# **PABLO DARÍO CONTRERAS**

DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA À BASE DE SUBPRODUTOS DA INDÚSTRIA DA ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) E VERIFICAÇÃO DE SUA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de alimentos da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria Lúcia Masson

Co-Orientador: Prof. Dr. Henrique Soares

Köehler

CURITIBA 2007

# **Livros Grátis**

http://www.livrosgratis.com.br

Milhares de livros grátis para download.

# TERMO DE APROVAÇÃO

## PABLO DARÍO CONTRERAS

DESENVOLVIMENTO DE BEBIDA À BASE DE SUBPRODUTOS DA INDÚSTRIA DA ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) E VERIFICAÇÃO DE SUA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, à seguinte banca examinadora:

Orientadora
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria Lúcia Masson

Prof. Dr. Marco Aurélio Carvalho
Coordenador Programa Mestrado em Gestão Ambiental – UNICENP

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Liane Maria Vargas Barboza
Prof.<sup>a</sup> Departamento de Teoria e Prática de Ensino – UFPR

Curitiba, 27 de Agosto de 2007

Dedico este trabalho à minha mulher Marcela, minha família + Gaby e a todos meus amigos que torceram por mim ao longo deste trabalho.

#### **AGRADECIMENTOS**

Meus agradecimentos a todos aqueles que me ajudaram a concluir este trabalho:

À Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria Lúcia Masson e ao Prof. Dr. Henrique Soares Köehler por terem orientado este trabalho;

Ao Prof. Dr. Cid Aimbiré Santos e Larissa Biaggi da Farmacognosia da UFPR, pela colaboração nas análises de atividade antioxidante;

Aos meus bons amigos da indústria de alimentos, que sempre forneceram excelentes dicas e valiosas "amostras grátis" para realizar o trabalho: César Peres, Adilso Ritta, Erlon Pereira, Ingo abreu, Fernanda Jerônimo, Maurício Poulsen, Marcel Silva, José Ricardo Carvalho, Moises Galano e Eugênio Pincelli;

Aos Professores Marco Aurélio Carvalho (UNICENP), Luciana Novaak (UTP) e Neusa Soares (SEAB/PR) pela contribuição no desenvolvimento deste trabalho;

Ao Sr. Leandro B. Gehno pela receptividade e disponibilidade para esclarecer minhas dúvidas sobre a indústria da erva-mate;

Aos meus colegas do PPGTA, especialmente ao Bogdan, Felipe Richter, Dayane Izidoro, Graça, Kettelin Arbos, Sônia Maccari, Evelise, Deisy, Girotto, Jocilene e Francisco Peres Jr, que sempre se ofereceram incondicionalmente para ajudar;

Aos meus colegas da Biotecnologia da UFPR, especialmente ao Bruno Oishi, Silvia Bortolotto, Juliana Gern, Alexandre Rosa "Caxias", Harumi, Daniel Ernesto, sempre dispostos a colaborar;

Ao amigo Marcos Pereira da Silva, grande conhecedor de chimarrão;

A todos os professores do PPGTA;

À CAPES:

E último e não menos importante, às Srtas. Berenice e Valéria, pelo empurrão que tornou tudo isto possível!

# SUMÁRIO

LISTA	DE TABELAS	vii
LISTA	DE QUADROS	viii
LISTA	DE FIGURAS	ix
LISTA	DE GRÁFICOS	Х
LISTA	DE ABREVIATURAS	хi
RESU	MO	xii
ABST	RACT	xiii
1	INTRODUÇÃO	1
1.1	JUSTIFICATIVA	3
1.2	OBJETIVOS	4
1.2.1	Objetivo Geral	4
1.2.2	Objetivos Específicos	4
2	REVISÃO DE LITERATURA	6
2.1	HISTÓRICO DA ERVA-MATE	6
2.2	CLASSIFICAÇÃO BOTÂNICA DA ERVA-MATE	7
2.3	CULTIVO DA ERVA-MATE	9
2.3.1	Sistemas Agro-Florestais com Erva-Mate	12
2.4	INDUSTRIALIZAÇÃO DA ERVA-MATE	13
2.5	CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DA ERVA-MATE	18
2.6	CONSUMO DA ERVA-MATE – PRODUTOS EXISTENTES E TENDÊNCIAS	22
2.7	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	25
2.7.1	Espécies Reativas de Oxigênio	25
2.7.2	O Estresse Oxidativo	26
2.7.3	Substâncias Antioxidantes	26
2.7.4	Compostos Naturais de Poder Antioxidante	27
2.7.5	Atividade Antioxidante da Ilex paraguariensis	28
2.7.6	Métodos Analíticos de Avaliação de Atividade Antioxidante	30
3	MATERIAL E MÉTODOS	32
3.1	MATERIAL	32
311	Material para Preparo dos Extratos Aguosos	32

