

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO ÓLEO VOLÁTIL E EXTRATOS ETANÓLICOS DE FOLHAS E RAMOS DE *ILEX PARAGUARIENSIS* A. ST.-HIL. (ERVA-MATE)

Marcos Antonio Afonso¹Lidiane da Silva Bonapaz¹Moisés Santos Dutra²Vanessa Backes Nascimento Diel¹Leandro Nicolodi Francescato³Renata Voltolini Velho¹

RESUMO

Dentre as inúmeras espécies da flora nativa brasileira, encontra-se a *Ilex paraguariensis*, conhecida popularmente como erva-mate. Estudos atribuem diversas atividades biológicas para essa espécie. O trabalho teve por objetivo avaliar a atividade antifúngica e antibacteriana do óleo volátil, extrato das folhas e dos ramos da *I. paraguariensis*. O material vegetal foi coletado na URI (28°16'41.4"S 54°16'13.0"W) em Santo Ângelo – RS/Brasil, sendo moído e filtrado e o óleo volátil obtido por hidrodestilação. A atividade antimicrobiana foi avaliada empregando a técnica de difusão em meio sólido *Brain heart infusion* (BHI). As bactérias utilizadas foram *Corynebacterium fimi*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enteritidis* e *Escherichia coli*. Para a atividade antifúngica, foi empregado o método de difusão em meio sólido ágar *Patato dextrose* (PDA), e os fungos utilizados foram *Aspergillus phoenicis* isolado, *Aspergillus niger*, *Fusarium sp.* e *Fusarium sp.* isolado clínico. As alíquotas empregadas foram as mesmas, tanto para as bactérias quanto para os fungos, de 25 e 50 µL nas concentrações de 50 e 100 mg/mL do óleo e extratos. Os resultados obtidos, quando comparados aos resultados de inibição do antifúngico comercial Fox®, usados como padrão comparativo, comprovaram a acentuada atividade antimicrobiana apresentada pelo óleo de *I. paraguariensis*. Entre os diferentes extratos testados, o de folhas apresentou melhor resultado para atividade antimicrobiana, com a concentração de 100 mg/mL do óleo. O óleo volátil de *I. paraguariensis*, por apresentar halos de inibição superiores a 10 mm, indica uma boa atividade antimicrobiana.

Palavras Chaves: Atividade Antimicrobiana; *Ilex paraguariensis*; Óleo Volátil e Extratos.

ABSTRACT

Evaluation of the antimicrobial activity of volatile oil and ethanolic extracts of leaves and branches of *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. (Erva-mate). Among the many species of Brazilian native flora is *Ilex paraguariensis*, popularly known as *erva-mate*. Studies attribute several biological activities to this species. The objective of this work was to evaluate the antifungal and antibacterial activity of the volatile oil, extract of

¹ Depto. de Ciências Biológicas, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Campus Santo Ângelo, Santo Ângelo, RS, Brasil. E-mail para correspondência: backes_nascimento@yahoo.com.br

² Instituto de Pesquisas Biomédicas (IPB), Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul – PUCRS, Porto Alegre, RS, Brasil.

³ Depto. de Ciências da Saúde, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Santo Ângelo, RS, Brasil.

the leaves and the branches of the *I. paraguariensis*. The plant material was harvested at URI (28 ° 16'41.4 "S 54 ° 16'13.0" W) in Santo Ângelo - RS / Brazil, being ground and filtered and the volatile oil obtained by hydrodistillation. The antimicrobial activity was evaluated using the Brain Heart infusion (BHI) solid medium. The bacteria used were *Corynebacterium fimi*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enteritidis* and *Escherichia coli*. For antifungal activity the method of diffusion in agar medium Potato dextrose agar (PDA) was used. The fungi used were *Aspergillus phoenicis* isolated, *Aspergillus niger*, *Fusarium sp.* and *Fusarium sp.* isolated clinic. The aliquots employed were the same for both bacteria and fungi of 25 and 50 µL at the concentrations of 50 and 100 mg / mL of oil and extracts. The results obtained, when compared to the results of inhibition of Fox® commercial antifungal, used as a comparative standard, proved the marked antimicrobial activity of *I. paraguariensis* oil. Among the different extracts tested, the leaves showed better results for antimicrobial activity with the concentration of 100mg /mL of the oil. The volatile oil of *I. paraguariensis*, due to the presence of inhibition halos greater than 10 mm indicates a good antimicrobial activity.

