

Determinação de compostos fenólicos em amostras comerciais de chás verde e preto - *Camellia sinensis* (L.) Kuntze, Theaceae

Airton Vicente Pereira^{1*}, Thaila Coradassi de Almeida¹, Flávio Luís Beltrame¹, Maria Eugênia Costa² e Lúcia Helena Garrido³

¹Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Av. General Carlos Cavalcanti, 4748, 84030-900, Ponta Grossa, Paraná, Brasil. ²Departamento de Biologia Geral, Laboratório de Anatomia Botânica, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, Paraná, Brasil. ³Departamento de Química, Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, Paraná, Brasil. *Autor para correspondência. E-mail: airtonvp@uepg.br

RESUMO. O chá de *Camellia sinensis* é rico em compostos fenólicos antioxidantes, responsáveis por efeitos benéficos à saúde humana. Neste trabalho, foram realizadas as determinações da concentração de fenóis totais e flavonoides de sete amostras comerciais dos chás preto e verde. Os teores de fenóis totais variaram de 4,80 a 26,60 mg de pirogallol g⁻¹ de amostra e os de flavonoides, de 0,46 a 1,10 mg de quercetina g⁻¹ de amostra. A análise anatômica do conteúdo das amostras permitiu caracterizar a autenticidade dos produtos, observando-se os marcadores anatômicos típicos da espécie (estômatos anomocíticos, tricomas tectores unicelulares, mesofilo dorsiventral, drusas de oxalato de cálcio e esclereides).

Palavras-chave: *Camellia sinensis*, chá verde, chá preto, fenóis totais, flavonoides, caracterização anatômica.

ABSTRACT. Determination of phenolic compounds in commercial samples of green and black tea - *Camellia sinensis* (L.) Kuntze, Theaceae. The tea from *Camellia sinensis* (green tea and black tea) is rich in antioxidant phenolic compounds, responsible for beneficial effects to human health. In this work, determinations were carried out on the concentration of total phenols and flavonoids in seven commercial samples of black tea and green tea. The samples presented concentrations of total phenols varying between 4.80 and 26.60 mg of pyrogallol g⁻¹ and concentrations of flavonoids from 0.46 to 1.10 mg of quercetin g⁻¹. With the purpose of characterizing the authenticity of the product contained in the sachets, the samples were fixed for histological studies. The samples presented the typical anatomical markers of the species (anomocytic stomata, unicellular non-glandular trichomes, dorsiventral mesophyll, calcium oxalate druses and sclereids).

Key words: *Camellia sinensis*, green tea, black tea, total phenols, flavonoids, anatomical characterization.

Introdução

Dados da Organização Mundial da Saúde estimam que 80% da população mundial utilizam plantas medicinais com finalidade terapêutica (WHO, 1998). O chá obtido por infusão é a forma mais popular de uso, contribuindo para a prevenção e o tratamento de doenças pela presença de compostos biologicamente ativos, como os polifenóis (SCHMITZ et al., 2005). Portanto, é de grande importância estabelecer padrões que assegurem a qualidade das plantas medicinais.

As folhas do chá verde - *Camellia sinensis* (L.) Kuntze - Theaceae contêm proteínas (15 a 20%), glicídios (5%), ácido ascórbico, vitaminas do complexo B e bases púricas, especialmente cafeína (2 a 4%), polifenóis (30%): monosídeos de flavonóis e flavonas, catequina, epicatequina e galato de epicatequina, além de taninos condensados e hidrolisáveis. A composição do chá varia com a estação do ano, o clima, a idade da folha e a variedade do chá (GRAHAM, 1992).

Os compostos fenólicos da classe dos flavan-3-óis, (catequinas, em especial, epigallocatequina e epicatequina) são os principais componentes químicos terapêuticos da planta *C. sinensis*, sendo potentes antioxidantes e inibidores da lipoperoxidação, protegendo componentes proteicos e DNA celular (VINSON; DABBAGH, 1998; HIGDON; FREI, 2003; GIADA; FILHO, 2006; DOU et al., 2008).

