



Efeito do tempo e da luz nos compostos fenólicos totais e na capacidade antioxidante de bebidas de chá mate e branco prontas para o consumo

Effect of time and light on the total phenolic compounds and antioxidant capacity of ready-to-drink mate and white tea beverages

A. A. de Oliveira; K. Y. Coelho; M. H. N. Brumano; P. C. Fidelis*

Departamento de Alimentos, Universidade Federal de Ouro Preto, 354000-000, Ouro Preto-MG, Brasil

*priscila.fidelis@ufop.edu.br

(Recebido em 27 de setembro de 2021; aceito em 06 de março de 2022)

Os chás são ricos em compostos com propriedades antioxidantes que devem ser preservadas em bebidas elaboradas a partir de seus extratos. Nesse estudo, a estabilidade de compostos fenólicos totais (CFT) e a capacidade antioxidante (CA) pelos métodos ABTS e FRAP foram avaliadas em formulações de chá mate e branco prontas para beber (sabores natural, limão e pêssego). As bebidas foram armazenadas por 8 semanas em frascos âmbar ou expostas à luz, em temperatura ambiente e analisadas a cada 2 semanas. O teor de CFT das formulações com chá mate no escuro e expostas à luz permaneceu estável durante o armazenamento. Para as formulações de chá branco expostas à luz, foi detectada uma queda de 24 a 31% nos teores de CFT ao final do armazenamento. Houve uma queda expressiva na CA avaliada por FRAP, nas formulações de chá, a partir de 2 semanas de armazenamento, na ausência e presença de luz. Pouca alteração na CA das bebidas avaliada pelo método ABTS foi observada no escuro, enquanto na luz houve queda de 31 a 44% para os chás mate e branco, respectivamente. Os chás prontos para beber, mesmo que envasados em embalagem âmbar, não foram estáveis com relação ao potencial de redução de ferro. Contudo, o conteúdo de CFT e a CA por ABTS foram preservados. Os compostos fenólicos e a CA, das formulações à base de chá branco e do mate são conservados desde que as bebidas sejam envasadas em frascos âmbar a temperatura ambiente, por no máximo duas semanas.

Palavras-chave: estabilidade, *Camellia sinensis*, *Ilex paraguariensis*.

Teas are rich in compounds with antioxidant properties that must be preserved in drinks made from their extracts. In this study, the stability of total phenolics compounds (TPC) and the antioxidant capacity (AC) were evaluated in ready-to-drink mate and white tea formulations in the flavors of natural, lemon and peach. The drinks were stored for 8 weeks in amber bottles or exposed to light, at room temperature, with analyzes performed every 2 weeks. The TPC content of formulations with mate tea in the dark and exposed to light remained stable during storage. For the white tea formulations exposed to light, a drop of 24 to 31% in TPC levels was detected at the end of storage. There was a substantial drop in AC evaluated by FRAP, in all tea formulations, after 2 weeks of storage, in the absence and presence of light. Small changes in the AC of the beverages evaluated by ABTS were observed in the dark, while in the light there was a drop of 31 to 44% for mate and white teas, respectively. Ready-to-drink teas, even if filled in amber packaging, were not stable in terms of the potential for iron reduction. However, the content of TPC and AC detected by ABTS were preserved. The phenolic compounds and AC for the formulations based on white or mate teas, are preserved as long as the drinks are filled in amber bottles at room temperature for a maximum of two weeks.

Keywords: stability, *Camellia sinensis*, *Ilex paraguariensis*.

1. INTRODUÇÃO

O chá é a segunda bebida mais consumida no mundo, e um aumento nesse consumo tem sido observado na última década [1]. O chá-mate, bebida obtida pela infusão das folhas e ramos da erva-mate (*Ilex paraguariensis*) após o processo de torrefação, é o mais popular no Brasil devido a suas propriedades sensoriais [2, 3]. Além disso, a erva-mate está ganhando rápida introdução no mercado mundial devido ao seu alto teor de componentes bioativos, especificamente metilxantinas e polifenóis, apresentando propriedades nutricionais e medicinais, e sendo considerado como um alimento funcional [4-7].

A partir das partes tenras da espécie *Camellia sinensis*, obtém-se diferentes tipos de chá, como os chás branco, verde, oolong e preto; sendo o branco o menos fermentado e o preto o mais oxidado [8]. Muitos estudos abordam as propriedades antioxidantes desses chás [9, 10], porém, para o chá branco poucas informações estão disponíveis. Devido ao menor grau de oxidação, o chá branco apresenta maior amargor e, portanto, é menos atrativo sensorialmente, mas possui capacidade antioxidante semelhante ao chá verde [11], mostrando o grande potencial atribuído ao consumo desse chá em relação aos benefícios à saúde. Apesar de pouco conhecido nas comunidades ocidentais, o chá branco é muito apreciado na Ásia [12].

Os chás prontos para beber, vem sendo produzidos por diversas empresas, em formulações simples ou mistas, com grande aceitação pelos consumidores [13]. Essa aceitação inclui tanto a praticidade de consumo desses produtos, quanto os efeitos positivos associados aos chás. Assim, à medida em que muitas bebidas de chás prontos para o consumo são introduzidas no mercado, é importante realizar estudos que verifiquem os efeitos do tempo e das condições de estocagem na perda de compostos fenólicos e da capacidade antioxidante dessas bebidas, uma vez que essas são propriedades essenciais relacionadas aos benefícios desses produtos.

A forma mais comum de embalar esses produtos é em garrafas de politereftalato de etileno (PET) transparentes, comercializadas a temperatura ambiente, o que expõe a bebida à luz, podendo comprometer os bioativos antioxidantes presentes nessas bebidas.

Não foram encontrados estudos na literatura sobre a estabilidade de bebidas de chá branco e mate prontos para o consumo. Alguns estudos avaliaram a estabilidade de compostos fenólicos e capacidade antioxidante nas folhas secas desses chás, armazenadas por diversos períodos [14, 15]. Com relação a bebidas à base de chá, Muniandy et al. (2016) [16] estudaram a influência da adição de chá verde, branco e preto sobre a capacidade antioxidante de um iogurte probiótico durante o armazenamento refrigerado, enquanto a estabilidade do flavonoide rutina foi avaliada por Frizon et al. (2015) [17] em bebidas de chá mate com soja durante 180 dias de estocagem sob refrigeração.

Em um estudo prévio [18], nosso grupo avaliou a estabilidade de compostos fenólicos totais e a capacidade antioxidante em bebidas de chás verde e preto (*Camellia sinensis*), ao longo de 8 semanas de armazenamento na ausência e presença de luz. No presente trabalho buscamos complementar os resultados, com o objetivo de comparar o efeito do tempo de armazenamento e exposição à luz na concentração dos compostos fenólicos e na capacidade antioxidante das diferentes espécies de folhas de mate (*Ilex paraguariensis*) e chá branco (*Camellia sinensis*) na elaboração das bebidas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Materiais

Os reagentes ABTS (ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolína-6-sulfônico) e TPTZ (2,4,6-Tris(2-piridil)-s-triazina) foram adquiridos da Sigma-Aldrich® e o reagente de Folin-Ciocalteu foi obtido da Dinâmica®. Todos os outros reagentes foram de grau analítico.

Os sachês de folhas de chá desidratadas, açúcar comercial, limão fresco e suco concentrado de pêssego foram comprados em mercados locais, no estado de Minas Gerais (MG, Brasil).