Keywords: Antimicrobial Activity; *Ilex paraguariensis*; Volatile Oil and Extracts.

INTRODUÇÃO

O Brasil apresenta uma extensa biodiversidade em sua flora e fauna, com um número inestimável de espécies (Fenner *et al.*, 2006). Ainda, por ser um país de caráter tropical, essas plantas produzem de três a quatro vezes mais constituintes químicos ativos, quando comparadas às plantas de áreas onde o clima é temperado. Dessa forma, as espécies brasileiras demonstram relevância mundial na busca de produtos naturais, com potencial atividade biológica e utilização industrial (Cavalcanti *et al.*, 2012; Yu *et al.*, 2015).

Dentre as inúmeras espécies da flora nativa brasileira, com propriedades biológicas de interesse, encontra-se a *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. (Aquifoliaceae), espécie conhecida popularmente como erva-mate. É distribuída no Brasil nos estados do Paraná, Santa Catarina, Rio Grande do Sul, em algumas áreas do Mato Grosso do Sul e ainda no Paraguai, Argentina e Uruguai. (Burriss *et al.*, 2011). Apresenta grande importância econômica, social e cultural nessas regiões. Nos Estados Unidos, está crescendo, em popularidade, como um suplemento e/ou ingrediente alimentar. (Yu *et al.*, 2015).

As folhas e ramos da erva-mate são utilizados, principalmente, na produção de bebidas como chimarrão, tererê e chás (de Moraes *et al.*, 2009). Estudos recentes têm revelado importantes substâncias químicas que compõem o perfil fitoquímico dessa planta: flavonóides, terpenóides, metilxantinas, saponinas, taninos, carotenóides, aminoácidos, ácidos graxos, carboidratos, proteínas, glicídios, vitaminas e minerais (Gnoatto *et al.*, 2005; Heck e Mejia, 2007).

Vários estudos sugerem que o consumo dos produtos oriundos da erva-mate apresentam atividade antioxidante, antiobesidade, antidiabética, estimulante e capacidade diurética (Filip *et al.*, 2010, Pagliosa 2010; Yu *et al.*, 2015). Pesquisas vêm demonstrando a atividade antibacteriana e antifúngica da erva-mate e a necessidade de maiores estudos (Burriss *et al.*, 2011; Cornellas *et al.*, 2011; Petrović *et al.*, 2012). Nesse sentido, o presente trabalho objetivou avaliar a atividade antifúngica e antibacteriana do óleo volátil, extrato das folhas e dos ramos da *I. Paraguariensis* A. St. Hil.

MATERIAIS E MÉTODOS

Preparação do material vegetal

Folhas e ramos da *I. paraguariensis* A. St. Hil. foram coletados na Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI Campus de Santo Ângelo, sob as coordenadas geográficas (28°16'41,4"S, 54°16'13"W), no mês de agosto de 2015, no município de Santo Ângelo, Rio Grande do Sul, Brasil. Para obtenção do óleo volátil, foram utilizadas 800 gramas de folhas frescas, lavadas com água corrente, separadas para a moagem e extração do óleo. Para obtenção dos extratos, as folhas frescas foram separadas, lavadas, secas em sombra e pesaram 500g. Posteriormente, o material foi moído e macerado por 72 horas, submerso em 400 ml de etanol 70%, com renovação de solvente a cada 24 horas. Em seguida, foi realizada a filtração com papel filtro e evaporado com auxílio de rotaevaporador. Após evaporar, o extrato foi pesado, obtendo 0,857g, um rendimento de 5,8%. Previamente à avaliação da atividade antimicrobiana, os extratos foram diluídos em etanol 70% nas concentrações de 100 mg/mL e 50 mg/mL. O etanol 70% foi escolhido como diluente por ter sido testado nos microrganismos e não apresentar atividade antimicrobiana. O óleo foi extraído por hidrodestilação, em aparelho tipo Clevenger (F. Bras. V, 2010), durante 4 horas. O óleo volátil não foi diluído. Os rendimentos foram calculados em termos de porcentagem conforme (Mendes *et al.*, 2006).

