foi de 6,34 a 42,71 mg/gEcat. Os flavonóides (Figura 2 e Tabela 2) apresentaram se na faixa de 9,41 a 28,62 mg/gEcat no extrato obtido com agitação e de 3,70 a 13,31 mg/gEcat, quando não houve agitação.

Neste trabalho foram encontradas diferenças significativas nos teores de polifenóis totais e flavonóides, nas amostras a granel (folhas soltas) e nas amostras de sachês, tanto quanto ao método de preparo do extrato em relação à agitação mecânica, e também entre as amostras classificadas num mesmo método de preparo e tipo de embalagem (em sachês ou a granel), conforme as figuras 1, 2, 3 e 4, e tabelas 1, 2, 3 e 4.

Observa-se que entre as amostras a granel 10 e 11 não houve diferença significativa, no entanto quando comparadas à amostra 5, ocorre uma diferença significativa ao nível de 5%.

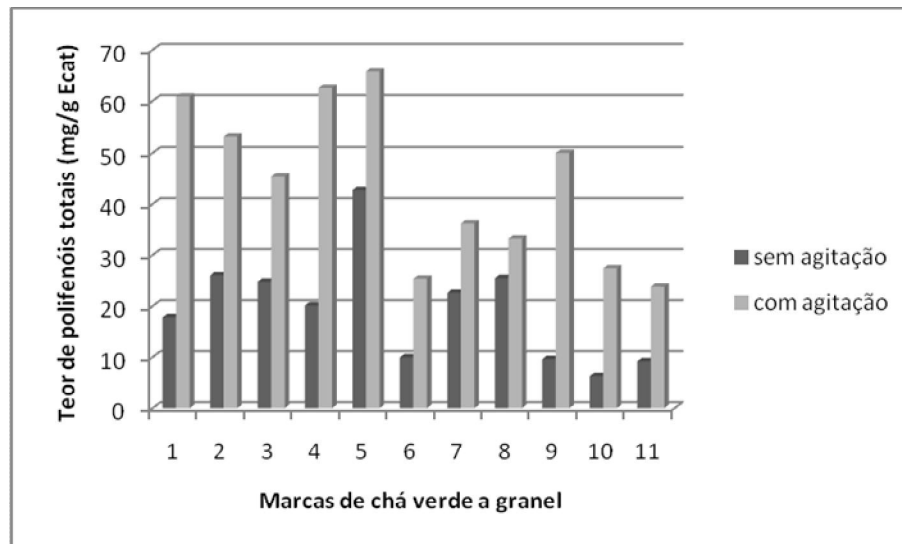


Figura 1: Teores de polifenóis totais em amostras de chá verde a granel obtidos por infusão com e sem agitação mecânica, expressos em mg/gEcat, de erva seca.

Tabela 1. Polifenóis totais em amostras de chá verde a granel obtidos por infusão com e sem agitação, expressos em mg/gEcat, de erva seca.

Marcas	Polifenóis totais, sem agitar mg/g Ecat \pm desvio padrão	Polifenóis totais, com agitação mg/g Ecat \pm desvio padrão
1	17,85 ^e \pm 2,27	60,87 ^c \pm 0,51
2	26,12 ^b \pm 0,97	53,17 ^d \pm 0,58
3	24,86 ^{bc} \pm 0,09	45,31 ^f \pm 0,47
4	20,16 ^{de} \pm 0,67	62,52 ^b \pm 0,71
5	42,71 ^a \pm 1,16	65,71 ^a \pm 0,37
6	9,97 ^f \pm 0,43	25,47 ^j \pm 0,21
7	22,58 ^{cd} \pm 0,39	36,29 ^g \pm 0,73
8	25,55 ^{bc} \pm 0,07	33,17 ^h \pm 0,40
9	9,63 ^f \pm 0,60	50,03 ^e \pm 0,07
10	6,34 ^g \pm 0,25	27,47 ⁱ \pm 0,29
11	9,20 ^{fg} \pm 0,36	23,75 ^l \pm 0,29

*Médias seguidas pela mesma letra, numa mesma coluna, não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

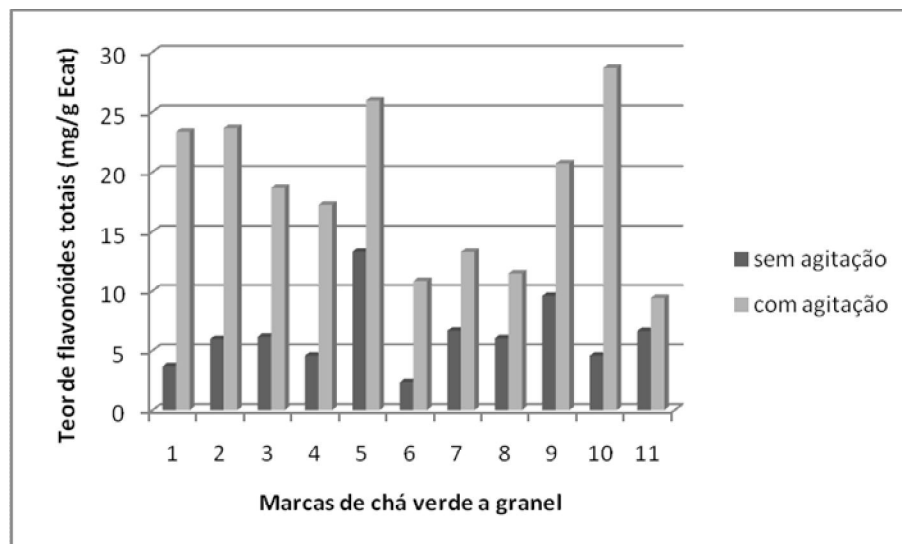


Figura 2: Teores de flavonóides totais em amostras de chá verde a granel preparadas por infusão com e sem agitação, expressos em mg/gEcat de erva seca.

Tabela 2. Flavonóides totais em amostras de infusão de chá verde a granel, preparadas com e sem agitação, resultados expressos em mg/gEcat de erva seca.

Marcas	Flavonóides totais, sem agitar \pm desvio padrão	Flavonóides totais, com agitação \pm desvio padrão
1	3,70 ^d \pm 3,69	23,36 ^c \pm 0,45
2	6,02 ^c \pm 0,48	23,66 ^c \pm 0,42
3	6,21 ^c \pm 1,12	18,65 ^e \pm 0,17
4	4,58 ^d \pm 2,24	17,25 ^f \pm 0,03
5	13,31 ^a \pm 4,66	25,93 ^b \pm 0,69
6	2,39 ^e \pm 4,33	10,88 ^h \pm 0,47
7	6,71 ^c \pm 16,07	13,29 ^g \pm 0,41
8	6,09 ^c \pm 1,28	11,51 ^h \pm 0,66
9	9,59 ^b \pm 0,96	20,73 ^d \pm 0,22
10	4,57 ^d \pm 0,32	28,62 ^a \pm 0,36
11	6,69 ^c \pm 1,44	9,41 ⁱ \pm 0,24

*Médias seguidas pela mesma letra, numa mesma coluna, não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

As amostras dos sachês apresentaram teores de polifenóis totais (Figura 3 e Tabela 3) de 23,18 a 52,65 mg/gEcat sem agitação e de 30,13 a 63,99 mg/gEcat sob agitação. Enquanto que os flavonóides (Figura 4 e Tabela 4) variaram de 14,29 a 28,23 mg/gEcat 6,37 a 16,41 e quando obtido respectivamente sem e com agitação.