3.1.1.1	Padronização das amostras de PFC e RDM	33		
3.1.2	Desenvolvimento da Bebida	33		
3.1.3	Análises de Atividade Antioxidante			
3.2	MÉTODOS	35		
3.2.1	Pré-Tratamento da Matéria-Prima dos Extratos Aquosos	35		
3.2.2	Características Físico-Químicas da Matéria-Prima	35		
3.2.2.1	Umidade	35		
3.2.2.2	2 Cinzas	35		
3.2.2.3	Proteínas, lipídeos e carboidratos	35		
3.2.2.2	2 Características físico-químicas da bebida final	36		
3.2.3	Preparo dos Extratos Aquosos	36		
3.2.4	Desenvolvimento da Bebida Final	36		
3.2.5	Análise Sensorial	37		
3.2.5.1	Teste classificatório de perfil de características	38		
3.2.5.2	2 Teste de escala hedônica	38		
3.2.6	Análises de Atividade Antioxidante	39		
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	43		
4.1	CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DA MATÉRIA-PRIMA	43		
4.1.1	Características Físico-Químicas do PFC	43		
4.1.2	Características Físico-Químicas dos RDM	44		
4.2	CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DA BEBIDA DESENVOLVIDA	44		
4.3	ANÁLISE SENSORIAL	45		
4.3.1	Teste Classificatório de Perfil de Características	45		
4.3.2	Teste Classificatório de Escala Hedônica	48		
4.3.3	Avaliação da Intenção de Compra	48		
4.4	ANÁLISES DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	50		
5	CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES	54		
REFE	RÊNCIAS	56		
ANEX	os			

# **LISTA DE TABELAS**

TABELA 1	INDICADORES DA ATIVIDADE ERVATEIRA NAS REGIÕES ADMINISTRATIVAS DO ESTADO DO PARANÁ (ÁREAS DE PLANTAS NATIVAS E CULTIVADAS) – 2000	10
TABELA 2	INDICADORES DA ATIVIDADE ERVATEIRA NAS REGIÕES ADMINISTRATIVAS DO ESTADO DO PARANÁ – SAFRAS 1999-2000, 2001-2002, 2003-2004	11
TABELA 3	CROMATOGRAFIA DE CAMADA DELGADA E OS COEFICIENTES DE PARTIÇÃO (Rf) EM EXTRATOS DE ESPÉCIES DO GÊNERO <i>ILEX</i>	20
TABELA 4	COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA ERVA-MATE (EM 100g)	22
TABELA 5	COMPOSIÇÃO MINERAL DA ERVA-MATE (EM 100g)	22
TABELA 6	TEOR DE VITAMINAS DA ERVA-MATE (EM 100g)	22
TABELA 7	GRANULOMETRIA DO PFC	43
TABELA 8	CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DO PFC	43
TABELA 9	GRANULOMETRIA DOS RDM	44
TABELA 10	CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DOS RDM	44
TABELA 11	CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DA BEBIDA DESENVOLVIDA	44
TABELA 12	CARACTERÍSTICAS DAS FORMULAÇÕES INICIAIS PARA ANÁLISE SENSORIAL	45
TABELA 13	MÉDIAS OBTIDAS NO TESTE DE PERFIL DE CARACTERÍSTICAS DAS 5 FORMULAÇÕES TESTADAS	46
TABELA 14	ANÁLISE DE VARIÂNCIA DAS NOTAS NO TESTE PERFIL DE CARACTERÍSTICAS	46
TABELA 15	RESULTADO DO TESTE DE COMPARAÇÃO DE MÉDIAS DAS NOTAS DE CADA FORMULAÇÃO NO TESTE DE ESCALA HEDÔNICA	48
TABELA 16	VALORES DE IC 50 DAS BEBIDAS E EXTRATOS ANALISADOS	52

# **LISTA DE QUADROS**

QUADRO 1	CLASSIFICAÇÃO BOTÂNICA DA ERVA-MATE	7
QUADRO 2	POSSIBILIDADES DE UTILIZAÇÃO DA ERVA-MATE POR CAMPO DE APLICAÇÃO	24