2.2 Preparo dos chás pronto para consumo

Para o preparo do extrato aquoso de chá, 21,6 g do material foram pesados e misturados com 3000 mL de água potável fervente, seguido de leve agitação por 10 min. A mistura foi transferida para filtro de papel número 02 e resfriada a temperatura ambiente, que para todas as condições foi em torno de 22 °C.

Esse extrato foi utilizado para o preparo das diferentes formulações variando o tipo do chá, branco ou mate, com a adição ou não de suco de fruta (limão ou pêssego). Todas as formulações foram adicionadas com xarope de sacarose para atingir um teor final de sólidos solúveis de

7 °Brix e o pH foi ajustado para 3,6 utilizando ácido cítrico 0,1 mol.L⁻¹. A concentração final do extrato de chá nas bebidas foi de 0,57% (m/v).

Ao final, foram obtidas seis formulações diferentes, sendo duas sem adição de suco, duas com sabor limão e duas com sabor pêssego, cada uma contendo extrato de chá branco ou mate.

Após a formulação, benzoato de sódio e sorbato de potássio a 0,05% (m/v) foram adicionados às bebidas de chá seguido por pasteurização a 85 °C por 60 s. Por fim, as bebidas foram envasadas a quente em garrafas esterilizadas.

2.3 Estudo de estabilidade

Metade de cada preparação foi embalada em frascos de vidro âmbar e armazenada no escuro; enquanto a outra parte foi envasada em frascos de vidro transparentes e exposta à luz LED, ambos a temperatura ambiente por 8 semanas. No dia zero e a cada 2 semanas, três frascos de cada formulação armazenados em diferentes condições foram avaliados em triplicata quanto ao conteúdo fenólico total e capacidade antioxidante por FRAP e ABTS.

2.4 Determinação de compostos fenólicos totais

O teor total de compostos fenólicos foi determinado de acordo com Singleton e Rossi (1965) [19]. As amostras das bebidas devidamente diluídas foram misturadas com 2,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu (10% v/v) e 2 mL de solução de carbonato de sódio (2% m/v). A mistura foi agitada e mantida à temperatura ambiente durante 1 h no escuro. A absorbância foi medida em 750 nm usando um espectrofotômetro digital UV-vis (Global Analyzer Modelo GTA 97, São Paulo, Brasil). Os resultados foram expressos em mg de ácido gálico equivalente (mg AGE.mL⁻¹) de chá para bebida, usando uma curva de calibração de seis pontos (43, 85, 128, 170, 213 e 255 mg.L⁻¹).

2.5 Medida da capacidade antioxidante

Para a determinação da capacidade de eliminação de radicais livres de cátions (ABTS⁺) foi empregada a metodologia descrita por Re et al. (1999) [20]. Para ativação do radical livre, 7 µmol.L⁻¹ de ABTS foram misturados a 2,45 µmol.L⁻¹ de persulfato de potássio por 16 h, no escuro, em temperatura ambiente. A redução da absorbância em 754 nm (absorbância inicial = 0,700±0,020) na presença das amostras foi medida após 7 min. Para a construção da curva de calibração, Trolox (13, 25, 75, 125, 175 e 225 mg.L⁻¹) foi usado como antioxidante padrão e a capacidade antioxidante equivalente de Trolox (TEAC) expressa em mg Trolox.mL⁻¹ de bebida.

O ensaio do poder antioxidante redutor do ferro (FRAP) foi efetuado empregando o método de Benzie e Strain (1996) [21] com pequenas modificações. O reagente FRAP foi gerado pela reação de 2,1 mL de TPTZ 10 mmol.L⁻¹ com 2,1 mL de cloreto férrico 20 mmol.L⁻¹ na presença de 25 mL de tampão acetato 0,3 mol.L⁻¹. Após ativação, 3,6 mL do reagente FRAP foi adicionado a um volume de 0,4 mL das amostras de bebidas, devidamente diluídas, seguido de incubação a 37 °C por 30 min. A absorbância da mistura de reação foi medida a 595 nm, usando como branco o reagente FRAP adicionado de água destilada. Para a calibração foi utilizado o Trolox (25, 50, 100, 150, 200 e 250 mg.L⁻¹) e a TEAC expresso em mg Trolox.mL⁻¹ de bebida.

2.6 Análise estatística

Os valores calculados foram apresentados como média±desvio padrão. A comparação entre as respostas foi avaliada por meio de um teste de Tukey, após a execução da análise de variância (ANOVA). Os parâmetros cinéticos (κ e $t_{1/2}$) foram obtidos após ajuste dos modelos linearizados por meio de regressão. A avaliação da relação entre os diferentes parâmetros estudados (compostos fenólicos, ABTS e FRAP) foi realizada por meio do cálculo do coeficiente de correlação de Pearson (CR). Probabilidades menores que 0,05 foram

consideradas ao rejeitar as hipóteses nulas. As análises foram realizadas no software R, por meio do pacote estatístico *Agricolae* [22].

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Compostos fenólicos totais para as bebidas à base de chá mate na ausência e presença de luz

Os valores iniciais de compostos fenólicos variaram de 0,86 a 0,89 mg AGE.mL⁻¹ de bebida, e não houve diferença estatística ($p > 0,05$) entre os sabores empregados (Figura 1). Outros estudos avaliaram as concentrações de fenólicos totais em diferentes tipos de amostras de chá mate. Bravo et al. (2007) [23], encontraram o valor de 0,74 mg AGE.mL⁻¹ de chá na infusão de 1,0 g de mate em 100 mL de água por 5 min; Santos et al. (2018) [24] reportaram 0,90 mg AGE.mL⁻¹ em uma infusão empregando 2,0 g por 100 mL durante 10 min; Rodrigues et al. (2015) [25] encontraram 0,88 mg AGE.mL⁻¹ de chá na infusão de mesma concentração e Murakami et al. (2013) [26] relatou um valor de 2,32 mg AGE.mL⁻¹ no extrato de folhas secas de mate (3,0 g.100 mL⁻¹).

Esses resultados exemplificam como as diferentes condições de preparo das infusões podem influenciar na quantidade de compostos fenólicos extraídos, além de variações nas matérias-primas resultantes das condições de cultivo, colheita, processamento e estocagem, que também alteram a composição fitoquímica e a concentração desses compostos nos chás e, portanto, a qualidade do produto disponível ao consumidor [27-30].

Apesar de todos os fatores que afetam os teores de compostos fenólicos nas infusões de chás, as bebidas de mate formuladas no presente estudo, com concentração final de 0,57 g de extrato em 100 mL, que é inferior à todas as infusões elencadas acima, e após submetidas ao processo de pasteurização, ainda exibem valores de compostos fenólicos comparáveis a infusões recém-preparadas.