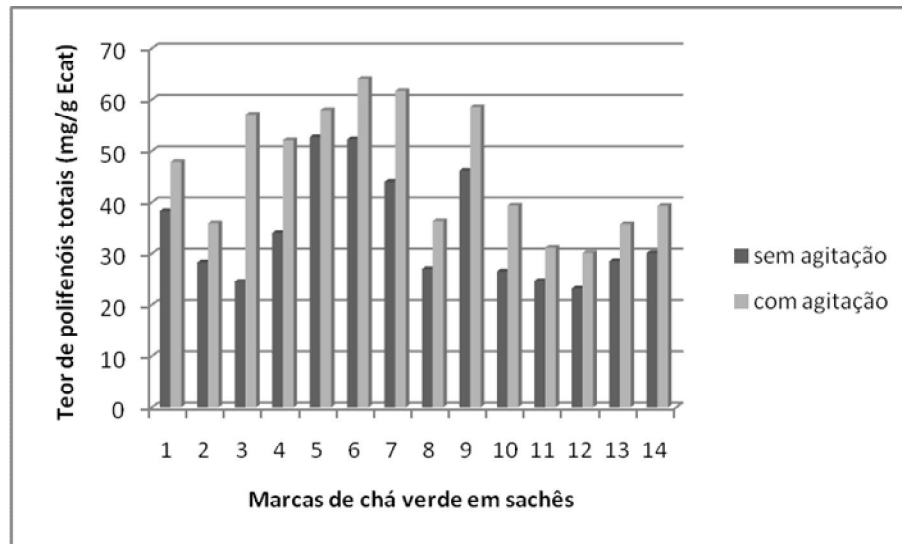


Figura 3: Teores de polifenóis totais em amostras de chá verde em sachês obtidos por infusão com e sem agitação, expressos em mg/gEcat, de erva seca.

Tabela 3. Polifenóis totais em amostras de chá verde em sachês obtidos por infusão com e sem agitação, expressos em mg/gEcat, de erva seca.

Marcas	Polifenóis totais, sem agitação ± desvio padrão	Polifenóis totais, com agitação ± desvio padrão
1	38,34 ^d ± 0,35	47,91 ^f ± 0,40
2	28,29 ^g ± 0,52	35,99 ^h ± 0,57
3	24,54 ⁱ ± 0,86	57,09 ^d ± 0,36
4	33,95 ^e ± 0,40	52,06 ^e ± 0,06
5	52,65 ^a ± 0,96	57,97 ^{cd} ± 0,06
6	52,25 ^a ± 0,54	63,99 ^a ± 0,31
7	43,92 ^c ± 0,39	61,69 ^b ± 0,35
8	27,04 ^{gh} ± 0,51	36,42 ^h ± 0,11
9	46,24 ^b ± 0,68	58,57 ^c ± 0,16
10	26,54 ^h ± 0,23	39,41 ^g ± 0,11
11	24,69 ⁱ ± 0,49	31,14 ⁱ ± 0,48
12	23,18 ⁱ ± 0,23	30,13 ⁱ ± 0,15
13	28,57 ^{fg} ± 0,94	35,80 ^h ± 0,32
14	30,13 ^f ± 0,25	39,31 ^g ± 0,16

*Médias seguidas pela mesma letra, numa mesma coluna, não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

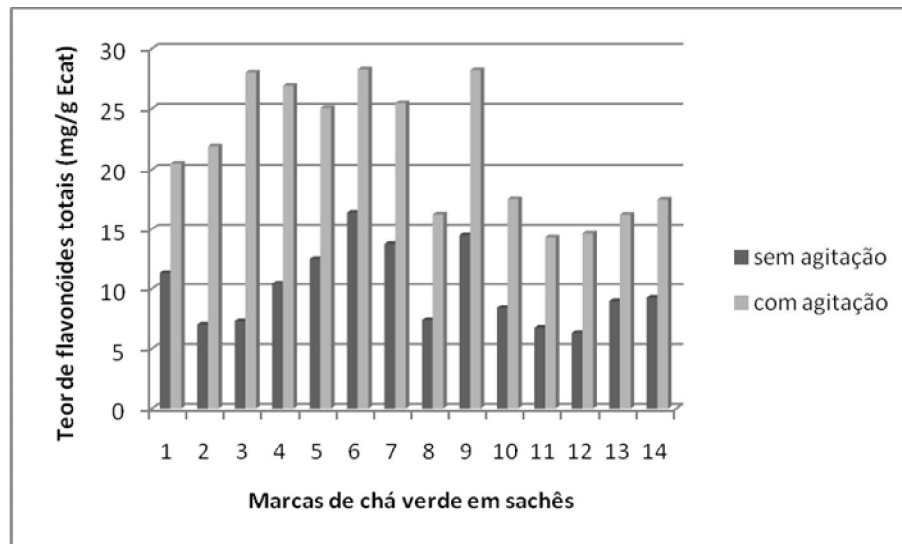


Figura 4: Teores de flavonóides totais em amostras de chá verde em sachês obtidas por infusão com e sem agitação, expressos em mg/gEcat, de erva seca.

Tabela 4. Flavonóides totais em amostras de chá verde em sachês obtidas por infusão com e sem agitação, expressos em mg/gEcat, de erva seca.

Amostras	Flavonóides totais, sem agitação \pm desvio padrão	Flavonóides totais, com agitação \pm desvio padrão
1	11,37 ^e \pm 3,85	20,49 ^e \pm 0,27
2	7,06 ⁱ \pm 1,28	21,93 ^d \pm 0,36
3	7,35 ⁱ \pm 1,92	27,96 ^{ab} \pm 0,19
4	10,47 ^f \pm 0,48	26,88 ^b \pm 0,07
5	12,51 ^d \pm 1,60	25,05 ^c \pm 0,80
6	16,41 ^a \pm 0,70	28,23 ^a \pm 0,52
7	13,77 ^c \pm 0,21	25,46 ^c \pm 0,33
8	7,42 ⁱ \pm 0,16	16,24 ^g \pm 0,75
9	14,47 ^b \pm 0,80	28,16 ^a \pm 0,32
10	8,43 ^h \pm 0,32	17,51 ^f \pm 0,85
11	6,81 ^{ij} \pm 1,12	14,29 ^h \pm 0,22
12	6,37 ^j \pm 0,32	14,63 ^h \pm 0,43
13	8,99 ^{gh} \pm 1,92	16,23 ^g \pm 0,47
14	9,27 ^g \pm 0,32	17,47 ^f \pm 0,41

*Médias seguidas pela mesma letra, numa mesma coluna, não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

Em acordo com os resultados obtidos neste estudo, ocorreram diferenças significativas nos teores dos bioativos analisados entre as marcas avaliadas tanto para as amostras em sachês, quanto à granel.

Estes resultados são semelhantes aos obtidos por Nishiyama et al. (2010), o qual encontrou diferença significativa nos teores de polifenóis totais entre os extratos aquosos preparados com amostras sob agitação e sem agitação.

Estudos realizados por Komes et al. (2010), apresentaram, em seus resultados diferenças significativas na composição química dos chás verdes disponíveis no comércio europeu. Os autores também verificaram que a eficiência da extração destes compostos dependem fortemente das condições de preparo e que para obter teores similares dos referidos compostos utilizando água à 80°C, como solvente extrator, seria necessário um diferentes tempo de extração, a saber: 5 minutos para a amostra pulverizada, 15 minutos para amostras em sachês e 30 minutos para as amostras a granel. Na temperatura de extração a 100°C foram atingidos os teores mais elevados de polifenóis (35,85 mg/g equivalentes ao ácido gálico) e flavonóides totais (28,65 mg/g equivalentes ao ácido gálico) para as amostras em sachês.

Faller et al. (2009) avaliaram frutas e hortaliças consumidas no Brasil e obtiveram valores de polifenóis totais de 15,3 a 215,7mg equivalente ao ácido gálico/100g de peso fresco, comparando estes com os resultados obtidos para o chá verde, é notório que o chá apresenta concentrações elevadas desses bioativos, e pode contribuir para um maior aporte de polifenóis na dieta.

Outros autores têm relatado teores de polifenóis totais comparativamente maiores do que a média obtida neste trabalho, mas nesses casos foram empregados diferentes métodos de extração ou padrões de referencia distintos para a quantificação.

Em estudo realizado por Chen et al. (2007) foi utilizada metodologia similar a deste trabalho para avaliar alguns chás, mas o padrão foi o ácido gálico ao invés de epicatequina e a preparação da amostra foi diferenciada, em resumo, 50 g de folhas secas foram submetidas à refluxo com 10 volumes de água fervente por 30 min. Foram encontrados $149,27 \pm 2,31$ de polifenóis e $33,20 \pm 0,51$ de flavonóides expressos em mg/g equivalentes ao ácido gálico para o chá verde.