## **LISTA DE FIGURAS**

FIGURA 1	FOLHAS DE Ilex paraguariensis	8
FIGURA 2	SAPECADOR DE ERVA-MATE	14
FIGURA 3	ERVA-MATE CANCHEADA VERDE E ESTACIONADA	17
FIGURA 4	RUTINA	28
FIGURA 5	PÓ DE FOLHAS CANCHEADAS DE ERVA-MATE	32
FIGURA 6	RAMOS DESIDRATADOS E MOÍDOS DE ERVA-MATE	33
FIGURA 7	PROCEDIMENTO PARA REALIZAÇÃO DAS ANÁLISES DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	40
FIGURA 8	ENSAIOS DE REDUÇÃO DO DPPH PELA AÇÃO DOS EXTRATOS DAS BEBIDAS	50

# LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1	PARANÁ - EVOLUÇÃO DA PRODUÇÃO AGRICOLA DE ERVA-MATE PERÍODO1993 ATÉ 2005	11
GRÁFICO 2	VARIAÇÃO DE VOLUME PARA BEBIDAS PARA O MERCADO BRASILEIRO 2004 A 2008	25
GRÁFICO 3	PERFIL DE CARACTERÍSTICAS DAS FORMULAÇÕES TESTADAS	46
GRÁFICO 4	AVALIAÇÃO DA INTENÇÃO DE COMPRA DA BEBIDA - FREQÜÊNCIA DE CONSUMO	49
GRÁFICO 5	COMPARAÇÃO DA BEBIDA DESENVOLVIDA COM PRODUTOS JÁ EXISTENTES NO MERCADO	49
GRÁFICO 6	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO EXTRATO DE NATIVA II PELO TESTE DE REDUÇÃO DO RADICAL DPPH	51
GRÁFICO 7	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO PADRÃO ANALÍTICO DE RUTINA PELO TESTE DE REDUÇÃO DO RADICAL DPPH	51

### LISTA DE ABREVIATURAS

DPPH 1,1-difenil-2-picrilhidrazil

EPFC Extrato de Pó de folhas Cancheadas ERDM Extrato de Ramos Desidratados Moídos

ERO Espécie Reativa de Oxigênio

FAO Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação

IAL Instituto Adolfo Lutz

ITAL Instituto Tecnologia de Alimentos – UNICAMP

p.a. Padrão analítico

PFC Pó de Folhas Cancheadas PIB Produto Interno Bruto

RDM Ramos Desidratados e Moídos

SAF Sistema Agro-Florestal

St. Hil Abreviação do nome Saint Hilaire UI Unidade Atividade Vitamínica

#### **RESUMO**

O incentivo ao cultivo da erva-mate (Ilex paraguariensis "St. Hil") é muito importante para o Brasil, especialmente do ponto de vista agro-econômico, considerando que constitui renda para aproximadamente 710.000 pessoas atuando profissionalmente em função desta cultura, e sendo o Estado do Paraná terceiro produtor nacional (CONAMATE, 1997). É necessário ampliar o leque de produtos à base de erva-mate, visto que atualmente, praticamente toda a produção vai para o consumo na forma de chimarrão, um produto regional e tradicional. Neste trabalho foi desenvolvida uma bebida à base de subprodutos da produção da erva-mate, que não possuem valor comercial, cuja composição é isenta de corantes e conservantes artificiais, atendendo às exigências atuais do mercado de bebidas. Foram utilizados na elaboração da bebida como principais ingredientes, os extratos aguosos de dois subprodutos da indústria ervateira (pó de folhas cancheadas e ramos desidratados). O uso destes subprodutos é importante para a preservação do meio ambiente, pois otimiza a extração de recursos naturais. A formulação final da bebida foi estabelecida em função de testes de análise sensorial. Por meio do Perfil de Características e do Teste de Escala Hedônica foi definida a formulação mais adequada e com potencial de consumo. atividade antioxidante in vitro da formulação previamente selecionadas foi medida, bem como a de extratos aquosos de chá verde e chá preto (Camélia sinensis) além de outros produtos à base de erva-mate e padrão analítico de Rutina (polifenol), como referência para a comparação dos resultados obtidos para as diversas bebidas. O método utilizado para avaliação da atividade antioxidante foi o da redução do radical DPPH (1,1-difenil-2picrilhidrazil), recomendado para medidas em bebidas e extratos vegetais. A bebida desenvolvida possui pH 3,8, acidez 0,11% (como cítrico) e 9º Brix. A proporção dos extratos de EPFC:ERDM foi de 70:30. A avaliação da intenção de compra revelou que 60% dos provadores consumiriam ocasionalmente a bebida, enquanto 28% a consumiria frequentemente. 72% a consideraram tão boa quanto outros produtos à base de erva-mate existentes no mercado. Os resultados das análises atividade antioxidante foram avaliados estatisticamente por análise de variância, sendo que não houve diferença significativa entre a atividade antioxidante da formulação desenvolvida e os extratos aquosos de chá verde, chá preto e chimarrão testados, mostrando que a bebida desenvolvida, de acordo com os resultados obtidos neste trabalho, possui boa atividade antioxidante.