C. sinensis é cultivada em vários países e amplamente consumida em todo o mundo com as designações de chá verde, chá preto e semifermentado. Para se produzir o chá verde, as folhas recentemente colhidas são cozidas no vapor para se prevenir a fermentação, resultando em produto estável. Na obtenção do chá preto, as folhas são secas, reduzindo-se o seu conteúdo de umidade, até que o seu peso seja 55% do peso da folha original. Posteriormente, as folhas são trituradas,

iniciando-se a oxidação e dimerização das catequinas, muito importantes para o desenvolvimento da cor e sabor da bebida (GRAHAM, 1992; CRESPIY; WILLIAMSON, 2004; MATSUBARA; RODRIGUEZ-AMAYA, 2006a). A fermentação converte catequinas em teaflavinas e tearubiginas, reduzindo o conteúdo de catequinas, embora pesquisas relatem que catequinas e teaflavinas apresentem atividades antioxidantes similares (LEUNG et al., 2001). O chá de *oolong* é um produto parcialmente oxidado (GRAHAM, 1992; CRESPIY; WILLIAMSON, 2004).

Vários estudos demonstram que os compostos polifenólicos podem reduzir o risco de muitas doenças. Há evidências de que o chá verde possa ser utilizado na prevenção de doenças cardiovasculares ao diminuir os níveis de LDL e VLDL plasmáticos e ao proteger o organismo de radicais livres (VINSON; DABBAGH, 1998; YANG; LANDAU, 2000; CRESPIY; WILLIAMSON, 2004; CABRERA et al., 2006).

A atividade antitumoral (SETIAWAN et al., 2001; HONG et al., 2002; YANG et al., 2002; JIAN et al., 2004) e outras funções fisiológicas como controle de peso corporal, atividade antibacteriana e antiviral, proteção contra raios ultravioleta e propriedades neuroprotetoras (CABRERA et al., 2006) têm sido relacionadas com o consumo do chá verde, embora a concentração plasmática de catequinas, após o consumo do chá, seja baixa e a concentração de teaflavinas e a de tearubiginas não estejam muito bem estabelecidas (LEE et al., 2000; RIEMERSMA et al., 2001).

Além das catequinas, outros compostos polifenólicos de interesse são os flavonoides, principalmente os glicosilados e ainda teogalina, quercetina, miricetina e canferol (HERTOG et al., 1993; MATSUBARA; RODRIGUEZ-AMAYA, 2006b).

Pela semelhança estrutural, os flavonoides presentes no chá verde possuem propriedades análogas às catequinas, derivadas de sua atividade antioxidante, sendo possivelmente ativos em neoplasias, doenças cardiovasculares e inflamatórias (COOK; SAMMAN, 1996; HOLLMAN; KATAN, 1997; PIETTA, 2000; WANG et al., 2000).

As determinações de fenóis totais e flavonoides da *C. sinensis* podem ser realizadas por meio de vários métodos analíticos, incluindo-se a cromatografia líquida de alta eficiência e a espectrometria de massa e de ionização por *eletrospray* (LEE et al., 2000; MIKETOVA et al., 2000; ZUO et al., 2002) e espectrofotométrica (PRADO et al., 2005; LAGO et al., 2007).

Neste trabalho, foram determinadas as concentrações de fenóis totais e flavonoides em amostras comerciais de *C. sinensis* (chás verde e preto). As metodologias foram adaptadas da Farmacopeia Brasileira IV. As amostras comerciais (*sachês* e granel) foram submetidas à comprovação da espécie pela avaliação morfoanatômica.

Material e métodos

Aquisição dos chás

Amostras comerciais de chá verde (A, B, C e D, sendo esta última a granel) e de chá preto (E, F e G) foram adquiridas em supermercados da cidade de Ponta Grossa, Estado do Paraná, durante o período de agosto de 2007 a dezembro de 2008.