Unachukwu (2010) e colaboradores, utilizando metodologia similar a deste estudo com ressalva do padrão (ácido gálico), encontraram valores de polifenóis totais variando de 21,38±0,21 a 228,20±3,32 para os chás verdes.

Kodama (2010) e colaboradores utilizou metodologia semelhante a deste estudo mas o padrão foi catequina e o preparo da infusão foi com 200mL de água destilada (97 ° C), em sachês imersos por 5 minutos. Durante os primeiros 30 segundos, os sachês foram submersos 10 vezes. Depois de 2,5 minutos, o procedimento foi repetido, e no final dos 5 minutos, os sacos de chá foram cuidadosamente removidos. A atividade antioxidante pelo método DPPH variou de 70±8 a 89±2 mg catequina. 200mL e os polifenóis totais variaram de 96 a 201 mg.200mL equivalentes a catequina.

Chan et al. (2010) encontraram teores de polifenóis totais em duas marcas de chá verde de 11,370±1480 e 14,120±1810 mg equivalentes ao ácido gálico/100g de matéria vegetal, estes ensaios foram realizados com infusões a partir de 1g do chá com 50mL de água fervente por uma hora.

Jayasekera et al. (2011) encontraram para o chá preto originado do Sri Lanka valores de polifenóis totais variando de 146,3 a 177,4 mg equivalente ao ácido gálico/g de folhas e % de inibição pelo método DPPH de 31,4 a 53,1.

Lima e Melo (2004) avaliaram, em chás comercializados no Brasil, o teor de polifenóis, que variou de 9,88 a 99,77 em infusões preparadas com a imersão de um sachê em 250mL de água à aproximadamente 100°C, durante o tempo de 10 minutos, o teor maior foi expressado pelo chá preto (*C.sinensis*).

Em estudos realizados por Pereira et al. (2009) o chá verde apresentou valores de 4,8±0,1 a 26,60±0,56 mg equivalentes ao pirogalol/g de amostra e flavonóides de 0,61±0,002 a 1,10±0,058 mg equivalentes a quercetina/g de amostra, neste estudo para fazer a infusão utilizou-se 1g de amostra imersos em 100mL de água fervente durante 5 minutos.

Duarte e Almeida (2006) avaliando a atividade antioxidante em acerola, morango, amora e açaí, encontraram percentuais de inibição de mínimo de 30% para o morango e máximo de 70% para o açaí pelo sistema β-caroteno/ácido linoléico, nesse sistema a acerola apresentou um comportamento pró-oxidante

devido as altas concentrações de ácido ascórbico. Enquanto para o método de seqüestro de radicais livres (DPPH) o mínimo foi apresentado pelo morango (5µmoles equivalentes ao BHT/g de amostra) e o máximo pela acerola (90µmoles equivalentes ao BHT/g de amostra).

Na avaliação da atividade antioxidante pelo sistema β -caroteno/ácido linoléico, Mamede et al. (2009) obtiveram em seus resultados percentual de inibição da atividade antioxidante de até 85% de em acerolas.

De acordo com o Singleton e Rossi (1965) vários compostos fenólicos ter respostas diferentes neste ensaio. A resposta molar deste método é aproximadamente proporcional ao número de grupos hidroxila fenólicos em um determinado substrato, mas a capacidade de redução é maior quando dois grupos fenólicos hidroxila orto são orientados ou paraestatais. Sabe-se que para o consumo humano, os chás são, geralmente, preparados por infusão de folhas ou em sachês em água inicialmente em ebulição. Por outro lado, em geral, a maioria dos trabalhos científicos emprega solventes orgânicos no processo de extração dos compostos fenólicos, tais como metanol, acetona, etanol e outros. Esta prática dificulta a comparação entre os resultados desses trabalhos publicados. Além disso, dificulta a quantificação do teor de bioativos que o consumidor ingere devido às diferenças no poder extrativo para cada tipo de solvente utilizado.

Observou-se que em algumas embalagens constava a recomendação para não ferver o chá durante a preparação e não ultrapassar os 10 minutos em infusão para não ficar excessivamente amargo. O que está de acordo com o preconizado por Pereira et al. (2009), o qual obteve aumento significativo nos teores de polifenóis totais e flavonóides com a elevação do tempo de aquecimento na preparação da infusão de chá verde, pois com o aumento da extração de polifenóis o chá adquire sabor mais marcante e adstringente, podendo torná-lo amargo.

Através dos resultados apresentados na tabela 5, é possível observar que a proporção peso seco da planta em relação à quantidade de água utilizada têm influência decisiva na quantidade de compostos fenólicos totais e flavonóides totais nas infusões.

Contudo, nos trabalhos que avaliam a qualidade do chá verde não foi encontrado nenhum estudo que fizesse a correção do teor de polifenóis totais e flavonóides totais de acordo com a massa do sachê e o volume de água indicado para o preparo do extrato aquoso. Podem-se observar na tabela 5, que, seguindo a recomendação de preparo, no que diz respeito ao volume de água utilizado por sachê, as variações são significativas quando comparam-se os valores corrigidos aos valores calculados levando em consideração apenas a massa de planta seca por volume de água utilizado para a execução das análises. Isso ocorre porque as diferentes marcas de chá verde apresentam massas diferentes por sachê. Além disso, algumas marcas indicam para o preparo volume diferente dos 200mL indicados predominantemente nas embalagens.

Uma vez que a atividade biológica da planta está diretamente relacionada à qualidade e quantidade dos bioativos presentes no material vegetal, a falta de padronização observada nos métodos de preparação e quantificação dificulta a comparação entre os resultados dos estudos disponíveis.

Conforme observado na tabela 5, a proporção de erva seca/água utilizada no preparo do chá varia de acordo com a marca, pois apesar de haver certa padronização quanto à quantidade de água utilizada por sachê, no preparo das infusões, o conteúdo nominal de planta seca dos sachês (quantidade indicada na embalagem do produto) variou significativamente entre as marcas.

Tabela 5. Comparação dos teores de compostos bioativos, em infusões de chá verde e equivalência relativa ao peso médio dos sachês e as recomendações das embalagens.

Amostras	Peso médio / sachê	Polifenóis totais (mg Ecat/g), corrigidos	Polifenóis totais(mg Ecat/g), sem correção	Flavonóides totais(mg Ecat/g), corrigidos	Flavonóides totais(mg Ecat/g), sem correção	Preparo indicado na embalagem sachê/ volume(mL)/ tempo de infusão
1	2,29	43,89^c	38,34 ^d	13,02^c	11,37 ^e	200mL/2-5min
2	1,91	27,01^g	28,29 ^g	6,74^{gh}	7,06 ⁱ	200mL/até adquirir cor e sabor
3	1,9	23,30ⁿ	24,54 ⁱ	6,98^g	7,35 ⁱ	200mL/até adquirir cor e sabor
4	1,08	18,33ⁱ	33,95 ^e	5,65ⁱ	10,47 ⁱ	200mL/10min
5	1,25	32,90^t	52,65 ^a	7,81^t	12,51 ^d	200mL/3min
6	1,54	40,23^d	52,25 ^a	12,63^c	16,41 ^a	200mL/3min
7	1,62	35,57^e	43,92 ^c	11,15^d	13,77 ^c	200mL/até adquirir cor e sabor
8	1,56	21,08^l	27,04 ^{gh}	5,78ⁱ	7,42 ⁱ	200mL/3min
9	2,14	49,47^a	46,24 ^b	15,48^a	14,47 ^b	200mL/até adquirir cor e sabor
10	1,59	21,10^l	26,54 ⁿ	6,69^{gh}	8,43 ⁿ	200mL/3min
11	1,83	22,59^{hi}	24,69 ⁱ	6,22^{hi}	6,81 ^j	200mL/3min
12	1,76	20,39^l	23,18 ⁱ	5,60ⁱ	6,37 ⁱ	200mL/3min
13	2,21	31,57^t	28,57 ^g	9,93^e	8,99 ^{gh}	200mL/2-3min
14	2,03	47,05^b	30,13 ^t	14,47^b	9,27 ^g	130mL/3min

*Médias seguidas pela mesma letra, numa mesma coluna, não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

Outro fator que pode influenciar no teor final de bioativos das infusões é o conteúdo efetivo médio dos sachês (quantidade do produto realmente contida na embalagem do produto pré-medido), divergindo conteúdo nominal do produto (quantidade indicada na embalagem do produto). Na avaliação do conteúdo dos sachês, os resultados de peso médio obtidos foram comparados com o indicado nas embalagens. De acordo com os resultados apresentados na tabela 6, verificou-se que apenas 50% das 14 marcas avaliadas estavam dentro dos valores permitidos pela Lei nº9933, de 20 de dezembro de 1999, Portaria Inmetro nº96, de 07 de abril de 2000 e Portaria do Inmetro nº 248 de 17 de julho de 2008,

que permite uma tolerância de variação de até 9% em relação ao peso total de cada sachê.