Palavras-chave: *Ilex paraguariensis* St. Hil.; Bebida; Subprodutos; Atividade Antioxidante, DPPH.

#### ABSTRACT

The fomentation of "erva-mate" or mate (*Ilex paraguariensis* "St. Hil.") it's very important to Brazil, especially from the agribusiness point of view, considering that it constitutes gains for approximately 710,000 people, professionally working in function of this culture, and being the state of Paraná the third largest national producer. It's necessary to amplify the product gamma of mate based products, since at this moment, practically the whole crop is designated to the consumption as "chimarrão", a regional and traditional product. In this work, a beverage was developed from industrial by-products of mate industry, these without commercial value, whose composition is free of chemical preservatives and colorants, attending to market's demands. It was used as main ingredients for this beverage development aqueous extracts of two mate's industry by-products (sieved leaves powder and dried branches). The use of these by-products is important for preservation of the environment, therefore it optimizes the extration of natural resources. The final formula was established according to sensory analysis tests. Through Characteristic Profile and Hedonic Scale Test it was defined the more appropriated formula and with consumption potential. The in vitro antioxidant activity of the previously chosen formula was measured, as well as the antioxidant activity of aqueous extracts of green and black tea (Camélia sinensis), beyond other mate products and a analytical standard of Rutin (polyphenol), as a reference for the comparison of the achieved results for all beverages. The chosen method for antioxidant activity was based on the reduction of free radical DPPH (1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), recommended for analysis in beverages and vegetal extracts. The developed beverage has pH 3.8, acidity of 0,11% (as citric acid) and 9° Brix. Extracts ratio for EPFC and ERDM was 70:30. Purchase intention evaluation reveals that 60% of consumers would consume occasionally this beverage, while 28% would consume it frequently. 72% consider it as good as another mate based products already in the market. The results of antioxidant activity tests were statistical evaluated by analysis of variance, showing that there wasn't significant difference between antioxidant activity of the developed beverage and the evaluated green and black tea extracts, indicating that the developed beverage, accordingly to the achieved results, has a good antioxidant activity.

Key words: *Ilex paraguariensis* St. Hil.; Beverage; Mate By-Products, Antioxidant Activity, DPPH.

# 1 INTRODUÇÃO

A erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) é planta nativa da América do Sul, utilizada na alimentação humana há séculos na forma de bebida, sendo as formas de consumo mais usuais, o "chimarrão" na região sul do Brasil, "mate" na Argentina e Uruguai, e "tereré" no Paraguai (COSTA, 1989; MAZUCHOWSKI; CROCE; WINGE, 1997; MARX et al., 2003). Na América do Sul, aproximadamente 30% da população consumiu mais de um litro ao dia dessas bebidas (FILIP et al., 2000). Segundo MAZUCHOWSKI (2004) folhas de erva-mate já foram encontradas em túmulos Incas, comprovando a antiguidade no consumo da erva-mate na forma de bebida.

A erva-mate faz parte da cultura e história do Brasil, Paraguai, Uruguai e Argentina. A *Ilex paraguariensis* é também usada na medicina popular no tratamento de artroses, doenças do fígado, dor de cabeça, obesidade e problemas digestivos entre outras patologias (MAZUCHOWSKI, 1991; MAZUCHOWSKI e RUCKER, 1993 e 1997; MAZZAFERA, 1996; ANUÁRIO BRASILEIRO DA ERVA-MATE, 1999; FILIP et al., 2000).

A exploração da erva mate se dá por coleta da erva nativa ou por cultivo planejado e ocorre principalmente na Argentina, Uruguai, Paraguai e Brasil, sendo 80% da área de ocorrência pertencente ao Brasil, distribuindo-se entre os Estados do Mato Grosso do Sul, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (ROCHA JUNIOR, 2001).