Atividade Antibacteriana

A atividade antibacteriana dos extratos de folha, ramos e do óleo volátil da erva-mate foi determinada como descrito por (De Biasi *et al.*, 2009), com modificações. Uma alíquota de 25 µL e 50 µL dos extratos e do óleo volátil foi aplicada na placa de Petri, contendo ágar *Brain heart infusion* (BHI – HIMEDIA/Índia) previamente inoculada, com uma suspensão da linhagem indicadora (Tabela 1), em solução fisiológica com turvação equivalente ao padrão 0,5 da escala de McFarland (aproximadamente $1,5 \times 10^6$ UFC/mL). As placas foram incubadas por 24h, a 37°C, e, então, as zonas de inibição ao redor dos discos foram mensuradas com auxílio de régua. Os microrganismos foram considerados resistentes (R) aos extratos, quando o halo de inibição se apresentou inferior a 10mm. Quando não houve crescimento ou inibição total, foram considerados não determinados (ND). O experimento foi realizado em triplicata, no qual foi calculado a média e distribuída em tabela. Solução salina foi empregada como controle negativo.

Os microrganismos utilizados foram: *Corynebacterium fimi* NCTC 7547, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Bacillus cereus* ATCC 9634, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Salmonella enteritidis* ATCC, *Escherichia coli* ATCC 25922 e *Escherichia coli* comensal.

Atividade Antifúngica

A atividade antifúngica dos extratos e do óleo volátil da erva-mate foi avaliada em placas com ágar *Patato dextrose* (PDA -Difco, USA), conforme descrito por (Benitez *et al.*, 2010). Em torno do disco central da espécie fúngica (0,5 cm de diâmetro), discos de papel filtro (Whatman, tipo 3) estéreis (0,5 cm) foram colocados a 1 cm a partir dele. Alíquotas de 25 µL e 50 µL do óleo volátil e do extrato foram então aplicadas

nesses discos. As placas foram incubadas a 30°C, durante 48 horas ou até que o crescimento do micélio, a partir do disco central, envolvesse o disco periférico contendo o controle negativo (solução salina). Os fungos foram considerados resistentes (R) aos extratos quando não foi verificado halo de inibição. O experimento foi realizado em triplicata, e, posteriormente, foi calculado a média e distribuído em tabela.

Como controle negativo, foi empregada solução salina. Como controle positivo, foi utilizado o fungicida comercial, do tipo mesostêmico e sistêmico FOX® (Bayer - Brasil), na concentração de 2 µL, diluído em água conforme recomendação do fabricante. Os fungos utilizados foram: *Aspergillus phoenicis* isolado, *Aspergillus niger* ATCC 9020, *Fusarium sp.* ATCC 52925, *Fusarium sp.* ATCC 85992 e *Fusarium sp.* isolado clínico.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Atividade Antibacteriana

Os resultados da atividade antibacteriana dos extratos e do óleo estão relacionados na tabela 1. Tanto o óleo quanto os extratos oriundos da erva-mate apresentaram atividade antimicrobiana contra as bactérias testadas. Nossos resultados corroboram com o trabalho de Girolometto *et al.* (2009), no qual a atividade antimicrobiana da espécie *I. paraguariensis* contra *Escherichia coli* (ATCC 11.229), *Staphylococcus* (ATCC 25.923) e *Salmonella Enteritidis* (ATCC 11.076) é verificada.

Gonçalves *et al.*, (2005), em seus estudos com extratos etanólicos das folhas de erva-mate (100 mg/mL), demonstrou atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*, e ausência de atividade contra *Escherichia coli*. Porém, Burris *et al.*, (2012), em seu estudo com o extrato aquoso da erva-mate, apresentou atividade antibacteriana contra duas linhagens de *Escherichia coli*.

Tabela 1. Atividade antibacteriana dos extratos e óleo da erva-mate.