Preparação dos chás

As amostras foram preparadas de modo semelhante ao recomendado nas embalagens com a finalidade de se avaliar o conteúdo de fenóis totais e flavonoides ingeridos ao se consumir uma xícara do chá. Para cada marca comercial, o *sachê* ou 1 g dos fragmentos (folhas e talos) da amostra a granel foram transferidos para erlenmeyer sendo adicionados 100 mL de água destilada. Para a avaliação do efeito do tempo de aquecimento na concentração dos fenóis totais e flavonoides, as amostras foram submetidas ao aquecimento por 1, 3 e 5 min. A seguir, cada *sachê* foi mantido sob agitação manual por 1 min. Então, as amostras foram filtradas e coletadas em balões volumétricos de 100 mL. O volume foi completado com água para se corrigir perda por evaporação. Esta solução foi utilizada nas determinações de fenóis totais e flavonoides. As análises foram realizadas em triplicata.

Determinação dos teores de fenóis totais

O teor de fenóis totais foi determinado pelo método de Folin-Denis (BELTRAME et al., 2009; FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2002). Alíquotas de 500 μ L do chá (filtrado) foram transferidas para tubos de ensaio, seguidas da adição de 200 μ L do reagente de Folin-Denis e com o volume ajustado para 5 mL com carbonato de sódio a 10,6% ($m v^{-1}$). Após 3 min., foi realizada a leitura das absorbâncias em 715 nm, utilizando-se um espectrofotômetro BioSystems - modelo BTS-330. O branco foi preparado da mesma forma, substituindo-se a solução-amostra por água destilada. Os resultados foram expressos em mg de pirogalol g^{-1} de amostra. A curva de calibração foi realizada com cinco concentrações conhecidas de pirogalol (1, 2, 4, 6 e 8 $\mu g mL^{-1}$) a partir de uma solução-estoque de 1.000

$\mu\text{g mL}^{-1}$, da mesma forma como descrito para as amostras.

Determinação dos teores de flavonoides

A concentração de flavonoides foi determinada, adaptando-se o método descrito na Farmacopeia Brasileira (2002). Alíquotas de 5 mL dos chás foram transferidas para balões volumétricos de 10 mL, foram adicionados 500 μL de solução metanólica de cloreto de alumínio a 2% (m v^{-1}) e o volume completado com solução metanólica de ácido acético a 5% (v v^{-1}). Após 30 min., as absorvâncias foram lidas em 425 nm, utilizando-se um espectrofotômetro BioSystems, modelo BTS-330. Para cada amostra foi preparado um branco, transferindo-se uma alíquota de 5 mL da amostra e ajustando-se o volume para 10 mL com solução metanólica de ácido acético a 5% (v v^{-1}). A curva de calibração foi realizada com concentrações de 1, 2, 4, 6, 8 e 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de quercetina, transferindo-se volumes adequados de uma solução-estoque de 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Avaliação morfoanatômica

Com o objetivo de se confirmar a espécie *C. sinensis* em cada amostra, foi realizada a morfodiagnose dos fragmentos encontrados nos sachês ou das folhas quase inteiras, como no caso da amostra a granel. Os fragmentos de folhas foram retirados dos sachês de chá e clarificados com hipoclorito de sódio durante 2 a 3 min. e em solução de hidróxido de sódio a 5% por sete dias. Exceção foi feita à amostra a granel que, por apresentar folhas e talos inteiros, foi seccionada no sentido transversal à mão livre. A seguir, as amostras foram lavadas, desidratadas e coradas com safranina (1% solução aquosa) ou azul de astra e fucsina básica e montadas em gelatina glicerina para obtenção de lâminas histológicas. Fotomicrografias foram feitas em fotomicroscópio Olympus CX 31, equipado com acessório fotográfico Olympus C 7070.

Análise estatística

A análise de variância - Anova (BERQUÓ et al., 1981) foi realizada, utilizando-se o programa Microsof Excel para comparação dos teores médios de fenóis totais e flavonoides. O teste de Tukey (significância de 5%) foi aplicado para se analisar quais médias diferiam entre si.

Resultados e discussão

Determinação dos teores de fenóis totais

Ensaios preliminares foram realizados para se

verificar o efeito do tempo de aquecimento (1, 3 e 5 min.) sobre a concentração de fenóis totais. Como pode ser observado na Figura 1, houve aumento da concentração de fenóis totais com o aumento no tempo de infusão. As concentrações variaram de 1,0 a 15,8, de 3,2 a 17,6 e de 5,4 a 28,7 mg de pirogalol g^{-1} de amostra, após os tempos de 1, 3 e 5 min. de aquecimento, respectivamente.