O cultivo da erva-mate no Estado do Paraná é um os mais antigos e de enorme importância para a região, tendo sido inclusive base da economia do estado no passado (NIETSCHE, 2002), porém a atividade ervateira entrou em declínio ao longo dos anos, devido à inexistência de inovações tecnológicas, poucas pesquisas, restrições do consumo ao mercado regional e de um único produto, "tradicional" para muitos.

Analisando os dados da EMATER PARANÁ (2000) e SEAB/DERAL (2002, 2003, 2005 e 2007), quanto à produção de erva-mate no Brasil, nota-se uma retomada do produto no mercado ao nível nacional. Pode-se atribuir tal retomada ao surgimento de novos produtos industrializados, como bebidas prontas para consumo do tipo "mate copo", com grande consumo em alguns estados sem tradição no

consumo de chimarrão, como Rio de Janeiro e São Paulo. É fato também o aumento do consumo em países como Argentina e Uruguai e o interesse desenvolvido pelas indústrias farmacêuticas e de cosméticos, uma vez que diversas pesquisas indicam importantes propriedades funcionais da erva-mate.

Com essa retomada no mercado, o estudo aprofundado da composição química das variedades encontradas no Estado do Paraná e outros pólos produtores, é de fundamental importância, levando em consideração usos e aplicações atuais bem como o fornecimento de opções para novos produtos, fugindo da idéia de "produto regional" ou "bebida tradicional".

Como se trata de uma planta de composição química elaborada, além dos atributos conhecidos ou à ela atribuídos, pode-se vislumbrar muitas aplicações potenciais, como elaboração de extratos, aromas para alimentos e inclusive novos tipos de bebidas industrializadas que, poderiam vir a ampliar o consumo de ervamate e, conseqüentemente, do mercado para esta matéria-prima, desenvolvendo novamente o cultivo de uma planta nativa no Estado do Paraná.

Segundo NIETSCHE (2002), apesar da grande quantidade de estudos realizados sobre a composição química da erva-mate, grande parte não apresentava resultados que possam ser considerados definitivos, particularmente quanto às determinações quantitativas. Além disso, poucos trabalhos apresentados na literatura referem-se aos efeitos das etapas do processamento na composição química da erva-mate para chimarrão e se referem à análise de um mesmo lote, para evitar a interferência da variabilidade genética, impossibilitando a análise conclusiva dos resultados (NIETSCHE, 2002). Estes fatos foram confirmados como atuais no período de execução deste trabalho.

Mesmo no preparo dos compostos para chimarrão, ainda é possível trabalhar muito no aprimoramento das técnicas de processamento, atuando em etapas fundamentais como secagem, onde muitas empresas atuam de forma empírica na obtenção do produto final, além de demonstrar pouco conhecimento sobre boas práticas de fabricação e segurança alimentar.

Quanto às propriedades funcionais da erva-mate, muito tem sido estudado, especialmente sobre as propriedades antioxidantes. A erva-mate é rica em polifenóis (RAMIREZ-MARES; CHANDRA; MEJIA, 2004; STREIT et al., 2006), que de acordo com LODOVICI et al. (2001) são substâncias de conhecido poder antioxidante. Os

antioxidantes estão diretamente relacionados à processos degenerativos das células, e seu consumo diário é indispensável na prevenção de doenças como o câncer (HALLIWELL; GUTTERDGE; CROSS, 1992; OLIVEIRA, 1995). Tais características químicas da erva-mate podem incentivar ainda mais o consumo da planta.

Dessa maneira, este trabalho buscou encontrar uma nova alternativa de consumo, aproveitando subprodutos da indústria ervateira para a elaboração de bebida, de modo a obter um produto final de baixo custo com atividade antioxidante comparável a de produtos já existentes no mercado e que apresentam estudos comprovados sobre suas propriedades funcionais na literatura científica.

#### 1.1 JUSTIFICATIVA

De acordo com consultas feitas a fabricantes de erva-mate, para cada tonelada de folha *in natura* processada, são gerados aproximadamente 300 kg de folha verde cancheada padronizada, 50 kg de ramos desidratados e 40 kg de pó de folhas cancheadas.

A legislação vigente no Brasil (BRASIL, 2003) curiosamente não determina nenhum valor máximo para quantidade de palitos adicionados aos compostos para consumo de chimarrão, porém a legislação anterior, de 1998 (BRASIL, 1998<sup>a</sup>; ABIA, 1999) determinava que estes produtos poderiam conter no máximo 30% do seu peso final em ramos desidratados (palitos).