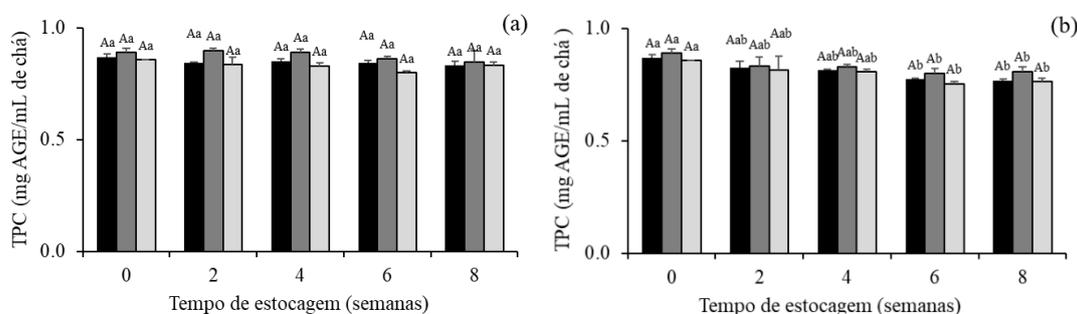


Figura 1: Compostos fenólicos totais na bebida de chá mate na ausência (a) e na presença (b) de luz ao longo do armazenamento, para os sabores Natural (■), Limão (▒) e Pêssego (□). Diferentes letras maiúsculas e minúsculas representam diferença significativa ($p < 0,05$) entre sabores de chá e ao longo do período de armazenamento, respectivamente.

Não houve redução significativa ($p > 0,05$) nos teores de compostos fenólicos para as formulações mantidas no escuro, ao longo do período de armazenamento, mostrando estabilidade desses compostos para essa condição (Figura 1a). Contudo, houve diferença ($p < 0,05$), entre as concentrações de fenólicos na presença e ausência de luz, ao longo do armazenamento, com prejuízo para as bebidas expostas à luz.

O perfil de queda exibido para os valores de compostos fenólicos, ao longo das 8 semanas, foi semelhante para as três formulações dos chás expostos à luz (Figura 1b), não havendo diferença estatística entre os três sabores ($p > 0,05$). Ao final do tempo de estocagem houve redução significativa ($p < 0,05$) de 4,3; 4,0 e 2,5% nas concentrações de fenólicos para as bebidas sabor natural, limão e pêssego, respectivamente.

3.2 Compostos fenólicos totais para as bebidas à base de chá branco na ausência e presença de luz

Os valores de compostos fenólicos das formulações à base de chá branco, no tempo zero de armazenamento, variaram de 1,73 a 1,78 mg AGE.mL⁻¹ de chá (Figura 2). Esses valores são superiores aos teores desses compostos no chá mate (Figura 1a), e corroboram com outros estudos empregando extratos aquosos desses chás [24, 25, 29, 31, 32]. Vale ressaltar que esses chás se originam de ervas de diferentes origens botânicas, enquanto o chá branco pertence à espécie *Camellia sinensis*, o chá mate é da espécie *Ilex paraguariensis*. Além disso, os métodos empregados com a matéria-prima para obtenção do chá mate são diferentes em relação ao chá branco. No chá branco, os brotos jovens da *C. sinensis* são colhidos e protegidos da luz solar para evitar a degradação de compostos fenólicos obtendo um chá levemente fermentado [15, 24]. Para o chá mate, as folhas passam pelo sapeco (temperaturas elevadas) para inativar as enzimas oxidativas, seguido de secagem e torrefação [33, 34].

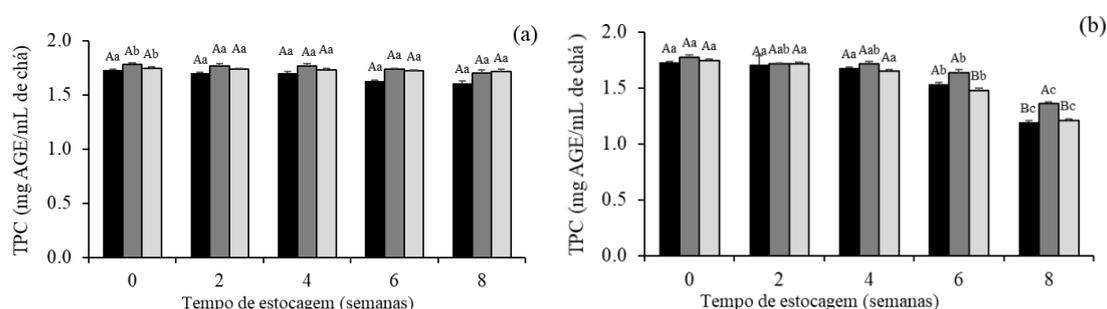


Figura 2: Compostos fenólicos totais na bebida de chá branco na ausência (a) e na presença (b) de luz ao longo do armazenamento, para os sabores Natural (■), Limão (▒) e Pêssego (□). Diferentes letras maiúsculas e minúsculas representam diferença significativa ($p < 0,05$) entre sabores de chá e ao longo do período de armazenamento, respectivamente.

Os teores de compostos fenólicos encontrados nesse estudo são mais elevados que aqueles reportados por Rusak et al. (2008) [35] e Nakamura et al. (2013) [31] que foram de 1,0 e 0,92 mg AGE.mL⁻¹, em infusões aquosas com concentrações de 1,0 e 0,64 g de folhas em 100 mL, respectivamente.

Zielinski et al. (2015) [36] encontraram um valor de 2,25 mg AGE.mL⁻¹ para infusão aquosa de chá branco, preparada na proporção de 2 g.100 mL⁻¹ e Santos et al. (2018) [24] reportaram 1,29 mg AGE.mL⁻¹ em extrato aquoso de chá branco nas mesmas proporções massa de soluto/água. Xu et al. (2019) [14] prepararam um extrato aquoso aproveitando o resíduo das folhas de chá branco retido no filtro e obtiveram um teor de compostos fenólicos de 1,98 mg AGE.mL⁻¹ em uma concentração final de 1,0 g.100 mL⁻¹. Avaliando as bebidas de chá branco preparadas no presente estudo com concentração final de extrato de 0,57 g.100 mL⁻¹, os teores de compostos fenólicos de 1,73 a 1,78 mg AGE.mL⁻¹, são bastante expressivos e podem oferecer benefícios semelhantes às infusões de chá branco reportadas.

O comportamento dos compostos fenólicos totais para as três formulações de chá branco na ausência de luz foi similar aquele observado para as formulações empregando extrato de chá mate armazenado no escuro (Figura 1a), ou seja, não houve perda significativa ($p > 0,05$) desses compostos ao longo do tempo de estocagem.

Os padrões de ordem zero ou de primeira ordem descrevem a maioria das alterações observadas em alimentos [37]. Para as bebidas armazenadas ao abrigo da luz, uma cinética de degradação de ordem zero foi ajustada ($r^2 > 86\%$), com valores de $t_{1/2}$ e κ de 78,2 semanas e 0,0056 semanas⁻¹ para formulações com chá mate e 91,5 semanas e 0,0096 semanas⁻¹ para aquelas elaboradas com chá branco. Os valores baixos para a velocidade de degradação indicam a elevada estabilidade desses compostos quando protegidos da incidência de luz.

Houve diferença significativa ($p < 0,05$) nos teores de compostos fenólicos entre as bebidas expostas ou não à luz. Para as formulações contendo extratos de chá branco, submetidos à presença de luz, foi detectado um decréscimo significativo ($p < 0,05$), ao final do tempo de armazenamento, de 31, 24 e 31% nos teores de fenólicos, para sabores natural, limão e pêssego, respectivamente (Figura 2b). Coelho et al. (2020) [18] também observaram que na ausência de luz, o conteúdo de compostos fenólicos totais de bebidas de chá verde e preto permaneceu estável durante todo o armazenamento, mas reduziu após duas semanas quando as formulações foram expostas à luz.