Tabela 6. Peso médio dos sachês; peso máximo e mínimo encontrados/sachê e percentual de diferença do peso médio em relação ao peso indicado na embalagem.

Amostras	g/ sachê indicado na embalagem	Peso médio dos sachês	Máx.	Min.	% diferença em relação ao peso médio / sachê
1	2,0	2,29 ^a	2,52	1,96	14,55
2	1,6	1,91 ^{cd}	1,93	1,74	19,49
3	1,8	1,90 ^{cd}	2,05	1,79	5,56
4	1,0	1,08 ^g	1,11	1,06	8,19
5	1,3	1,25 ^g	1,28	1,22	-3,64
6	1,5	1,54 ^f	1,59	1,43	2,69
7	1,3	1,62 ^{ef}	1,71	1,28	24,96
8	1,6	1,56 ^{ef}	1,58	1,55	-1,88
9	1,6	2,14 ^{ab}	2,16	2,11	33,75
10	1,5	1,59 ^{ef}	1,67	1,54	6,00
11	1,7	1,83 ^{cd}	1,97	1,73	8,21
12	1,6	1,76 ^{de}	1,86	1,70	10,48
13	1,8	2,21 ^{ab}	2,27	2,11	23,25
14	1,6	2,03 ^{bc}	2,09	1,95	27,06

*Médias seguidas pela mesma letra, numa mesma coluna, não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

Neste trabalho, foi realizada a avaliação da atividade antioxidante em infusões de chá verde (*C.sinensis*) e estudada a relação desta com os teores de polifenóis e flavonóides.

Uma vez que as características estruturais dos compostos fenólicos são declaradamente também responsáveis pela atividade antioxidante, as medições de fenóis em infusões podem ser relacionadas às suas propriedades antioxidantes.

Alguns autores têm sugerido a utilização de mais de um método *in vitro*, para a avaliação da atividade antioxidante (KUSILIC et al., 2004; ATOUI et al., 2005).

Foram utilizados dois métodos na determinação da atividade antioxidante: o método da atividade captadora do radical livre (1,1-difenil-2-picrilhidrazina) (DPPH) e o método de determinação da atividade antioxidante

pela oxidação acoplada do sistema emulsionado β -caroteno/ácido linoléico (BCAL).

Os extratos aquosos das amostras a granel (Figura 5 e Tabela 7) apresentaram atividade antioxidante, pelo método da atividade captadora do radical livre DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazina), variando de 44,53 a 93,13%, já no método de oxidação acoplada do β -caroteno/ácido linoléico (BCAL), o percentual de inibição variou de 54,87 a 92% enquanto o controle (BHT) apresentou atividade antioxidante de 79,13%.

Estes resultados são semelhantes aos de Erturk et al. (2010) no qual o percentual de inibição mínimo e máximo foram de 76,45 e 98,95 respectivamente. No entanto, devido ao padrão utilizado ter sido o ácido gálico, os polifenóis totais variaram de 33 a 291,18 mg equivalentes ao ácido gálico/g de matéria vegetal seca.

A maioria das amostras a granel e todas as amostras em sachês avaliadas neste estudo, apresentaram percentuais de inibição da oxidação em termos de captação do radical livre (DPPH) mais elevados quando comparados aos resultados obtidos por Nishiyama et al. (2010), nos quais obtiveram percentual de inibição da oxidação de no máximo 75%.

Outros autores encontraram resultados semelhantes aos obtidos neste estudo, apresentando percentuais de inibição, pelo método DPPH, máximos de 91,32% de acordo com Saldanha (2005) e 78,84% em estudos de Moraes-Souza (2007); 77,22% em estudos realizados por Karori et al. (2007), e 89,23% segundo Horzic et al. (2009).

O percentual de inibição da oxidação pelo método BCAL, foi de 61,66% em estudo realizado por Moraes-Souza (2007), 73,17% segundo Saldanha (2005), e 98,47% de acordo com a estação do ano segundo Ertuk et al. (2010).

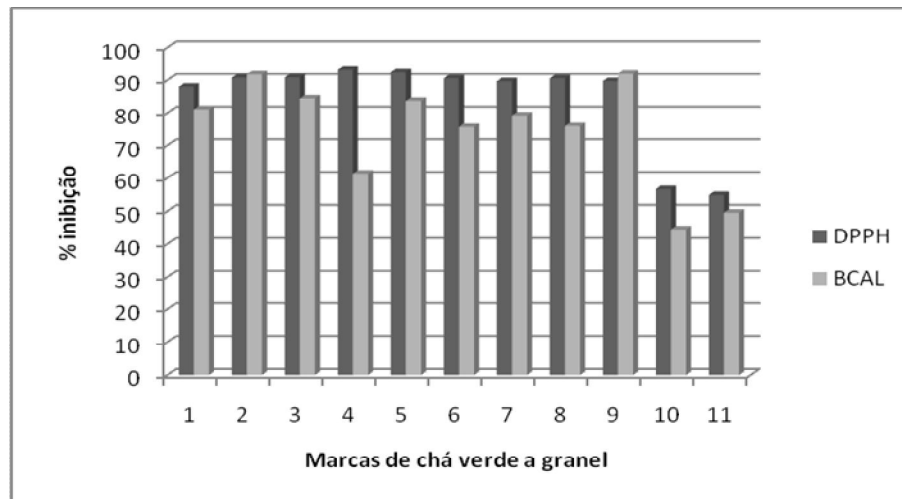


Figura 5. Atividade antioxidante pelos métodos DPPH e BCAL, em infusões de chá verde, das amostras a granel, obtidos sob agitação por 30 segundos.

As amostras a granel das marcas de número 10 e 11 (Figura 5 e Tabela 7), apresentaram percentual de inibição da oxidação significativamente inferior as demais amostras (a média das demais amostras foi 80,57 para o BCAL e 90,64 no DPPH), para os dois métodos testados. Este resultado pode significar problemas referentes às boas práticas de obtenção e de conservação destas duas amostras.

Tabela 7. Atividade antioxidante pelos métodos DPPH e BCAL em infusões de chá verde, nas amostras a granel, preparadas sob agitação por 30 segundos, resultados expressos em % de inibição.

Amostras	BCAL ± desvio padrão	DPPH ± desvio padrão
1	81,1 ^{bc} ± 0,34	87,97 ^e ± 0,79
2	91,77 ^a ± 1,55	90,76 ^b ± 0,18
3	84,46 ^b ± 0,35	90,87 ^b ± 0,14
4	61,34 ^d ± 0,79	93,13 ^a ± 0,05
5	83,68 ^b ± 0	92,42 ^a ± 0,05
6	75,65 ^c ± 1,74	90,59 ^{bc} ± 0,21
7	79,23 ^{bc} ± 0,17	89,69 ^{cd} ± 0,39
8	75,91 ^c ± 1,15	90,6 ^{bc} ± 0,44
9	92 ^a ± 0,4	89,73 ^d ± 0,21
10	44,53 ^e ± 2,36	56,69 ^g ± 0,14
11	49,6 ^e ± 3,31	54,87 ^f ± 0,26

*Médias seguidas pela mesma letra, numa mesma coluna, não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

Para as amostra em sachês a atividade antioxidante pelo método BCAL

variou de 67,88 a 91,53% enquanto para o método DPPH a variação foi de 86,54 a 92,78% (Figura 6 e Tabela 8). Esses resultados dos efeitos antioxidantes in vitro dos chás podem contribuir para avaliação da atividade in vivo.