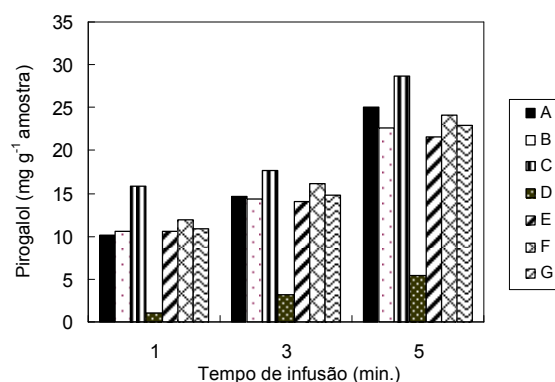


Figura 1. Concentração de fenóis totais (expressa em pirogalol mg g^{-1}) em amostras comerciais de chá verde (A, B e C), chá verde (D, granel) e chá preto (E, F e G).

O tempo de 5 min. de aquecimento foi estabelecido como ideal para extração de maior quantidade de polifenóis sem perda expressiva de água por evaporação. Para se determinar a precisão dos resultados, novas determinações foram realizadas em triplicata. Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Teores de fenóis totais e flavonoides em amostras comerciais de chá verde e chá preto no tempo de infusão de 5 min.

Amostras	Fenóis totais (mg pirogalol g^{-1} de amostra \pm s)	Flavonoides (mg quercetina g^{-1} de amostra \pm s)
Chá Verde A	23,73 \pm 2,25	0,68 \pm 0,041
Chá Verde B	21,83 \pm 1,91	0,85 \pm 0,072
Chá Verde C	26,60 \pm 0,56	1,10 \pm 0,058
Chá Verde D	4,80 \pm 0,10	0,61 \pm 0,025
Chá Preto E	17,73 \pm 1,14	0,46 \pm 0,010
Chá Preto F	20,67 \pm 0,70	0,65 \pm 0,056
Chá Preto G	23,33 \pm 0,55	0,96 \pm 0,045

A curva de calibração, utilizando pirogalol, apresentou linearidade na faixa de 1 a 8 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e a equação da reta expressa por $y = 0,0875x + 0,0289$, em que y é a absorvância e x, a concentração de pirogalol em $\mu\text{g mL}^{-1}$, com um coeficiente de correlação de 0,9983.

A análise estatística dos teores médios de fenóis totais demonstrou que a amostra D (granel) difere significativamente ($p < 0,05$) das demais amostras

de chá verde; entretanto, as amostras A, B e C não diferem significativamente entre si. A concentração significativamente menor de fenóis totais da amostra de chá verde a granel pode ser atribuída à granulometria. A presença de material botânico, que não esteja finamente dividido, diminui a eficiência da extração. Nas amostras comercializadas na forma de *sachês*, o material vegetal está completamente fragmentado, aumentando a superfície de contato com o líquido extrator.

Os teores de fenóis totais das amostras de chá preto também diferiram significativamente ($p < 0,05$) daqueles das amostras de chá verde.

Determinação dos teores de flavonoides

Ensaio preliminares foram realizados para se avaliar o efeito do tempo de aquecimento sobre a extração de flavonoides. Da mesma forma que para os fenóis totais, os resultados apresentados na Figura 2 indicam que o teor de flavonoides aumentou com tempo de infusão. A variação foi similar para todas as amostras de chás verde e preto. As concentrações variaram de 0,12 a 0,41, de 0,20 a 0,88 e de 0,49 a 1,10 mg de quercetina g^{-1} de amostra, para tempos de aquecimento de 1, 3 e de 5 min., respectivamente.

De maneira similar à realizada na determinação de fenóis totais, o tempo de aquecimento foi fixado em 5 min. para extração de maior teor de flavonoides, sem perda significativa de água por evaporação.