Os fins mais comuns para estes subprodutos são: o complemento de lenha para queima durante a secagem das folhas (no caso dos ramos) e o uso como fertilizante.

Em função das pesquisas existentes sobre a composição química e propriedades funcionais das folhas de erva-mate, é importante que todo o potencial da folha seja explorado, otimizando assim a extração dos recursos naturais. Destes subprodutos podem ser extraídas substâncias de importante valor comercial, tais como clorofila, polifenóis e cafeína e, como no caso deste trabalho, é possível preparar extratos aquosos, visando a fabricação de uma bebida industrializada.

Não foram encontrados, durante a realização deste trabalho, estudos que verificassem o impacto ambiental que o uso, sem tratamento adequado, destes

subprodutos como fertilizante possa causar no meio ambiente, em função de diversas substâncias neles presentes, como ácidos cafeóicos, taninos e cafeína. Porém como o uso destes subprodutos como fertilizante, sem nenhum prétratamento, pode representar um dano ao meio ambiente em função de alterações de pH no solo, uma extração aquosa prévia, como a realizada no desenvolvimento da bebida deste trabalho, pode ajudar a reduzir possíveis impactos ambientais.

Visto que o mercado nacional de bebidas não-alcoólicas prevê que o crescimento do volume de consumo de chás prontos para beber entre 2004 e 2008 será de 25% (EUROMONITOR, 2004), e os consumidores cada vez mais se interessam por produtos saudáveis, o desenvolvimento de uma nova bebida à base de erva-mate, de fácil consumo e com atividade antioxidante comprovada como foi o objeto de pesquisa deste trabalho, ajudaria na gestão dos recursos naturais, incentivaria o cultivo da erva-mate, e atenderia às demandas do mercado de bebidas.

#### 1.2 OBJETIVOS

#### 1.2.1 Objetivo Geral

Desenvolver bebida à base de subprodutos de erva-mate, não-alcoólica, não-carbonatada, sem conservantes nem corantes artificiais, utilizando como principais matérias-primas extratos aquosos à base de pó de folhas verdes cancheadas e ramos desidratados de *Ilex paraguariensis* St. Hil.

### 1.2.2 Objetivos Específicos

- a) Avaliar a atividade antioxidante da bebida desenvolvida por meio de um método in vitro, utilizando um padrão analítico de Rutina e outros extratos aquosos de plantas como referência;
- b) Realizar pesquisa preliminar envolvendo a avaliação sensorial das formulações e intenção de compra das formulações desenvolvidas, selecionando a formulação mais adequada e comparando-a também com outros produtos similares existentes no mercado;

c) Determinar as características físico-químicas da matéria-prima e bebida final.

# 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 HISTÓRICO DA ERVA-MATE

Desde o início das colonizações espanhola e portuguesa na América do Sul são referidos pelos historiadores usos da erva-mate pelos indígenas. Tribos do Peru, Chile e Bolívia obtinham a erva-mate por permuta transportando as folhas por milhares de quilômetros. Para os índios, a bebida dava resistência às jornadas de trabalho, reduzindo a fome e a sede (ROCHA JUNIOR, 2001; MAZUCHOWSKI et al., 1996; ANDRADE, 1999).

Os jesuítas (pelo qual o produto era conhecido como "chá dos jesuítas") começaram a comercializar as folhas por volta de 1610, e em 1804 existem documentos brasileiros registrando a exportação oficial de erva-mate pelo porto de Paranaguá. Por volta de 1873, até 1890 o produto era o principal produto de exportação (ROCHA JUNIOR, 2001; NIETSCHE, 2002).

Foram também os jesuítas os primeiros a orientar os índios a realizar plantios de erva-mate, sendo então os precursores do cultivo sistemático, da colheita de sementes, produção de mudas e condução de erveiras. Os mesmos contribuíram para a expansão da bebida, melhorando seu preparo e difusão entre os europeus (PAULA, 1992; VALDUGA, 1995; MAZUCHOWSKI et al., 1996; ANDRADE, 1999).

A influência sócio-econômica foi tão acentuada que o Estado do Paraná deve a sua emancipação política da 5ª Comarca de São Paulo, no ano de 1853, à prosperidade deste ciclo econômico (MAZUCHOWSKI, 1989b).