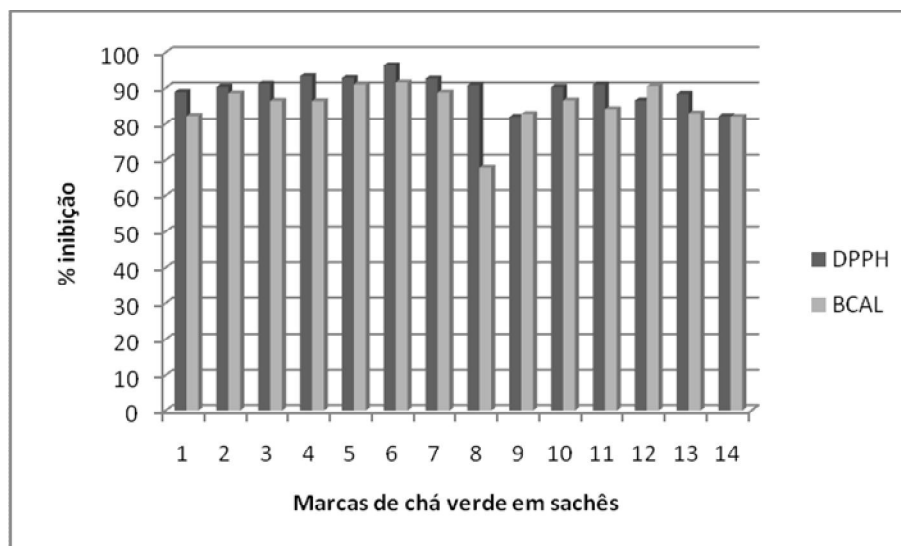


Figura 6. Atividade antioxidante pelo método DPPH e BCAL, em infusões de chá verde, das amostras em sachês, preparadas sob agitação por 30 segundos, resultados expressos em % de inibição.

Tabela 8. Atividade antioxidante pelo método DPPH e BCAL, em infusões de chá verde, das amostras em sachês, preparadas sob agitação por 30 segundos, resultados expressos em % de inibição.

AMOSTRAS	BCAL ± desvio padrão	DPPH ± desvio padrão
1	82,26 ^e ± 1,29	88,38 ^e ± 0,32
2	88,53 ^{bc} ± 1,06	90,31 ^{cd} ± 0,29
3	86,46 ^{cd} ± 1,06	91,17 ^{bc} ± 0,78
4	86,36 ^{cd} ± 0,13	92,28 ^{ab} ± 0,86
5	90,97 ^{ab} ± 0,53	92,78 ^a ± 0,24
6	91,53 ^a ± 0,26	92,71 ^a ± 0,19
7	88,73 ^{abc} ± 0,01	92,62 ^{ab} ± 0,49
8	67,88 ^f ± 0,14	89,41 ^{de} ± 0,24
9	82,79 ^e ± 1,46	91,74 ^{abc} ± 0,49
10	86,55 ^{cd} ± 0,4	90,38 ^{cd} ± 0,09
11	84,18 ^{de} ± 0,65	91,42 ^{abc} ± 0,31
12	90,49 ^{ab} ± 0,25	86,54 ^f ± 0,13
13	82,98 ^e ± 0,4	88,38 ^e ± 0,09
14	82,04 ^e ± 0,4	88,72 ^e ± 0,4

*Médias seguidas pela mesma letra, numa mesma coluna, não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

Segundo Naithani et al. (2006) torna-se importante a avaliação da atividade antioxidante como parâmetro de qualidade dos chás pois os bioativos responsáveis pela atividade antioxidante tendem a degradar com o tempo de armazenamento.

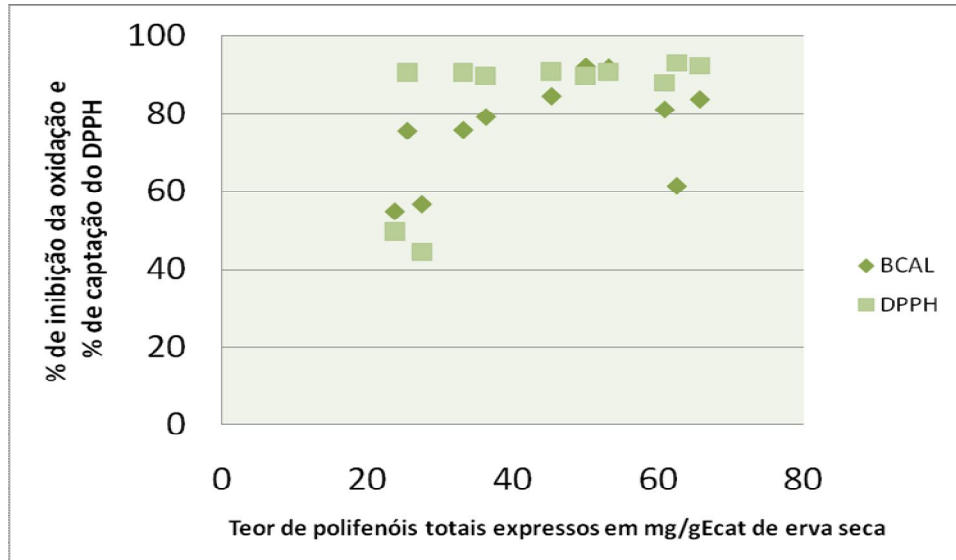


Figura 7: Correlação entre quantidade de polifenóis totais, percentual de inibição da oxidação e percentual de captação do DPPH, em amostras de chá verde a granel.

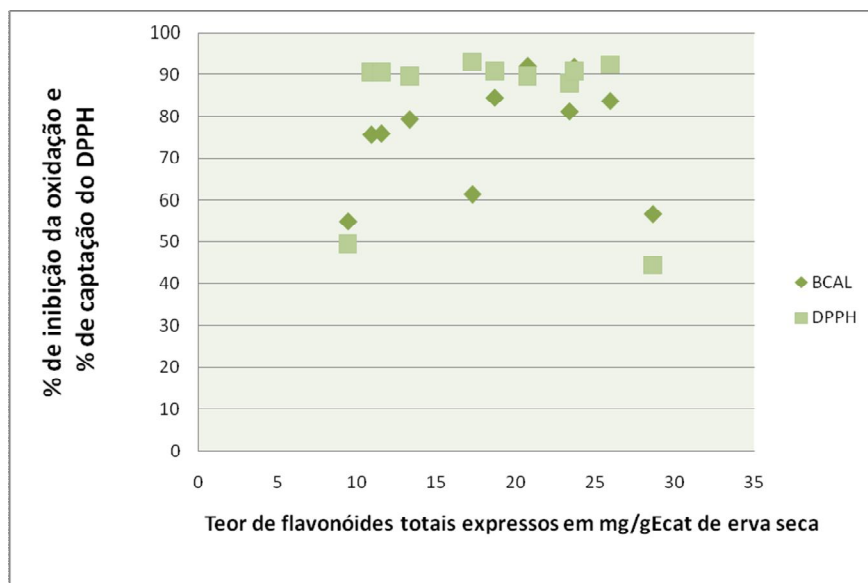


Figura 8: Correlação entre quantidade de flavonóides totais, percentual de inibição da oxidação e percentual de captação do DPPH, em amostras de chá verde a granel.