A curva de calibração, utilizando quercetina como padrão de flavonoides, apresentou linearidade na faixa de 1 a 10 $\mu g mL^{-1}$, com equação linear da reta expressa por $y = 0,0582x - 0,0041$, em que y é a absorbância e x , a concentração de quercetina em $\mu g mL^{-1}$, com coeficiente de correlação de 0,9987.

Os resultados das análises realizadas em triplicata estão apresentados na Tabela 1. A análise estatística evidenciou que os teores médios de flavonoides diferem significativamente entre si ($p < 0,05$), mesmo quando se consideram apenas as amostras de chá verde ou preto.

As concentrações de fenóis totais e flavonoides, obtidas neste trabalho, foram inferiores às descritas na literatura. Sakanaka et al. (1989) citam que, em uma xícara comum (100 mL) de chá verde, há cerca de 50-100 mg de polifenóis, enquanto Riemersma et al. (2001) relatam que a concentração de fenólicos, numa xícara de chá verde comum, varia de 24 a 40 mg de catequinas, 8 a 15 mg de flavonoides, 85

mg de tearubiginas e de 7 a 15 mg de teaflavinas que, juntos, perfazem aproximadamente 166 a 193 mg de fenólicos por xícara. No chá preto, o conteúdo de fenólicos totais, expresso em catequina, variou de 39,25 a 99,77 $mg g^{-1}$, dependendo do tempo de infusão (3 a 10 min.) (LIMA et al., 2004).

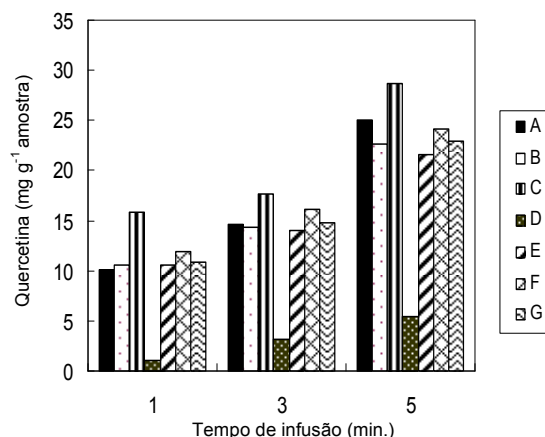


Figura 2. Concentração de flavonoides (expressa em mg de quercetina g^{-1} de amostra) em amostras comerciais de chá verde (A, B e C), chá verde (D, granel) e chá preto (E, F e G).

As diferenças nos teores de fenóis totais e flavonoides entre as amostras de chá verde e de chá preto podem ser atribuídas à variação da composição do chá com a estação do ano, o clima e a idade da folha (GRAHAM, 1992). Além disso, outro fator que poderia influenciar estes teores é o fato de as catequinas do chá verde serem oxidadas e dimerizadas no processo de obtenção do chá preto, formando as teaflavinas, ou polimerizadas, resultando em tearubiginas (LEUNG et al., 2001).

Avaliação morfoanatômica

Nos fragmentos de folhas analisados, foram identificados esclerereídes de formato irregular (Figuras 3A e B) e tricomas tectores unicelulares de parede espessada e lignificada (Figura 3C), sendo estes, segundo diversos autores citados por Duarte e Menarim (2006), os mais relevantes marcadores anatômicos da espécie. Caracteres anatômicos adicionais, como estômatos anomocíticos exclusivamente na face abaxial (Figura 3D), mesófilo dorsiventral (Figura 1A), feixes vasculares colaterais e presença de drusas (Figuras 3A e B) corroboram as descrições de Claus (1961) e Duarte e Menarim (2006) para a espécie.