Uma diferente resposta foi obtida para as bebidas preparadas com extrato de chá mate (Figura 1b), onde a perda nos teores de compostos fenólicos foi de oito a dez vezes menor que os valores das formulações com chá branco, ao final do período de estocagem. Esse resultado sugere que a composição química dos fenólicos presentes no chá branco é mais sensível à presença de luz e, portanto, bebidas comercialmente elaboradas com esse chá devem ser envasadas em frascos âmbar ou opacos, para proteção desses compostos, no caso de armazenamento superior a seis semanas.

Os principais compostos fenólicos presentes nas folhas do chá branco da *Camellia sinenses* são as epigalocatequina galato (EGCG) e as epigalocatequina (ECG) [38, 39] enquanto na *Ilex paraguanienses* derivados do ácido hidroxicinâmico (ácido clorogênico) e flavonoides compreendem 90% e 10% dos fenóis do mate, respectivamente [7]. Assim, pode-se pressupor que, como os compostos fenólicos presentes nas duas espécies são diferentes, as catequinas das formulações com chá branco que inicialmente reagiram com o Folin-Ciocalteu, podem ter sido mais afetadas ao longo do armazenamento na presença da luz LED quando comparado às espécies derivadas do ácido hidroxicinâmico. Essa diferença pode explicar a maior estabilidade observada para formulações a base de chá mate.

No caso das formulações expostas à luz, ajustes de primeira ordem ($r^2 > 75\%$) resultaram em valores de $t_{1/2}$ e κ de 44,1 semanas e $0,016 \text{ semanas}^{-1}$ para mate e 16,3 semanas e $0,043 \text{ semanas}^{-1}$ para branco. Com uma taxa de degradação de 2,7 vezes maior que as bebidas de chá mate, esses resultados reforçam a importância de manter as bebidas de chá branco na ausência de luz, uma vez que a meia-vida de 16,3 semanas poderia ser aumentada para 91,5 semanas.

Cordero et al. (2009) [40] avaliaram a influência do material de embalagem nas catequinas em bebidas prontas para beber e observaram maior decréscimo desses compostos nas bebidas comercializadas em garrafas de poliestireno seguido de garrafas de polietileno (PET). As catequinas presentes nas bebidas envasadas em latas de alumínio apresentaram maior tempo de meia-vida devido à baixa permeabilidade ao ar e à luz UV dessas embalagens.

Considerando que os chás prontos para beber comercializados no Brasil, em garrafas pet transparente, possuem prazo de validade de no máximo 6 meses, as bebidas formuladas nesse estudo com chá mate e branco apresentariam uma redução no teor de compostos fenólicos de 34% para mate e 67% para branco após os 6 meses (26 semanas), considerando a cinética de degradação de primeira ordem.

3.3 Capacidade antioxidante por FRAP para as bebidas à base de chá mate na ausência e presença de luz

Os valores iniciais para a capacidade antioxidante das formulações variaram de 0,91 a 0,98 mg Trolox.mL⁻¹ de chá (Figura 3). Zielinski et al. (2014) [27] encontraram 1,27 mg Trolox.mL⁻¹ em infusões de 2,0 g de folhas de chá mate para 100 mL de água. Bravo et al. (2007) [23] reportaram 1,93 mg Trolox.mL⁻¹ de infusão de 1 g de chá para 100 mL de água. Esses valores para capacidade antioxidante são comparáveis aos reportados nesse estudo, considerando a origem e forma de apresentação das matérias-primas (sachês ou folhas secas), além das diferentes razões massa/soluto, encontradas nas infusões e nas bebidas prontas para beber.

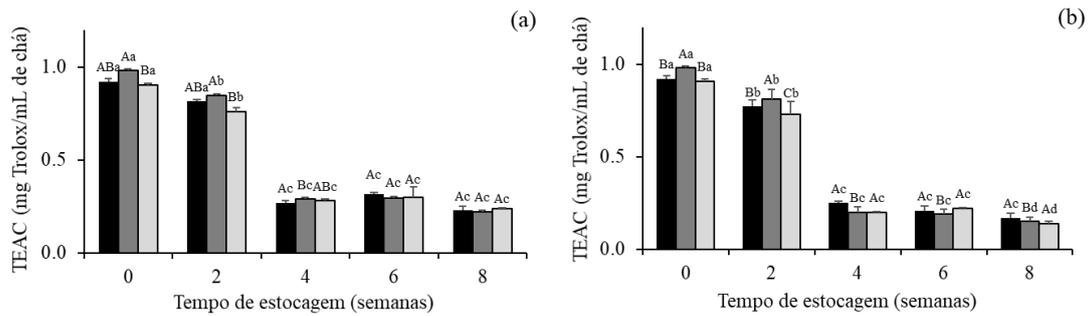


Figura 3: Capacidade antioxidante medida por FRAP nas bebidas de chá mate na ausência (a) e na presença (b) de luz ao longo do armazenamento, para os sabores Natural (■), Limão (▒) e Pêssego (□). Diferentes letras maiúsculas e minúsculas representam diferença significativa ($p < 0,05$) entre sabores de chá e ao longo do período de armazenamento, respectivamente.

O perfil de decréscimo da capacidade antioxidante exibido pelas formulações dos chás seguiu a mesma tendência tanto na ausência ou presença de luz, ou seja, todos apresentaram uma queda a partir de duas semanas de estocagem ($p < 0,05$). No entanto, a diminuição da capacidade antioxidante das bebidas quando expostas à luz foi maior ($p < 0,05$).

A capacidade antioxidante de todas as formulações apresentou um decréscimo significativo ($p < 0,05$) ao longo do período de estocagem, com uma queda expressiva de mais de 70% dos valores iniciais na quarta semana de armazenamento, enquanto os compostos fenólicos dessas bebidas se mantiveram estáveis na ausência de luz (Figura 1a) e com decréscimo pouco expressivo na presença de luz (Figura 1b). Entretanto, houve correlação positiva entre o teor de compostos fenólicos e a capacidade antioxidante por FRAP para bebidas à base de chá mate expostas a luz LED ($CR = 0,63$; $p < 0,01$), mostrando que ambos, compostos fenólicos e capacidade antioxidante, caíram ao longo do tempo. O mesmo não ocorreu com aquelas protegidas da luz, onde não houve correlação ($p > 0,05$).

Portanto, é possível sugerir que os compostos responsáveis pela capacidade antioxidante detectada por FRAP a partir de duas semanas de armazenamento não correspondem aos fenólicos totais que foram doseados pelo reagente de Folin-Ciocalteu, uma vez que a estabilidade oxidativa das bebidas de chá não foi assegurada pelos teores invariáveis de compostos fenólicos presentes por todo o período de armazenamento.

3.4 Capacidade antioxidante por FRAP para as bebidas à base de chá branco na ausência e presença de luz

No tempo zero de armazenamento, é possível observar que as três formulações de chás branco apresentaram valores similares de capacidade antioxidante (2,18 a 2,24 mg Trolox.mL⁻¹ de chá) (Figura 4). Os valores de capacidade antioxidante para essas bebidas foram superiores àqueles encontrados para o chá mate, como já evidenciado por outros autores [1, 24, 41]. O chá branco contém um alto teor de flavan-3-ol e taninos condensados, compostos com um grande número de grupos hidroxila presentes em sua estrutura química, o que explica o alto poder antioxidante [42].