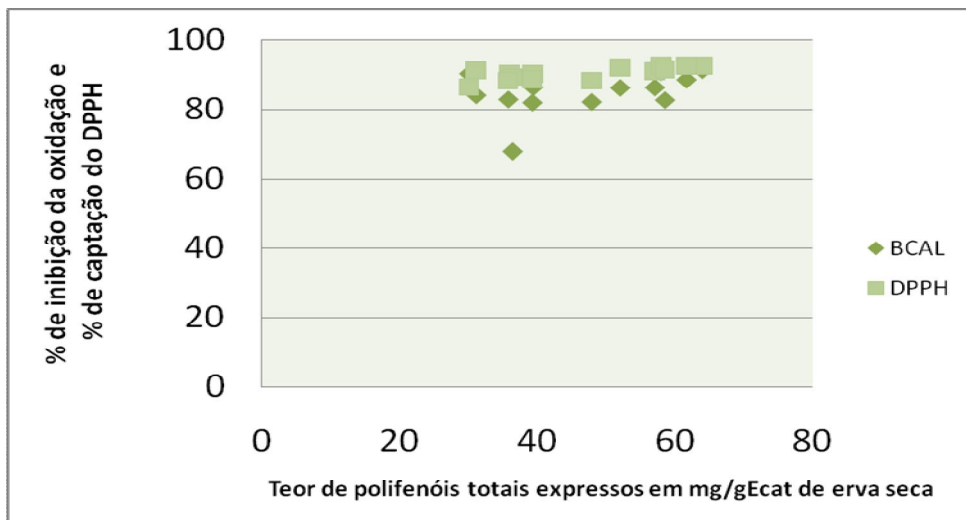


Figura 9: Correlação entre quantidade de polifenóis totais, percentual de inibição da oxidação e percentual de captação do DPPH, em amostras de chá verde em sachês.

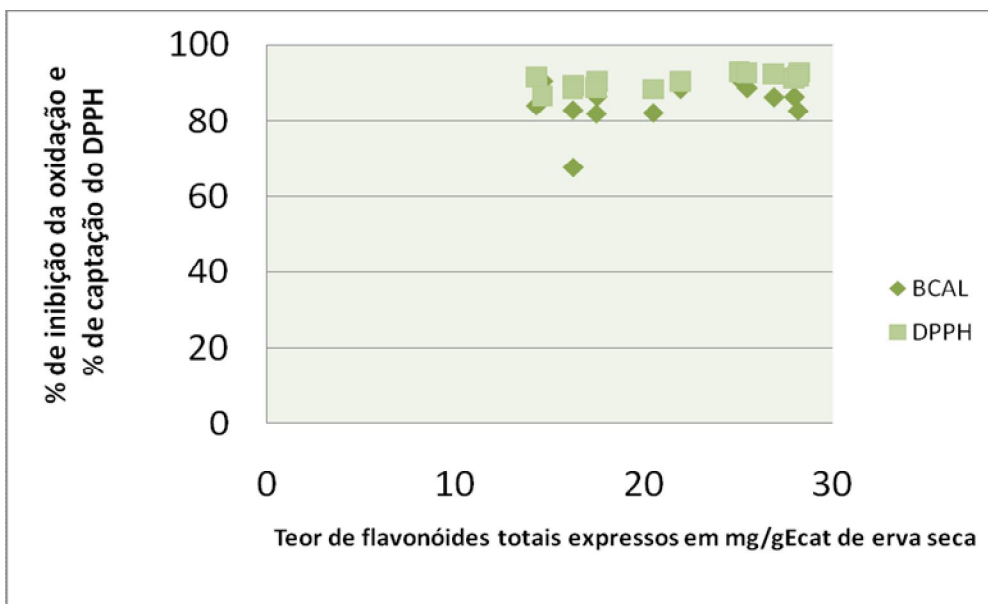


Figura 10: Correlação entre quantidade de flavonóides totais, % de inibição da oxidação e % de captação do DPPH, em amostras de chá verde em sachês.

Houve significativa correlação dos teores de polifenóis e flavonóides totais em relação a atividade antioxidante para os dois métodos utilizados, no entanto as marcas em sachês apresentaram resultados mais homogêneos do que as marcas a granel.

3.5 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste trabalho permitem inferir que há grande variação nos teores de polifenóis e flavonóides entre as marcas de chás verdes analisadas comercializadas em Salvador-BA. Verificou-se também que as amostras preparadas por infusão aquosa sob agitação mecânica apresentaram teores de bioativos mais elevados em relação às amostras que não foram submetidas à agitação.

O estudo demonstrou também significativa correlação entre os teores de polifenóis e flavonóides totais em relação à atividade antioxidante para os dois métodos utilizados e deste modo aponta a necessidade de se estabelecer parâmetros mínimos de bioativos (polifenóis e flavonóides) por peso de matéria seca para infusão aquosa de chá verde visando facilitar a padronização e assim contribuir para a melhoria da qualidade dos chás verde ofertados para o consumidor.

Das amostras em sachês avaliadas os percentuais de inibição da oxidação foram superiores às amostras das marcas a granel.

REFERÊNCIAS

ANESINI, C.; FERRARO, G.E.; FILIP, R. Total Polyphenol Content and Antioxidant Capacity of Commercially Available Tea (*Camellia sinensis*) in Argentina. **Journal Agricultural. Food Chemistry**, v.56,p.9225–9229, 2008.

AQUINO, S. Avaliação da microbiota fúngica e da presença de micotoxinas em amostras de plantas medicinais irradiadas adquiridas no comércio varejista e atacadista. 2007. 115p. Tese (Doutorado em Tecnologia Nuclear), Instituto de pesquisas energéticas e nucleares(IPEN) – Autarquia associada à Universidade de São Paulo, São Paulo-SP.

ASOLINI, F. C.; TEDESCO, A.M.; CARPES, S.T.; FERRAZ, C.; ALENCAR, S. M.A. Antioxidante e Antibacteriana dos Compostos Fenólicos dos Extratos de Plantas Usadas como chás. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 9, n. 3, p. 209-215, 2006.

ATOUI, A.K; MANSOURI, A.; BOSKOU, G.; KEFALAS, P. Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile. **Food Chemistry**, v. 89, p. 27–36, 2005.

AZAM, S.; HADI, N.; KHAN, N.U.; HADI, S.M. Prooxidant property of green tea polyphenols epicatechin and epigallocatechin-3-gallate: implications for anticancer properties. **Toxicology in Vitro**, v.18, p.555–561, 2004.

BRAGA, T.V.; OLIVEIRA, T.T.; PINTO, J.T.; DORES, R.G.R.; NAGEM, T.J; Determinação de massa fresca, massa seca, água e cinzas totais de folhas de *Cissus verticillata* (L.) e avaliação do processo de secagem em estufa com ventilação forçada; **Revista de Ciências Farmarmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 28, n.3, p. 287 - 290, 2007.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel Wissenschaft Technologie**, v. 28, p. 25-30, 1995.

BUGNO. A; BUZZO, A.A; NAKAMURA, C.T.; PEREIRA, T.C.; MATOS, D.; PINTO, T.J..A. Avaliação da contaminação microbiana em drogas vegetais. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.41, n.4, p. 491-497, 2005.

CHAN, E.W.C.; LIM, Y.Y., CHONG, K.L; TAN, J.B.L.; WONG, S.K. Antioxidant properties of tropical and temperate herbal teas. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.23, p.185–189, 2010.

CHEN, HUI-YIN; LIN, YUH-CHARN; HSIEH, CHIU-LAN. Evaluation of antioxidant activity of aqueous extract of some selected nutraceutical herbs. **Food Chemistry**, v.104, p.1418–1424, 2007.

CHEN, Y.; JIANG, Y.; DUAN, J.; SHI, J.; XUE, S.; KAKUDA, Y. Variation in catechin contents in relation to quality of 'Huang Zhi Xiang' Oolong tea (*Camellia sinensis*) at various growing altitudes and seasons. **Food Chemistry**, v.119, p.648–652, 2010.

DROGE, W. Free radicals in the physiological control of cell function. **Physiology Rev**, v.82, p.47-95, 2002.

DUARTE-ALMEIDA, J.M.; SANTOS, R.J.; GENOVESE, M.I.; LAJOLO, F.M. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema β -caroteno/ácido linoléico e método de seqüestro de radicais DPPH•. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, n.2, p. 446-452, 2006.