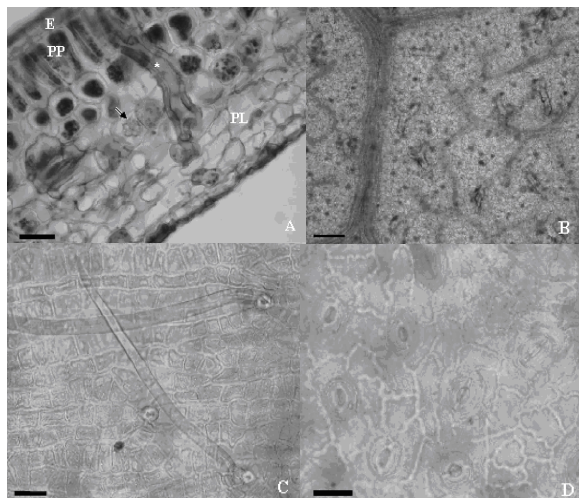


Figura 3. A) Secção transversal da folha evidenciando esclereide (*) e drusa (seta), escala 2,5 μm .; B) Aspecto geral da folha em vista frontal, escala 10 μm .; C) Detalhe dos tricomas unicelulares, escala 2,5 μm .; D) Detalhe dos estômatos em vista frontal da epiderme da face abaxial da folha, escala 2,5 μm .; E= epiderme; PL = parênquima clorofiliano lacunoso; PP= parênquima clorofiliano paliçádico.

Conclusão

Os teores de fenóis totais e flavonoides aumentaram com o tempo de aquecimento na preparação da infusão e variaram significativamente entre as amostras de chá verde e de chá preto. As diferenças nos teores de compostos polifenólicos podem ser atribuídas às alterações na composição do chá com a estação do ano, o clima e a idade da folha utilizada, à granulometria (amostra a granel) e ao processo de obtenção do chá preto. As amostras apresentaram esclereídes e tricomas unicelulares lignificados, marcadores anatômicos típicos da espécie, permitindo a confirmação da identidade das amostras de *C. sinensis*.

Referências

- 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.
- BERQUÓ, E. S.; SOUZA, J. M. P.; GOTLIEB, S. L. D. **Bioestatística**. São Paulo: EPU, 1981.
- CABRERA, C., ARTACHO, R., GIMENEZ, R. Beneficial effects of green tea - a review. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 25, n. 2, p. 79-99, 2006.
- CLAUS, E. P. **Pharmacognosy**. Philadelphia: Lea and Febiger, 1961.
- COOK, N. C.; SAMMAN, S. Flavonoids: chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources.

The Journal of Nutrition Biochemistry, v. 7, n. 2, p. 66-76, 1996.

CRESPY, V.; WILLIAMSON, G. A review of the health effects of green tea catechins in vivo animal models. **Journal of Nutrition**, v. 134, n. 3, p. 3431S-3440S, 2004.

DOU, Q. P.; CHAN, T. H.; SMITH, D. M. **Polyphenol proteasome inhibitors, synthesis, and methods of use**. 2008. United States Patent, 7358383.

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.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 2002.

GIADA, M. L. R.; FILHO, J. M. Importância dos compostos fenólicos da dieta na promoção da saúde humana. **Revista Publicatio UEPG - Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 12, n. 4, p. 7-15, 2006.

GRAHAM, H. N. Green tea composition, consumption, and polyphenol chemistry. **Preventive Medicine**, v. 21, n. 3, p. 334-350, 1992.

HERTOG, M. G. L.; HOLLMAN, P. C. H.; VAN DER PUTTE, B. Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of tea infusions, wines and fruit juices. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 41, n. 2, p. 1242-1246, 1993.

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

HOLLMAN, P. C. H.; KATAN, M. B. Absorption, metabolism and health effects of dietary flavonoids in man. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 51, n. 8, p. 305-310, 1997.

HONG, J.; LU, H.; MENG, X.; RYU, J. H.; HARA Y.; YANG, C. S. Stability, cellular uptake, biotransformation, and efflux of tea polyphenol(-)-epigallocatechin-3-gallate in HT-29 human colon adenocarcinoma cells. **Cancer Research**, v. 62, n. 24, p. 7241-7246, 2002.

JIAN, L.; XIE, L. P.; LEE, A. H.; BINNS, C. W. Protective effect of green tea against prostate cancer: a case-control study in southeast China. **International Journal of Cancer**, v. 108, n. 1, p. 130-135, 2004.

LAGO, D. F.; PAULA, J. R.; BARA, M. T. F. Estudo comparativo sobre a eficiência de métodos de extração dos polifenóis do chá verde (*Camellia sinensis*). **Revista Eletrônica de Farmácia**, supl. 4, n. 2, p. 28-31, 2007.