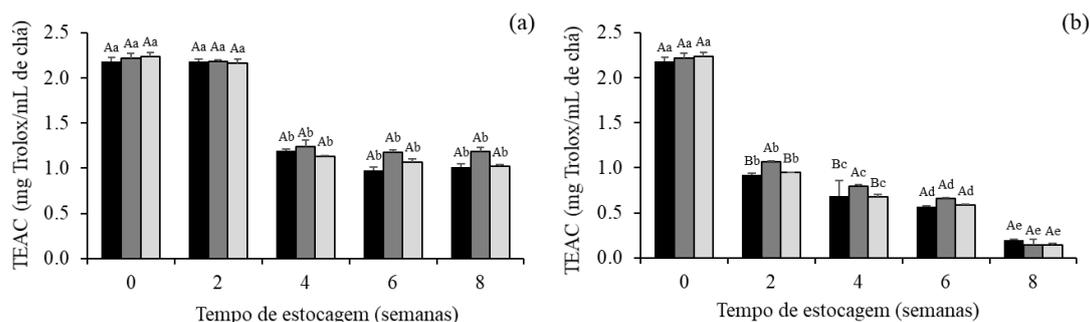


Figura 4: Capacidade antioxidante medida por FRAP nas bebidas de chá branco na ausência (a) e presença (b) de luz, ao longo do armazenamento, para os sabores Natural (■), Limão (▒) e Pêssego (□). Diferentes letras maiúsculas e minúsculas representam diferença significativa ($p < 0,05$) entre sabores de chá e ao longo do período de armazenamento, respectivamente.

Jiménez-Zamora et al. (2016) [43] encontraram um valor de $2,39 \text{ mg Trolox.mL}^{-1}$ de infusão de chá branco ($1,34 \text{ g.100 mL}^{-1}$) e Zielinski et al. (2015) [36] reportam um valor de $3,08 \text{ mg Trolox.mL}^{-1}$ na relação massa/solvente de 2 g.100 mL^{-1} , resultados comparáveis aos encontrados nesse estudo, cujas formulações apresentaram concentração inferior, ou seja, $0,57 \text{ g}$ de extrato em 100 mL de bebida.

Para as bebidas de chá branco na ausência de luz, a queda ($p < 0,05$) na capacidade antioxidante foi de 47 a 50% na quarta semana de armazenamento (Figura 4a) e, portanto, um decréscimo menor que aqueles exibidos pelas formulações contendo o chá mate. Ainda, a capacidade de redução dos íons ferro para as amostras das bebidas se manteve ($p > 0,05$) durante o período no qual os teores de compostos fenólicos não sofreram nenhuma alteração (Figura 2a). Esses resultados sugerem que os fenólicos presentes nas formulações de chá branco, na ausência de luz seriam os responsáveis por manter a capacidade antioxidante por FRAP, durante 2 semanas de estocagem.

Quando as bebidas de chá branco foram expostas à luz, foi observada uma redução de 50% na capacidade antioxidante em 2 semanas de armazenamento (Figura 4b), ou seja, perda mais acelerada na capacidade oxidativa comparada às amostras mantidas no escuro ($p < 0,05$). Esse rápido decréscimo demonstra uma maior sensibilidade à luz dos compostos fenólicos (EGCG e ECG) responsáveis por manter a capacidade de redução de íons ferro.

A queda na capacidade antioxidante, nas formulações submetidas à presença de luz, não correspondeu nem ao tempo e nem à proporção dos decréscimos observados nos teores de compostos fenólicos, que ocorreram somente após 6 semanas de armazenamento e foi em torno de 30%, para as mesmas condições de armazenamento (Figura 2b). Esses resultados mostram que a partir de 4 semanas ao abrigo da luz e de 2 semanas expostas à luz, os fenólicos ainda podiam ser detectados nas formulações (Figuras 2a e 2b), porém, não garantiram a manutenção na capacidade antioxidante dessas bebidas.

Apesar disso, observamos pela análise de correlação que a capacidade antioxidante por FRAP apresentou correlação positiva com o teor de fenólicos ($CR=0,73$; $p < 0,01$) na presença de luz, indicando que ambos apresentaram queda ao longo do armazenamento. Na ausência de luz essa correlação não foi significativa ($p > 0,05$).

A tendência de queda se manteve menor ao longo dos dias seguintes, com comportamento similar para todas as três bebidas de chá branco analisadas neste experimento. Ao final do período de armazenamento, foi observado que os valores de capacidade antioxidante dos chás reduziram drasticamente (queda de 91%) em relação aos valores iniciais, o que influencia diretamente no tempo de estocagem de chás prontos para consumo a base do extrato de chá branco em embalagens que permita o contato dos produtos com a luz.

As análises de cinética indicaram que a queda na capacidade antioxidante por FRAP, para as formulações de chá mate e branco no escuro também seguiu primeira ordem ($r^2 > 80,5\%$) com valores de $t_{1/2}$ e κ de 3,6 semanas e $0,189 \text{ semanas}^{-1}$ para formulações com chá mate e 6,4 semanas e $0,108 \text{ semanas}^{-1}$ para aquelas com chá branco. No caso das bebidas expostas à luz,

ajustes de primeira ordem ($r^2 > 86,7\%$) resultaram em valores de $t_{1/2}$ e κ de 2,9 semanas e $0,234$ semanas⁻¹ para mate e 2,6 semanas e $0,263$ semanas⁻¹ para branco. Enquanto o $t_{1/2}$ foi pouco afetado para as formulações de chá mate na presença de luz, esse parâmetro foi reduzido em 59% para as bebidas de chá branco expostas à essa condição, o que demonstra pouca estabilidade à luz dos compostos antioxidantes da *Camelia sinensis* para reduzir os íons de ferro.

3.5 Capacidade antioxidante por ABTS para bebidas à base de chá mate

As formulações a base de chá mate armazenadas no escuro apresentaram quedas de aproximadamente 23% ao final do período de estocagem (Figura 5a), enquanto nas análises realizadas por FRAP houve um decréscimo de cerca de 72%, a partir de duas semanas na ausência de luz (Figura 3a).

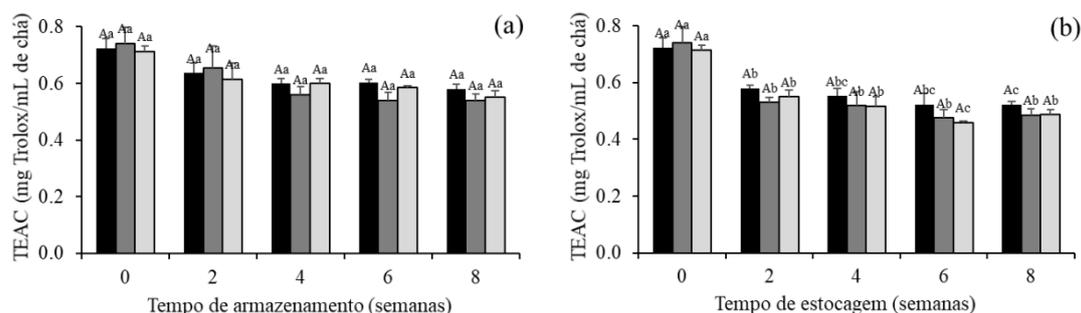


Figura 5: Capacidade antioxidante medida por ABTS nas bebidas de chá mate na ausência (a) e presença (b) de luz, ao longo do armazenamento, para os sabores Natural (■), Limão (▣) e Pêssego (□). Diferentes letras maiúsculas e minúsculas representam diferença significativa ($p < 0,05$) entre sabores de chá e ao longo do período de armazenamento, respectivamente.