ERTURK, Y.; ERCISLI, S.; SENGUL, M.; ESER, M.; HAZNEDAR, A.; TURAN, M. Seasonal variation of total phenolic, antioxidant activity And minerals in fresh tea shoots (*Camellia sinensis*). **Pakistan journal of pharmaceutical sciences**, v.23, n.1, p.69-74, 2010.

FALLER, A.L.K. & FIALHO, E. Disponibilidade de polifenóis no Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v.43, n.2, p.211-8, 2009.

FANG, M.Z.; WANG, Y.; AI, N.; HOU, Z.; SUN, Y. LU, H.; WELSH, W.; YANG, C.S. Tea Polyphenol (–)-Epigallocatechin-3-Gallate Inhibits DNA Methyltransferase and Reactivates Methylation-Silenced Genes in Cancer Cell Lines. **Cancer Research**, v.63, p.7563–7570, 2003.

FARHOOSH, R.; GOLMOVAHHED, G.A.; KHODAPARAST, M.H.H. Antioxidant activity of various extracts of old tea leaves and black tea wastes (*Camellia sinensis L.*). **Food Chemistry**, v.100, p.231–236, 2007.

FERREIRA, I.C.F.R.; ABREU, R.M.V. Stress Oxidativo, Antioxidantes e Fitoquímicos. **Bioanálise**, v.4, n.2, 2007.

FERREIRA, A.L.A.; MATSUBARA, L.S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica do Brasil**, v.43, n.1, p.61-68, 1997.

FRANÇA, I.S.X.; SOUZA, J.A.; BAPTISTA, R.S.; BRITTO, V.R.S. Medicina popular: benefícios e malefícios das plantas medicinais. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v.61, n.2, p. 201-208, 2008.

FRIEDMAN, M.; LEVIN, C.E.; LEE, S.U.; KOZUKUE, N. Stability of Green Tea Catechins in Commercial Tea Leaves during Storage for 6Months. **Journal of food science**, v. 74, n.2, p.47-51, 2009.

FUKINO, Y., IKEDA, A., MARUYAMA, K., AOKI, N., OKUBO, T., ISO, H. Randomized controlled trial for an effect of green tea-extract powder supplementation on glucose abnormalities. **European Journal of Clinical Nutrition**, v.62, p.953–960, 2008.

HALLIWELL, B. Are polyphenols antioxidants or pro-oxidants? What do we learn from cell culture and in vivo studies? **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 476, p.107–112, 2008.

JAYASEKERA, S.; MOLAN, A.L.; GARG, M.; MOUGHAN, P.J. Variation in antioxidant potential and total polyphenol content of fresh and fully-fermented Sri Lankan tea. **Food Chemistry**, v.125, p.536–541, 2011.

JIAN L.; XIE L.P.; LEE A.H. Protective effect of green tea against prostate cancer: a case-control study in southeast China. **Journal International of Cancer**, v.108, p.130-135, 2004.

KARORI, S. M.; WACHIRA, F. N.; WANYOKO, J. K.; NGURE, R. M. Antioxidant capacity of different types of tea products. **African Journal of Biotechnology**, v. 6, n.19, p. 2287-2296, 2007.

KODAMA, D.H.; GONÇALVES, A.E.S.S.; LAJOLO, F.M.; GENOVESE, M.I. Flavonoides, fenólicos totais e capacidade antioxidante: comparação entre bebidas comerciais à base de chá verde. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.30, n.4, p.1077-1082, 2010.

KOMES, D.; HORZIC, D.; BELŠČAK, A.; GANIC, K.K.; VULIC, I. Green tea preparation and its influence on the content of bioactive compounds. **Food Research International**, v.43, p.167–176, 2010.

KUSILIC, T.; RADONIC, A.; KATALINIC, V.; MILOS, M.; Use of different methods for testing antioxidant activity of oregano essential oil. **Food Chemistry**, v.85, n.4, p.633-640, 2004.

KOO, S.I.; NOH, S.K. Green Tea as Inhibitor of the Intestinal Absorption of Lipids: Potential Mechanism for its Lipid-Lowering Effect. **Journal nutrition biochemistry**, V.18, n.3, p.179–183, 2007.

LEE, K.W.; KIM, Y.J.; LEE, C.Y. Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 51, p. 7292-7295, 2003.

LIMA, J.D.; MAZZAFERA, P.; MORAES, W.S.; SILVA, R.B. Chá: aspectos relacionados à qualidade e perspectivas. **Ciência Rural**, v.39, n.4, p.1270-1278, 2009.

LIMA, V.L.A.G.; MÉLO, E.A. Teor de Compostos Fenólicos Totais em Chás Brasileiros. **Brazilian Journal. Food Technology**, v.7, n.2, p.187-190, 2004.

MACHADO, C.C.B.; BASTOS, D.H.M. Determinação do perfil de compostos voláteis e avaliação do sabor e aroma de bebidas produzidas a partir da erva-mate (*Ilex paraguariensis*). **Química Nova**, v. 30, n. 3, p.513-518, 2007.

MATSUBARA, S.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Teores de catequinas e teaflavinas em chás comercializados no Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, n.2, p. 401-407, 2006a.

MATSUBARA, S.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Conteúdo de miricetina, quercetina e kaempferol em chás comercializados no Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, n.2, p. 380-385, 2006b.

MACHADO, C.C.B.; BASTOS, D.H.M. Determinação do perfil de compostos voláteis e avaliação do sabor e aroma de bebidas produzidas a partir da erva-mate (*Ilex paraguariensis*). **Química Nova**, v. 30, n. 3, p.513-518, 2007.

MAMEDE, M.E.O.; MIRANDA, M.P.S.; RITZINGER, R.; GODOY, R.C.B. Physico-chemical and sensorial evaluation of new varieties of acerola, **British Food Journal**, v.111, n. 4, p. 387-395, 2009.

MARCO, G.J. A rapid method for evaluation of antioxidants. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 45, p. 594-598, 1968.

MILLER, H.E. A simplified method for the evaluation of antioxidant. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 48, p. 91, 1971.

MORAES DE SOUZA, A. R. Potencial antioxidante e composição fenólica de infusões de ervas consumidas no Brasil. 2007. 60p. Mestrado em ciências de alimentos - Concentração em ciência e tecnologia de alimentos. Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba-SP.

MORAIS, S.M. ; CAVALCANTI, E.S.B.; COSTA, S.M.O. ; AGUIAR, L.A. Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.19, n.1B, p. 315-320, 2009.

NAITHANI, V.; NAIR, S.; KAKKAR, P. Decline in antioxidant capacity of Indian herbal teas during storage and its relation to phenolic content. **Food Research International**, v.39, p.176–181, 2006.

NISHIYAMA, M.F.; COSTA, M.A.F; COSTA, A.M.; SOUZA, C.G.M.; BÔER, C.G.; BRACHT, C.K.; PERALTA, R.M. Chá verde brasileiro (*Camellia sinensis* var *assamica*): efeitos do tempo de infusão, acondicionamento da erva e forma de preparo sobre a eficiência de extração dos bioativos e sobre a estabilidade da bebida. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.30(Supl.1), p.191-196, 2010.

OLIVEIRA, A.C.; VALENTIM, I.B.; GOULART, M.O.F. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p.689-702, 2009.

OWUOR, P. O.; OBANDA, M.; NYIRENDA, H. E.; MPHANGWE, N.I.K.; WRIGHT, L. P.; APOSTOLIDES, Z. The relationship between some chemical parameters and sensory evaluations for plain black tea (*Camellia sinensis*) produced in Kenya and comparison with similar teas from Malawi and South Africa. **Food Chemistry**, London, v.97, n.4, p.644-653, 2006.

PEREIRA, A.V.; ALMEIDA, T.C.; BELTRAME, F.L.; COSTA, M.E.; GARRIDO, L.H. Determinação de compostos fenólicos em amostras comerciais de chás verde e preto - *Camellia sinensis* (L.) Kuntze, Theaceae. **Acta Scientiarum Health Sciences**, v. 31, n. 2, p. 119-124, 2009.