Microrganismo	Extratos de Ramos				Extratos de folhas				Óleo volátil			
	100 mg/mL		50 mg/mL		100 mg/mL		50 mg/mL		100 mg/mL		50 mg/mL	
	25 µL	50 µL	25 µL	50 µL	25 µL	50 µL	25 µL	50 µL	25 µL	50 µL	25 µL	50 µL
<i>C. fimi</i> NCTC 7547	0,7	1,4	0,3	1	0,7	1,6	0,5	0,7	0,7	1,4	0,6	0,9
<i>L. monocytogenes</i> ATCC 7644	0,8	1,2	0,4	0,6	0,9	1,3	0,6	0,7	0,9	1,5	0,7	0,8
<i>B. cereus</i> ATCC 9634	0,7	1	R	R	0,8	1,3	0,7	0,8	0,8	1,7	0,5	1,1
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	0,8	1,1	0,6	0,9	0,7	1,2	0,5	0,7	0,7	1,6	0,6	1,2
<i>S. Enteritidis</i> ATCC	0,5	1	0,4	0,8	0,7	1,3	0,5	0,6	0,7	1,6	0,7	1,3
<i>E. coli</i> ATCC 25922	0,8	1,2	0,5	0,7	0,8	1,4	0,6	0,9	0,8	1,7	0,6	1,2
<i>E. coli</i> comensal	0,7	1,1	0,4	0,8	0,9	1,3	0,7	0,9	0,9	1,8	0,8	1,3

* Os halos de inibição são expressos em centímetros. R- Resistente.

A atividade da erva-mate é demonstrada em diversos estudos, entre eles, cita-se o estudo de De Bona *et al.*, (2010), em que a atividade do extrato aquoso da erva-mate contra diferentes linhagens de *Salmonella* spp., de origem avícola, demonstrou tanto efeito bacteriostático, quanto bactericida.

Nos primeiros estudos de óleos da erva-mate, Kubo *et al.*, (1993) verificaram a atividade antimicrobiana, dos constituintes voláteis do óleo essencial da erva-mate processada, e atribuíram ao linalol, composto mais abundante, ação moderada contra a bactéria *Streptococcus mutans*. Em relação ao linalol, também é reportada a importante atividade antifúngica, anti-helmíntica (Henriques *et al.*, 2007) e ação anticonvulsiva (Brum *et al.*, 2001). Entretanto, é importante salientar que, devido à complexidade química dos óleos essenciais, torna-se pouco palpável relacionar propriedades, como a atividade biológica, com as substâncias presentes de uma forma isolada, uma vez que podem atuar como sinergistas entre os próprios constituintes voláteis, bem como com demais compostos presentes (Henriques *et al.*, 2007).

Existem relatos que descrevem a ação dos sais imidazólicos da erva-mate contra bactérias e fungos como *Aspergillus flavus* (Gupta, 2011), entre outras espécies fúngicas, o que salienta a potencial atividade antimicrobiana desses compostos, podendo estar correlacionada com a estrutura química deles (Fok-sowicz-Flaczyk e Walentowska, 2012). As saponinas, recentemente, apresentaram atividade antifúngica contra espécies de leveduras e fungos filamentosos (Canto *et al.*, 2010; Peixoto *et al.*, 2011). Os tensoativos naturais (extratos purificados da erva-mate) apresentaram um efeito antibiofilme, eficaz frente aos isolados de *C. tropicalis*, na concentração de 1 mg/mL, principalmente quando comparados ao fluconazol (8 µg/mL). Esses estudos demonstram o sinergismo dos compostos do mate (Peixoto *et al.*, 2012).

Quanto à triagem da atividade antimicrobiana, a literatura tem estabelecido que halos de inibição do crescimento superiores a 0,8 cm são indicativo da presença de atividade inibitória. Nesse sentido, este trabalho demonstra a atividade antimicrobiana dos extratos dos ramos e folhas, bem como do óleo volátil da *I. paraguariensis*.

Atividade Antifúngica

Os diâmetros dos halos de inibição, provocados pelos produtos testados frente à *Aspergillus phoenicis*, *Aspergillus niger* ATCC 9020, *Fusarium* sp. 52925, *Fusarium* sp. 85992 e *Fusarium* sp. isolados clínicos são apresentados na tabela 2.

Tabela 2. Atividade antifúngica dos extratos e óleo da erva-mate frente aos gêneros *Aspergillus sp.* e *Fusarium sp.*