Para as formulações armazenadas em exposição à luz LED (Figura 5b), foi observada uma redução ($p < 0,05$) de 31% na capacidade antioxidante para capturar o radical ABTS, ao final do tempo de estocagem. Isso revela o efeito da luz na capacidade oxidativa das formulações. No entanto, comparando com os resultados obtidos por FRAP (Figura 3b), cujo decréscimo foi de 82% ao final de oito semanas de armazenamento, as formulações de chá mate ainda possuem 69% de capacidade para capturar os radicais ABTS comparado a apenas 18% para reduzir os íons de ferro.

É interessante notar que tanto o perfil de mudanças para a capacidade antioxidante quanto os valores de Trolox mensurados na presença de luz são muito similares àquele observados na ausência de luz (Figuras 5a e 5b). No entanto, a diminuição da capacidade antioxidante das bebidas quando expostas à luz foi maior ($p < 0,05$). Da mesma maneira, houve diferença ($p < 0,05$) no teor de compostos fenólicos para essas formulações, na presença de luz (Figuras 1a e 1b). Esses resultados permitem concluir que a manutenção de grande parte da capacidade antioxidante, para capturar o radical livre de ABTS, nas formulações de chá mate, está parcialmente associada à presença dos fenólicos totais detectados por Folin-Ciocalteu. Houve correlação positiva entre ABTS e compostos fenólicos ($CR = 0,61$; $p < 0,01$) para exposição à luz enquanto essa correlação não foi observada quando protegido da luz ($p > 0,05$).

3.6 Capacidade antioxidante por ABTS para bebidas à base de chá branco

Os valores de capacidade antioxidante para ABTS variaram de $1,83$ a $1,89$ mg Trolox.mL⁻¹ (Figura 6). Uma vez que as formulações de chá contêm $0,57$ g extrato em 100 mL de bebida, esses valores são comparáveis a infusões de folhas e sachês de chá branco ($1,0$ g. 100 mL⁻¹) que

foi de 1,45 mg Trolox.mL⁻¹ reportado por Rusak et al. (2008) [35] e ao valor de 2,49 mg Trolox.mL⁻¹ de infusão desse mesmo chá (1,34 g.100 mL⁻¹) encontrado por Jiménez-Zamora et al. (2016) [43].

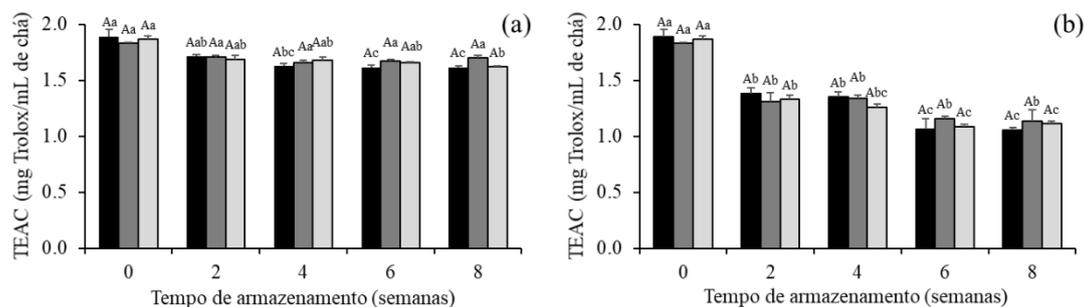


Figura 6: Capacidade antioxidante medida por ABTS nas bebidas de chá branco na ausência (a) e presença (b) de luz, ao longo do armazenamento, para os sabores Natural (■), Limão (▒) e Pêssego (□). Diferentes letras maiúsculas e minúsculas representam diferença significativa ($p < 0,05$) entre sabores de chá e ao longo do período de armazenamento, respectivamente.

Assim como observado para o método FRAP, os valores de capacidade antioxidante para as bebidas de chá branco obtidos por ABTS são superiores àqueles encontrados para o chá mate.

Em um estudo empregando diferentes tipos de plantas, Jiménez-Zamora et al. (2016) [43] mencionaram que a necessidade diária total recomendada de capacidade antioxidante, medida por TEAC e calculada pelo método ABTS seria de 3549 μmol Trolox. Esses autores concluíram que uma xícara dos chás que foram avaliados forneceu em média 1553 μmol Trolox (389,0 mg Trolox), sendo uma boa fonte de antioxidantes para a dieta humana. Portanto, os valores encontrados nesse estudo para uma xícara das bebidas de chá branco são capazes de fornecer 447,2 mg de Trolox, o que corresponde a 50,3% dessa recomendação.

Houve uma redução significativa ($p < 0,05$) da capacidade antioxidante avaliada por ABTS na presença de luz quando comparada às bebidas que foram protegidas da luz. No entanto, observou-se que, ao final do período de estocagem, todas as três formulações mantidas ao abrigo da luz se mantiveram estáveis, sem queda brusca da capacidade antioxidante avaliada por ABTS; comportamento similar foi observado para as formulações à base de chá mate (Figura 5a). Diferente resultado foi obtido para as bebidas de chá mate e branco avaliadas pelo método FRAP (Figuras 3a e 4a).

O decréscimo na capacidade antioxidante avaliada por ABTS durante o tempo de estocagem das bebidas mantidas no escuro, seguiu uma cinética de degradação de primeira ordem ($r^2 > 65,3\%$) com valores de $t_{1/2}$ e κ de 21,9 semanas e 0,032 semanas⁻¹ para mate e 48,9 semanas e 0,014 semanas⁻¹ para branco. No caso das bebidas expostas à luz, ajustes de primeira ordem ($r^2 > 70,7\%$) resultaram em valores de $t_{1/2}$ e κ de 18,2 semanas e 0,038 semanas⁻¹ para mate e 9,8 semanas e 0,071 semanas⁻¹ para branco. Os tempos de meia-vida foram maiores e as taxas de degradação menores àqueles encontrados para FRAP. Assim, os valores das constantes de degradação para ABTS nas condições de ausência/presença de luz revelaram maior estabilidade para as formulações de chá quando comparado a FRAP. No entanto, observa-se que a estabilidade dessa medida de capacidade antioxidante foi fortemente afetada pela exposição à luz das bebidas de chá branco que teve uma redução de 80% no valor do tempo de meia-vida.

A resposta desigual observada para a capacidade antioxidante pelos métodos FRAP e ABTS em nosso estudo, também foi encontrada por Coelho et al. (2020) [18]. Esses autores verificaram que a capacidade antioxidante para formulações de chá verde avaliada por FRAP e ABTS diminuiu após duas semanas de estocagem, na presença de luz, porém a queda foi maior para o ensaio FRAP. Em outro trabalho reportado por Muniandy et al. (2016) [16] a capacidade antioxidante medida por FRAP reduziu enquanto aquela avaliada por outro método de captura de radical livre (DPPH) se manteve ao longo do período de 21 dias de estocagem para três formulações de iogurte probiótico acrescido de chás verde, branco e preto a 4 °C.