O processo histórico-geográfico da erva-mate no Brasil está atrelado aos ciclos econômicos e ao sistema de transporte denominado tropeirismo. A conexão com o gado, a madeira e a produção agrícola dos núcleos coloniais decorrentes dos fluxos migratórios determinou a preponderância da erva-mate durante o século XIX e início do século XX, com inúmeras cidades prósperas e o comércio monopolizando capital e trabalho (MAZUCHOWSKI et al., 1996; VALDUGA, 1995).

A erva-mate foi o principal produto econômico do Estado do Paraná (onde o produto era exportado a outros países da América do Sul) até a Primeira Guerra Mundial, onde a madeira passou a ser o produto mais importante (ANDRADE, 1999).

# 2.2 CLASSIFICAÇÃO BOTÂNICA DA ERVA-MATE

De acordo com FAGUNDES (1980) foi no século XIX que o naturalista francês August de Saint Hilaire, em viagem pela América esteve várias vezes no Brasil. Ao voltar à França, em 1822, entregou um relatório aos cuidados da Academia de Ciências do Instituto da França, propondo a designação de Ilex paraguariensis ou Ilex mate à planta encontrada na América do Sul.

A erva-mate *Ilex paraguariensis* St. Hil é uma espécie florestal Ombrófila e seletiva hidrófila, da família *Aquifoliaceae* crescendo preferentemente em associações mais evoluídas dos pinheirais de *Araucária angustifólia*, acompanhada de outras espécies como *Ocotea porosa* (imbúia), *Cedrela fissilis* (pau-marfim), *Podocarpus sp.* (pinho bravo), *Cabralea canjerana* (canjarana), além de mirtáceas, leguminosas diversas e Lauráceas (REITZ e EDWIN, 1967; BURGSTALLER, 1994; OLIVEIRA e ROTTA, 1995; CORRÊA; KIST; QUINTANA, 1999; COELHO et al., 2000).

A taxonomia e classificação botânica da Erva-Mate estão detalhadas no Quadro 1.

QUADRO 1 - CLASSIFICAÇÃO	
	CLASSIFICAÇÃO BOTÂNICA

CLASSIFICAÇÃO BOTANICA							
Reino	Reino Plantae						
Divisão	Magnolyophyta						
Classe	Magnolipsida						
Ordem	Celastrales						
Família	Aquifoliaceae						
Gênero	llex L						
Espécie	I. paraguariensis						
Nome Binomial							
Ilex paraguariensis A. St. Hill (Aquifoliaceae)							

FONTE: VALDUGA, 1995; NEWELL, 1996; NIETSCHE, 2002.

Caracterizada por constituir-se de arvoreta, ou árvores, que variam de 3 a 15 metros, existindo árvores de até 25 metros de altura, e diâmetro de até 70 cm em condições de ambiente florestal. É racemosa, quase horizontal. Possui copa baixa, densifoliada, com folhagem verde-escura muito característica (FERREIRA FILHO, 1948; REITZ e EDWIN, 1967; FAGUNDES, 1980) como verificado na Figura 1.



FIGURA 1 – FOLHAS DE *llex paraguariensis* 

FONTE: O AUTOR, 2006.

De acordo com JOLY, BROUILLET e BRUNEAU (2001) são plantas dióicas, ou seja, plantas com flores masculinas e flores femininas em indivíduos diferentes, podendo ocorrer dentro da família Aquifoliaceae, flores hermafroditas.

Segundo BURGARDT (2000), no Estado do Paraná, pesquisas "empíricas" identificaram quatro variedades de erva-mate:

- a) Na região de Imbituva, encontra-se a erva do "talo roxo", cuja principal característica é o sabor forte;
- b) Na região de São Mateus do Sul, existe a erva de talo amarelo, tipo mais procurado para exportação, pois possui sabor amargo, porem suave;
- c) Na região da Serra da Esperança, encontra-se a erva da folha miúda, com sabor intermediário de bebida e;
- d) Na região dos Campos Gerais, existe a erva timoneira, com a característica principal de apresentar folha peluda e um sabor amargo fortíssimo.

Segundo NIETSCHE (2002), geograficamente, sua dispersão compreende a região centro-oeste do Estado do Rio Grande do Sul, salientando sua presença somente nas regiões limítrofes das matas subtropicais do Alto Uruguai com a mata dos pinhais, passando através de quase todo o Estado de Santa Catarina. No Estado do Paraná avança pela região centro-sul estendendo-se para a região nordeste, até uma pequena porção do sudeste do Estado de São Paulo. No oeste do Estado do Paraná segue em direção à região sul do Mato Grosso do Sul.