Microrganismo	Extratos de Ramos				Extratos de Folhas				Óleo volátil				Fox	
	100		50		100		50		100		50		2	
	mg/mL	50	mg/mL	50	mg/mL	50	mg/mL	50	mg/mL	50	mg/mL	50	mg/mL	50
	μL	μL	μL	μL	μL	μL	μL	μL	μL	μL	μL	μL	μL	μL
<i>A. phoenicis</i>	R	0,8	R	0,5	0,3	1	R	0,4	0,7	1,2	0,5	0,9	1,5	2
<i>A. niger</i> ATCC 9020	0,4	0,9	R	0,6	0,3	0,9	0,3	0,7	0,4	1,6	0,5	1	1,5	2
<i>Fusarium</i> 52925 <i>sp.</i>	0,6	1	0,4	0,8	0,5	1,2	0,4	0,8	0,7	1,4	0,6	1,2	1,7	2,2
<i>Fusarium</i> 85992 <i>sp.</i>	0,4	1,1	0,2	0,5	0,6	1,2	0,3	0,6	0,6	1,3	0,5	1,1	1,4	ND
<i>Fusarium</i> clínico <i>sp.</i>	0,3	0,7	R	0,5	0,7	1	0,3	0,7	0,5	1,2	0,6	1,2	1,3	ND

* Os halos de inibição são expressos em centímetros. R- Resistente; ND – não determinado (não houve crescimento de micélio ou inibição total do fungicida).

O óleo essencial de *I. paraguariensis* apresentou resultados positivos de inibição do crescimento micelial em todo período do teste, assim como para todos os fungos testados. A concentração de 100 mg/mL de 50 μL do óleo foi a que apresentou os melhores resultados. As formações de halos de inibição superiores a 0,8 cm indicam uma possível atividade antifúngica dessa planta, porém, com necessidade de mais estudos para confirmação deste achado. Não foram identificados estudos sobre a atividade antifúngica da espécie vegetal *I. paraguariensis*, frente aos fitopatógenos testados, sendo, esta, a primeira investigação.

Quanto à atividade antifúngica do extrato da erva-mate, os melhores resultados foram os obtidos por 50 μL do extrato de folhas na concentração de 100 mg/mL em relação ao extrato dos ramos. Os preparos de 50 mg/mL dos extratos também apontaram resultados positivos, porém, os halos apresentados foram de tamanho inferior. De Biasi *et al.* (2009) testaram extratos de *I. paraguariensis*, nas concentrações de 50 e 100 mg/mL, frente a *Candida albicans*, obtendo resultados positivos. Já em seus estudos, a concentração de 100 mg/mL demonstrou diferentes halos de inibição para os diferentes microrganismos, o que pode ser atribuído à variação da composição química, qualitativa e/ou quantitativa, da *I. paraguariensis*. Contudo, trabalhos que avaliem a atividade inibitória dos extratos da erva-mate frente a fungos fitopatogênicos não foram encontrados na literatura.

CONCLUSÕES

A erva-mate apresenta atividade antimicrobiana frente a diferentes fungos e bactérias causadoras de doenças. Os resultados obtidos na presente pesquisa comprovaram a acentuada atividade antifúngica apresentada pelo óleo de *I. paraguariensis*, quase igualando-se aos valores de inibição do antifúngico padrão (Fox®). Entre os diferentes extratos testados, o extrato de folhas apresentou melhores resultados com atividade antimicrobiana. Já em relação à atividade antifúngica de óleo de *I. paraguariensis*, demonstrou a formação de halos de inibição superiores a 0,5 cm.

Corroborados os resultados positivos já apresentados, juntamente ao fato de a erva-mate encon-

trar-se em abundância na América Latina e ser de grande consumo, observa-se, então, a necessidade de pesquisas e estudos técnico-científicos que explorem o potencial fitoterápico da referida planta.