Como mostrado na Figura 6b, as mesmas bebidas ao serem expostas a radiação luminosa apresentaram queda em torno de 29% na capacidade antioxidante, em apenas 2 semanas de armazenamento, indicando perda na habilidade para manter a captura do radical livre de ABTS. Semelhante queda na presença de luz foi observada para os teores de fenólicos presentes no chá branco (Figura 2b), mostrando que esses compostos são os responsáveis pela capacidade antioxidante para capturar o radical ABTS nesses chás, e que eles são sensíveis à presença de luz. Em acréscimo, ao longo do tempo e na presença da luz, houve correlação entre os compostos fenólicos e a capacidade antioxidante avaliada por ABTS (CR = 0,67; p < 0,01).

A capacidade antioxidante nesse estudo foi caracterizada pelo método FRAP, que mede o poder redutor dos antioxidantes, e o ensaio ABTS, que avalia a capacidade de capturar radicais livres pelas bebidas de chá mate e branco. Respostas diferentes podem ser obtidas entre os métodos devido ao fato de que a capacidade antioxidante não depende exclusivamente da presença de compostos fenólicos, mas sim da identidade dessas espécies existentes em uma amostra [44].

Apesar disso, houve correlação positiva e significativa entre esses dois métodos tanto na ausência (CR > 0,54; p < 0,01) quanto na presença de luz (CR > 0,67; p < 0,01). Essa correlação indica que os dois métodos apontaram decréscimos nas capacidades antioxidantes das bebidas, nas duas diferentes condições de armazenamento, com valores maiores do coeficiente de Pearson para as formulações de chá branco expostas à luz.

Devido às limitações e diferenças da maioria dos métodos *in vitro* para a determinação da capacidade antioxidante é recomendado o uso de pelo menos dois ensaios na determinação da capacidade antioxidante para matrizes alimentares, como bebidas [45]. Dessa forma, esse estudo vem corroborar com essa recomendação, ao mostrar que os dois métodos empregados para avaliação da capacidade antioxidante das bebidas de chá, ao longo do tempo de armazenamento e na presença de luz, exibiram habilidades distintas frente à presença de moléculas alvo no meio de reação.

4. CONCLUSÃO

A resposta às condições de armazenamento empregadas foi diferente para as bebidas de chá elaboradas com as espécies de *Ilex paraguariensis* e *Camelia sinensis*. A luz afeta em maior ou menor proporção os compostos responsáveis pela capacidade antioxidante nas bebidas.

As bebidas devem ser envasadas e comercializadas em embalagens que as protejam da luz, e com tempo de armazenamento de até duas semanas.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. da Silveira TFF, Meinhart AD, de Souza TCL, Cunha ECE, de Moraes MR, Godoy HT. Chlorogenic acids and flavonoid extraction during the preparation of yerba mate based beverages. Food Res Int. 2017;102:348-54. doi: 10.1016/j.foodres.2017.09.098
2. Heck CI, de Mejia EG. Yerba Mate Tea (*Ilex paraguariensis*): A Comprehensive Review on Chemistry, Health Implications, and Technological Considerations. J Food Sci. 2007;72(9):R138-51. doi: 10.1111/j.1750-3841.2007.00535.x
3. Barboza HC, Casal MM. Avaliação da influência de características sensoriais e do conhecimento nutricional na aceitação do chá-mate. Braz J Food Technol. 2018;21:e2017075. doi: 10.1590/1981-6723.7517
4. Bracesco N, Sanchez A, Contreras V, Menini T, Gugliucci A. Recent advances on *Ilex paraguariensis* research: minireview. J Ethnopharm. 2011;136(3):378-84. doi: 10.1016/j.jep.2010.06.032
5. Cardozo Junior EL, Morand C. Interest of mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) as a new natural functional food to preserve human cardiovascular health – A review. J Funct Foods. 2016;21:440-54. doi: 10.1016/j.jff.2015.12.010
6. Frizon CNT, Perussello CA, Sturion JA, Hoffmann-Ribani R. Novel beverages of yerba-mate and soy: Bioactive compounds and functional properties. Beverages. 2018;4(1):21. doi: 10.3390/beverages4010021
7. Mateos R, Baeza G, Sarriá B, Bravo L. Improved LC-MSn characterization of hydroxycinnamic acid derivatives and flavonols in different commercial mate (*Ilex paraguariensis*) brands. Quantification of

- polyphenols, methylxanthines, and antioxidant activity. *Food Chem.* 2018;241:232-41. doi: 10.1016/j.foodchem.2017.08.085
8. Kosińska A, Andlauer W. Chapter 12 - Antioxidant capacity of tea: Effect of processing and storage. In: Preedy V, editor. *Processing and impact on antioxidants in beverages*. San Diego (US): Academic Press; 2014. p. 109-120. doi: 10.1016/B978-0-12-404738-9.00012-X
 9. Xing L, Zhang H, Qi R, Tsao R, Mine Y. Recent advances in the understanding of the health benefits and molecular mechanisms associated with green tea polyphenols. *J Agric Food Chem.* 2019;67(4):1029-1043. doi: 10.1021/acs.jafc.8b06146
 10. Zhang H, Qi R, Mine Y. The impact of oolong and black tea polyphenols on human health. *Food Biosci.* 2019;29:55-61. doi: 10.1016/j.fbio.2019.03.009
 11. Pastoriza S, Mesías M, Cabrera C, Rufián-Henares JA. Healthy properties of green and white teas: an update. *Food Funct.* 2017;8(8):2650-62. doi: 10.1039/C7FO00611J
 12. Almajano MP, Carbó R, Jiménez JAL, Gordon MH. Antioxidant and antimicrobial activities of tea infusions. *Food Chem.* 2008;108(1):55-63. doi: 10.1016/j.foodchem.2007.10.040
 13. *Packaged Facts. Tea and Ready-to-Drink Tea: U.S. Retail Market.* 6th ed. United States: Packaged Facts; 2016.
 14. Xu P, Chen L, Wang Y. Effect of storage time on antioxidant activity and inhibition on α -Amylase and α -Glucosidase of white tea. *Food Sci Nutr.* 2019;7(2):636-44. doi: 10.1002/fsn3.899
 15. Hazra A, Dasgupta N, Sengupta C, Saha G, Das S. Temporal depletion of packaged tea antioxidant quality under commercial storage condition. *J Food Sci Technol.* 2020. doi: 10.1007/s13197-020-04300-0
 16. Muniandy P, Shori AB, Baba AS. Influence of green, white and black tea addition on the antioxidant activity of probiotic yogurt during refrigerated storage. *Food Packag Shelf Life.* 2016;8:1-8. doi: 10.1016/j.fpsl.2016.02.002
 17. Frizon CNT, Perussello CA, Sturion JA, Fracasso AF, Hoffmann-Ribani R. Stability of beverages of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) with soy. *Nutr Food Sci.* 2015;45(3):467-78. doi: 10.1108/NFS-09-2014-0085.
 18. Coelho KY, de Oliveira AA, Brumano MHN, Fidelis PC. Stability of total phenolic and antioxidant capacity in ready-to-drink black and green tea formulations. *Res Soc Dev.* 2020;9(10):e219108160. doi: 10.33448/rsd-v9i10.8160
 19. Singleton VL, Rossi JA. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic.* 1965;16(3):144-58.
 20. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med.* 1999;26(9-10):1231-7. doi: 10.1016/s0891-5849(98)00315-3
 21. Benzie IF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical Biochemistry.* 1996;239(1):70-6. doi: 10.1006/abio.1996.0292
 22. de Mendiburu F, de Mendiburu MF. Package 'agricolae'. R Package version 2019:1-2.
 23. Bravo L, Goya L, Lecumberri E. LC/MS characterization of phenolic constituents of mate (*Ilex paraguariensis*, St. Hil.) and its antioxidant activity compared to commonly consumed beverages. *Food Res Int.* 2007;40(3):393-405. doi: 10.1016/j.foodres.2006.10.016
 24. Santos JS, Deolindo CTP, Hoffmann JF, Chaves FC, do Prado-Silva L, Sant'Ana AS, et al. Optimized *Camellia sinensis* var. *sinensis*, *Ilex paraguariensis*, and *Aspalathus linearis* blend presents high antioxidant and antiproliferative activities in a beverage model. *Food Chem.* 2018;254:348-58. doi: 10.1016/j.foodchem.2018.02.021
 25. Rodrigues VC, da Silva MV, dos Santos AR, Zielinski AA, Haminiuk CW. Evaluation of hot and cold extraction of bioactive compounds in teas. *International J Food Sci Technol.* 2015;50(9):2038-45. doi: 10.1111/ijfs.12858
 26. Murakami ANN, Amboni RDMC, Prudêncio ES, Amante ER, Fritzen-Freire CB, Boaventura BCB, et al. Concentration of biologically active compounds extracted from *Ilex paraguariensis* St. Hil. by nanofiltration. *Food Chem.* 2013;141(1):60-5. doi: 10.1016/j.foodchem.2013.02.119
 27. Zielinski AAF, Haminiuk CWI, Alberti A, Nogueira A, Demiate IM, Granato D. A comparative study of the phenolic compounds and the *in vitro* antioxidant activity of different Brazilian teas using multivariate statistical techniques. *Food Res Int.* 2014;60:246-54. doi: 10.1016/j.foodres.2013.09.010
 28. Heck CI, Schmalko M, Gonzalez de Mejia E. Effect of growing and drying conditions on the phenolic composition of mate teas (*Ilex paraguariensis*). *J Agric Food Chem.* 2008;56(18):8394-403. doi: 10.1021/jf801748s
 29. Chang M-Y, Lin Y-Y, Chang Y-C, Huang W-Y, Lin W-S, Chen C-Y, et al. Effects of infusion and storage on antioxidant activity and total phenolic content of black tea. *Applied Sciences.* 2020;10(8):2685. doi: 10.3390/app10082685