PERON, A. P.; MARCOS, M.C.; CARDOSO, S.C.; VICENTINI, V.E.P. Avaliação do potencial citotóxico dos chás de *Camellia sinensis* L. e *Cassia angustifolia vahl* em sistema teste vegetal. **Arquivos de Ciências e Saúde Unipar**, v. 12, n. 1, p. 51-54, 2008.

PERVA-UZUNALIC, A.; KERGET, M.S.; KNEZ, Z.E.; WEINREICH, B.; OTTO, F.; GRUÑER, S. Extraction of active ingredients from green tea (*Camellia sinensis*): Extraction efficiency of major catechins and caffeine. **Food Chemistry**, v.96, p.597-605, 2006.

PUNYASIRI, P.A.N.; ABEYSINGHE, I.S.B.; KUMAR, V.; TREUTTER, D.; DUY, D.; GOSCH, C.; MARTENS, S.; FORKMANN, G.; FISCHER, T.C. Flavonoid biosynthesis in the tea plant *Camellia sinensis*: properties of enzymes of the prominent epicatechin and catechin pathways. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.431, p.22-30, 2004.

RAMIREZ-MARES, M.V.; CHANDRA, S.; MEJIA, E.G. In vitro chemopreventive activity of *Camellia sinensis*, *Ilex paraguariensis* and *Ardisia compressa* tea extracts and selected polyphenols. **Mutation Research**, v.554, p.53-65, 2004.

ROBARDS, K. Strategies for the determination of bioactive phenols in plants, fruits and vegetables. **Journal of Chromatography**, v.1000, n.1-2, p.657-691, 2003.

ROCHA, L. O.; SOARES, M. M. S. R.; CORRÊA, C. L. Análise da contaminação fúngica em amostras de *Cassia acutifolia* Delile (sene) e *Peumus boldus* (Molina) Lyons (boldo-do-Chile) comercializadas na cidade de Campinas, **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 40, n.4, p. 522 - 523, 2004.

RUSAK, G.; KOMES, D.; LIKIC', S.; HORZ'IC', D.; KOVAC, M. Phenolic content and antioxidative capacity of green and white tea extracts depending on extraction conditions and the solvent used. **Food Chemistry**, v.110. p.852-858, 2008.

SAITO ST, GOSMANN G, SAFFI J, PRESSER M, RITCHER FM, BERGOLD A. Characterization of the constituents and antioxidant activity of Brazilian green tea (*Camellia sinensis* var. *assamica* IAC-259 cultivar) extracts. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v.55, p.9409-14, 2007.

SALDANHA, L.A. Avaliação da atividade antioxidante *in vitro* de extratos de erva-mate (*Ilex paraguainensis*) verde e tostada e chá verde (*Camellia sinensis*). 2005. 120p. Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Saúde Pública da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre. São Paulo. Faculdade de Saúde Pública-USP.

SCOTTI, L.; SCOTTI, M.T.; CARDOSO, C.; PAULETTI, P.; CASTRO-GAMBOA, I.; BOLZANI, V.S.; VELASCO, M.V.R.; MENEZES, C.M.S.; FERREIRA, E.I. Modelagem molecular aplicada ao desenvolvimento de moléculas com atividade antioxidante visando ao uso cosmético. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.43, n.2, p.153-166, 2007.

SENGER, A.E.V.; SCHWANKE, C.H.A.; GOTTLIEB, M.G.V.; Chá verde (*Camellia sinensis*) e suas propriedades funcionais nas doenças crônicas não transmissíveis. **Scientia Medica**, v.20, n.4, p.292-300, 2010.

SINGLETON, V.L. e ROSSI, J.A. Colorimetric of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal Enology and Viticulture**, v.16, n.3, p.144-146, 1965.

SOARES, S.E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v.15, n.1, p. 71-81, 2002.

SOUSA, C.M.M.; SILVA, H.R.; VIEIRA-JR., G.M.; AYRES, M.C.C.; COSTA, C.L.S.; ARAÚJO, D.S.; CAVALCANTE, L.C.D.; BARROS, E.D.S.; ARAÚJO, P.B.M.; BRANDÃO, M.S.; CHAVES, M.H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química nova**, v.30, n. 2, p.351-355, 2007.

TANAKA, T.; KOUNO, I. Oxidation of tea catechins: chemical structures and reaction mechanism. **Food Science and Technology Research**, v.9, n.2, p.128-133, 2003.

TABART, J.; KEVERS, C.; PINCEMAIL, J.; DEFRAIGNE, J.; DOMMES, J. Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various tests. **Food Chemistry**, v.113, p.1226–1233, 2009.

UNACHUKWU, J. U.; AHMED, S.; KAVALIER, A.; LYLES, J.T.; KENNELLY, E.J. White and Green Teas (*Camellia sinensis* var. *sinensis*): Variation in Phenolic, Methylxanthine, and Antioxidant Profiles. **Journal of Food Science**, v.75, n.6, 2010.

VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A.C. e MACIEL, M.A.M. Plantas medicinais: cura segura?. **Química Nova**, v.28, n.3, p. 519-528, 2005.

VENDITTI, E.; BACCHETTI, T.; TIANO, L.; CARLONI, P.; GRECI, L.; DAMIANI, E. Hot vs. cold water steeping of different teas: Do they affect antioxidant activity? **Food Chemistry**, v.119, p.1597–1604, 2010.

VUONG, Q.V.; NGUYEN, V.; GOLDING, J.B.; ROACH, P.D. The content of bioactive constituents as a quality index for Vietnamese Teas. **International Food Research Journal**, v.18, p.329-336, 2011.

ZHU, K.; LIAN, C.; GUO, X.; PENG, W.; ZHOU, H. Antioxidant activities and total phenolic contents of various extracts from defatted wheat germ. **Food Chemistry**, v. 126, p.1122–1126, 2011.

WANG,K.; LIU, F.; LIU, Z.; HUANG, J.; XU, Z.; LI, Y.; CHEN, J.; GONG, Y.; YANG, X. Analysis of chemical components in oolong tea in relation to perceived quality. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 45, p.913–920, 2010.

CONCLUSÃO GERAL

Os resultados obtidos neste estudo mostraram diferenças significativas na concentração dos compostos fenólicos entre as diferentes marcas de chá verde avaliadas.

Em relação à atividade antioxidante verificou-se forte correlação desta com os teores de polifenóis e flavonóides. Na maioria das marcas avaliadas houve elevada atividade antioxidante, e apenas duas das marcas a granel apresentaram atividade antioxidante inferior à média obtida neste estudo para os dois métodos utilizados, 80,57 para o sistema beta caroteno/ácido linoléico e 90,64 no DPPH.

No estudo também ficou comprovado que, no preparo do chá verde, as amostras obtidas por infusão aquosa com agitação mecânica apresentaram maior atividade antioxidante e teores de polifenóis e flavonóides em relação aquelas que não foram submetidas à agitação.

A atividade de água demonstrou ser um melhor indicador do estado de conservação para amostras de chá verde em relação ao teor de umidade.

Na avaliação microscópica, a análise da anatomia foliar das amostras permitiu confirmar a identidade vegetal dos produtos, através da observação dos principais marcadores anatômicos típicos da espécie (estômatos anomocíticos e tricomas tectores unicelulares).

Na pesquisa de sujidades, 28% das marcas de chás verde avaliadas encontravam-se acima do limite máximo estabelecido para cinzas insolúveis, indicativo de contaminação por areia.

Em quatro das marcas analisadas foi constatada a presença de materiais estranhos, tais como os psócidos, vestígios de teia de aranha, desenvolvimento de fungos e presença de fragmentos de planta diferente da *C.sinensis*. Além disso, duas das marcas avaliadas apresentaram quantidade excessiva de galhos grossos, com indício de adulteração do produto, pois o chá verde deve ser composto apenas por folhas e brotos.

Estes resultados enfatizam a importância do controle de qualidade e da conservação do chá verde para a preservação das propriedades antioxidantes. Também apontam para a necessidade de se estabelecer parâmetros mínimos de bioativos (polifenóis e flavonóides) por peso de matéria seca para infusão aquosa

de chá verde visando facilitar a padronização e contribuir para a melhoria da qualidade dos chás verde disponíveis para o consumidor.