REFERÊNCIAS

- BENITEZ, L. B. et al. 2010. Isolation and characterization of antifungal peptides produced by *Bacillus amyloliquefaciens* LBM 5006. **The Journal of Microbiology**, **48**(6):791-797.
- BRUM, S. L. F. et al. 2001. Effects of linalool on glutamate release and uptake in mouse cortical synaptosomes. **Neurochemical Research**, **26**(3):191-194.
- BURRIS, K. P. et al. 2011. Antimicrobial activity of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) aqueous extracts against *Escherichia coli* O157: H7 and *Staphylococcus aureus*. **Journal of Food Science**, **76**(6):456-462.
- BURRIS, K. P. et al. 2012. Aqueous extracts of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) as a natural antimicrobial against *Escherichia coli* O157:H7 in a microbiological medium and pH 6.0 apple juice. **Journal of food protection**, **75**(4):753-757.
- CANTO, G. S. et al. 2010. Evaluation of foam properties of saponin from *Ilex paraguariensis* A. St. Hil. (*Aquifoliaceae*) fruits. **Braz J Pharm Sci**, **46**(2):237.
- CAVALCANTI, Y. W. et al. 2012. Atividade Antifúngica de Extratos Vegetais Brasileiros sobre Cepas de *Candida*. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, **16**(1):43-48.
- DE BONA, E. de A. M. et al. 2010. Avaliação da atividade antimicrobiana de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) sobre sorovares de *Salmonella* spp. de origem avícola. **UNOPAR Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, **12**(3):45-48.
- DE BIASI B. et al. 2009. Antimicrobial activity of extracts of the leaves and branches of *Ilex paraguariensis* (erva-mate). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, **19**(2):582-585.
- DE MORAIS E. C. et al. 2009. Consumption of Yerba Mate (*Ilex paraguariensis*) improves serum lipid parameters in healthy dyslipidemic subjects and provides an additional LDL cholesterol reduction in individuals on statin therapy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, **57**(18):8316-8324.
- FENNER, R. et al 2006. Plantas utilizadas na medicina popular brasileira com potencial atividade antifúngica. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, **42**(3):369-393.
- FILIP, R. et al. 2010. Antifungal activity of the aqueous extract of *Ilex paraguariensis* against *Malassezia furfur*. **Phytotherapy Research**, **24**(5):715-719.
- FOKSOWICZ-FLACZYK, J.; WALENTOWSKA, J. 2012. Antifungal activity of ionic liquid applied to linen fabric. **Int Biodeterior Biodegrad**, **84**:412-415.
- GIROLOMETTO, G. 2009. Atividade antibacteriana de extratos de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A.St.-Hil.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, **11**(1):49-55.
- GNOATTO, S. C. B. et al. 2005. HPLC method to assay total saponins in *Ilex paraguariensis* aqueous extract. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, **16**(4):723- 726.
- GONÇALVES, A. I. et al. 2005. Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de extratos de algumas árvores nativas. **Brazilian Archives of Biology**, **72**(3):353-358.
- GUPTA, M. 2011. Efficient synthesis of antifungal active 9-substituted-3-aryl-5H,13aH-quinolino[3,2-f][1,2,4]triazolo[4,3-b][1,2,4] triazepines in ionic liquids. **Bioorg Med Chem Lett**, **21**(16):4919-23.
- HECK, C. I.; MEJIA, E. G. 2007. Yerba mate tea (*Ilex paraguariensis*): A comprehensive review on chemistry, health implications, and technological considerations. **Journal of Food Science**, **72**(9):138-151.
- HENRIQUES, A. T. et al. 2007. Óleos essenciais: importância e perspectivas terapêuticas. In: R. A. Yunes (Org.). **Química de produtos naturais novos fármacos e a moderna farmacognosia**. Itajaí: Editora da UNIVALI, p. 210-235.

- HONGPATTARAKERE, T. 2000. **Natural antimicrobial components isolated from Yerba Mate (*Ilex paraguariensis*) leaves**. Dissertation – University of Wisconsin, 189p.
- KUBO, I. 1993. Antibacterial activity against *Streptococcus mutans* of Mate tea flavor components. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, **41**(1):107–111.
- PAGLIOSA, C. M. 2010. **Caracterização química e microestrutural da casca do resíduo da colheita da erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.)**. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina, 146p.
- PEIXOTO, M. P. et al. 2011. Wormlike micellar aggregates of saponins from *Ilex paraguariensis* A. St. Hil. (mate): a characterisation by cryo- TEM, rheology, light scattering and small- angle neutron scattering. **J Pharm Sci**, **100**(2):536.
- PEIXOTO, M. P. et al. 2012. LC- UV Assay Method and UPLC/ Q- TOF- MS Characterisation of Saponins from *Ilex Paraguariensis* A. St. Hil. (Mate) Unripe Fruits. **Phytochem Ana**, **23**(4):415-420.
- RAUHA, J. P. et al. 2000. Antimicrobial effects of Finnish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds. **International Journal of Food Microbiology**, **56**(1):3–12.
- SI, W. et al. 2006. Bioassay-guided purification and identification of antimicrobial components in Chinese green tea extract. **Journal of Chromatography A**, **1125**(2):204–210.
- YU, S. et al. 2015. Yerba mate (*Ilex paraguariensis*) improves microcirculation of volunteers with high blood viscosity: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. **Experimental Gerontology**, **62**:14-22.