30. Riachi LG, Simas DLR, Coelho GC, Marcellini OS, da Silva AJR, de Maria CAB. Effect of light intensity and processing conditions on bioactive compounds in maté extracted from yerba mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.). Food Chem. 2018; 266:317-22. doi: 10.1016/j.foodchem.2018.06.028
31. Nakamura T, Silva FS, da Silva DX, de Souza MW, Moya HD. Determinação da atividade antioxidante e do teor total de polifenol em amostras de chá de ervas comercializadas em sachets. ABCS Health Sciences. 2013;38(1):8-16. doi: 10.7322/abcshs.v38i1.3
32. Oh J, Jo H, Cho AR, Kim S-J, Han J. Antioxidant and antimicrobial activities of various leafy herbal teas. Food Control. 2013;31(2):403-9. doi: 10.1016/j.foodcont.2012.10.021
33. Esmelindro MC, Toniazzo G, Waczuk A, Dariva C, de Oliveira D. Caracterização físico-química da erva mate: influência das etapas do processamento industrial. Food Sci Technol. 2002;22(2):199-204. doi: 10.1590/S0101-20612002000200016
34. Berté K, Rodriguez-Amaya DB, Hoffmann-Ribani R, Junior AM. Antioxidant activity of maté tea and effects of processing. Processing and impact on antioxidants in beverages. London (UK): Academic Press; 2014. p. 145-153. doi: 10.1016/B978-0-12-404738-9.01001-1
35. Rusak G, Komes D, Likić S, Horžić D, Kovač M. Phenolic content and antioxidative capacity of green and white tea extracts depending on extraction conditions and the solvent used. Food Chem. 2008;110(4):852-8. doi: 10.1016/j.foodchem.2008.02.072
36. Zielinski AAF, Granato D, Alberti A, Nogueira A, Demiate IM, Haminiuk CWI. Modelling the extraction of phenolic compounds and *in vitro* antioxidant activity of mixtures of green, white and black teas (*Camellia sinensis* L. Kuntze). J Food Sci Technol. 2015;52(11):6966-77. doi: 10.1007/s13197-015-1797-0
37. Teixeira Neto RO, Vitali AA, Moura SCSR. Introdução à cinética de reação em alimentos. In: Moura SCSR, Germer SPM, editores. Reações de transformação e vida-de-prateleira de alimentos processados. 3. ed. Campinas (SP): ITAL; 2004. p. 25-47.
38. Damiani E, Bacchetti T, Padella L, Tiano L, Carloni P. Antioxidant activity of different white teas: Comparison of hot and cold tea infusions. J Food Compos Anal. 2014;33(1):59-66. doi: 10.1016/j.jfca.2013.09.010
39. Karori S, Wachira F, Wanyoko J, Ngure R. Antioxidant capacity of different types of tea products. African Journal of Biotechnology. 2007;6(19):2287-96. doi: 10.5897/AJB2007.000-2358
40. Cordero C, Canale F, Rio DD, Bicchi C. Identification, quantitation, and method validation for flavan-3-ols in fermented ready-to-drink teas from the Italian market using HPLC-UV/DAD and LC-MS/MS. J Sep Sci. 2009;32(21):3643-51. doi: 10.1002/jssc.200900369
41. Rodrigues MJ, Neves V, Martins A, Rauter AP, Neng NR, Nogueira JMF, et al. In vitro antioxidant and anti-inflammatory properties of *Limonium algarvense* flowers' infusions and decoctions: A comparison with green tea (*Camellia sinensis*). Food Chem. 2016;200:322-9. doi: 10.1016/j.foodchem.2016.01.048
42. Aron PM, Kennedy JA. Flavan-3-ols: nature, occurrence and biological activity. Mol Nutr Food Res. 2008 Jan;52(1):79-104. doi: 10.1002/mnfr.200700137
43. Jiménez-Zamora A, Delgado-Andrade C, Rufián-Henares JA. Antioxidant capacity, total phenols and color profile during the storage of selected plants used for infusion. Food Chem. 2016;199:339-46. doi: 10.1016/j.foodchem.2015.12.019
44. Bastos DH, Saldanha LA, Catharino RR, Sawaya AC, Cunha IB, Carvalho PO, et al. Phenolic antioxidants identified by ESI-MS from Yerba maté (*Ilex paraguariensis*) and green tea (*Camellia sinensis*) extracts. Molecules (Basel, Switzerland). 2007 Mar;12(3):423-32. doi: 10.3390/12030423
45. Schlesier K, Harwat M, Böhm V, Bitsch R. Assessment of antioxidant activity by using different *in vitro* methods. Free Radic Res. 2002 Feb;36(2):177-87. doi: 10.1080/10715760290006411