LEE, M. J.; PRABHU, S.; MENG, X.; LI, C.; YANG, C. S. An improved method for the determination of green and black tea polyphenols in biomatrices by high-performance liquid chromatography with coulometric array detection. **Analytical Biochemistry**, v. 279, n. 2, p. 164-169, 2000.

LEUNG, L. K.; SU, Y.; CHEN, R.; ZHANG, Z.; HUANG, Y.; CHEN, Z. Y. Teaflavins in black tea and catechins in green tea are equally effective antioxidants. **Journal of Nutrition**, v. 131, n. 9, p. 2248-2251, 2001.

- LIMA, V. L. A. G.; MÉLO, E. A.; LIMA, D. E. S. Nota prévia: teor de compostos fenólicos totais em chás brasileiros. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 7, n. 2, p. 187-190, 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.
- 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.
- MIKETOVA, P.; SCHRAM, K. H.; WHITNEY, J.; LI, M.; HUANG, R.; KERNS, E.; VALCIC, S.; TIMMERMANN, B. N.; ROURICK, R.; KLOHR, S. Tandem mass spectrometry studies of green tea catechins. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 35, n. 7, p. 860-869, 2000.
- PIETTA, P. G. Flavonoids as antioxidants. **Journal of Natural Products**, v. 63, n. 7, p. 1035-1042, 2000.
- PRADO, C. C.; ALENCAR, R. G.; PAULA, J. R.; BARA, M. T. F. Avaliação do teor de polifenóis de *Camellia sinensis* (chá verde). **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 2, n. 2, p. 164-167, 2005.
- RIEMERSMA, R. A.; RICE-EVANS, C. A.; TYRRELL, R. M.; CLIFFORD, M. N.; LEAN, M. E. J. Tea flavonoids and cardiovascular health. **Q J Medicals**, v. 94, n. 5, p. 277-282, 2001.
- SAKANAKA, S.; KIM, M.; TANIGUCHI, M.; YAMAMOTO, T. Antibacterial substances in japanese green tea extract against *Streptococcus mutans*, a cariogenic bacterium. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 53, n. 2, p. 2307-2311, 1989.
- SCHMITZ, W.; SAITO, A. Y.; ESTEVÃO, D.; SARIDAKI, H. O. O chá verde e suas ações como quimioprotetor. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 26, n. 2, p. 119-130, 2005.
- SETIAWAN, V. W.; ZHANG, Z. F.; YU, G. P.; LU, Q. Y.; LI, Y. L.; LU, M. L.; WANG, M. R.; GUO, C. H.; YU, S. Z. Protective effect of green tea on the risks of chronic gastritis and stomach cancer. **International Journal of Cancer**, v. 92, n. 4, p. 600-604, 2001.
- VINSON, J. A.; DABBAGH, Y. A. Tea phenols: antioxidant effectiveness of teas, tea components, tea fractions and their binding with lipoproteins. **Nutrition Research**, v. 18, n. 6, p. 1067-1075, 1998.
- WANG, H.; PROVAN, G. J.; HELLIWELL, K. Tea flavonoids: their functions, utilization and analysis. **Trends in Food Science and Technology**, v. 11, n. 4-5, p. 152-160, 2000.
- WHO-World Health Organization. **Quality control methods for medicinal plant materials**. Geneva, 1998.
- YANG, C. S.; LANDAU, J. M. Effects of tea consumption on nutrition and health. **Journal of Nutrition**, v. 130, n. 1, p. 2409-2412, 2000.
- YANG, C. S.; MALIAKAL, P.; MENG, X. Inhibition of carcinogenesis by tea. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 42, p. 25-54, 2002.
- ZUO, Y.; CHEN, H.; DENG, Y. Simultaneous determination of catechins, caffeine and gallic acids in green, oolong, black and pu-erh teas using HPLC with a photodiode array detector. **Talanta**, v. 57, n. 2, p. 307-316, 2002.

Received on January 29, 2009.

Accepted on April 27, 2009.

License information: This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.