Encontra-se também ao norte da Argentina, especialmente nas províncias de Misiones e Corrientes (principais produtoras do país) e na parte oriental do Paraguai (ROCHA JUNIOR, 2001).

No Brasil sua área está dispersa principalmente nos Estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, e ainda um pouco nos Estados do Mato Grosso do Sul e Minas Gerais, sendo 450.000 Km<sup>2</sup> do total (FAGUNDES, 1980; CAMPOS, 1991; ANDRADE, 1999; ROCHA JUNIOR, 2001).

No sul do país, grande parte da matéria-prima provém de ervais nativos. Só no Estado do Paraná, 91,2% são ervais nativos, o que corresponde a aproximadamente 258 mil hectares, sendo a maior concentração da região sul (ANDRADE, 1999).

### 2.3 CULTIVO DA ERVA - MATE

De acordo com a Comissão Nacional da Cadeia Produtiva da Erva-Mate (CONAMATE, 1997), o setor ervateiro brasileiro é representado por 180.000 propriedades rurais, aliado a manutenção de 710.000 empregos diretos e indiretos.

A região Sul é a maior produtora, onde 596 municípios desenvolvem a atividade ervateira, para uma produção anual aproximada de 650.000 toneladas de folhas (MACCARI; SANTOS, 2000; ROCHA JUNIOR, 2001).

No Estado do Paraná, observa-se que a área ocupada pelos ervais paranaenses abrange aproximadamente 283.000 hectares (cerca de 35 % da área ocupada pelos ervais brasileiros), dos quais 60% são denominados ervais nativos ou ervais sombreados por outras espécies arbóreas. Além disso, cerca de 51 mil propriedades rurais atuam com erva-mate, em 176 municípios paranaenses, onde as regiões administrativas de União da Vitória, Pato Branco, Guarapuava e Iratí destacam-se como as maiores produtoras, concentrando em torno de 81% da produção (EMATER PARANÁ, 2000), como pode ser verificado na Tabela 1.

TABELA 1 – INDICADORES DA ATIVIDADE ERVATEIRA NAS REGIÕES ADMINISTRATIVAS DO ESTADO DO PARANÁ (ÁREAS DE PLANTAS NATIVAS E CULTIVADAS) – 2000

REGIÃO ADM.	MUNICÍPIOS	AS DE PLANTAS NATIVAS E ÁREA DE ERVAL (ha)		PRODUTORES DE ERVA	
	ERVATEIROS				
		NATIVA	PLANTADA	NATIVA	PLANTADA
Curitiba	21	1.105	762	1.000	2.028
Lapa	8	1.799	211	2.485	106
Irati	8	40.876	1.972	5.805	1.206
União da Vitória	15	52.147	1.947	6.038	540
Guarapuava	12	125.200	3.790	7.750	3.068
Pato Branco	14	11.152	2.004	2.960	3.007
Francisco Beltrão	21	2.054	7.149	1.492	2.329
Cascavel	28	1.674	4.507	953	1.480
Toledo	12	26	262	35	674
Campo Mourão	11	146	759	146	3.265
Ivaiporã	11	5.020	281	2.640	132
Ponta Grossa	15	16.908	1.146	1.528	367
Paraná	176	258.107	24.790	32.832	18.202
TOTAL		28	32.897	5	1.034

FONTE: EMATER, 2000.

Gerador de cerca de 210.000 empregos no Estado do Paraná, o setor teve sua alta de produção em 2001 (336 mil toneladas de folha verde). Diversas empresas mantêm atividades de forma sazonal e apenas 50% apresentam efetividade industrial no decorrer do ano fiscal (EMATER PARANÁ, 2000, SEAB/DERAL, 2007).

Em relação à estrutura fundiária nas regiões em que a erva-mate é explorada e cultivada, a maior parte das propriedades é formada de minifúndios onde os agricultores têm baixa renda e pouco acesso tecnológico para elevar e melhorar a sua produção. O êxodo rural é facilitado pelo fato de o agricultor não conseguir manter uma renda mínima, o que impede o desenvolvimento sustentável da agricultura (ROCHA JUNIOR, 2001).

O contingente de mão-de-obra que produz erva-mate é de aproximadamente 138 mil pessoas, que se dividem em pequenos (46%), médios (24%) e grandes produtores (30%). No primeiro segmento, a mão-de-obra é basicamente familiar e, nas outras duas categorias, existe o envolvimento de pessoas assalariadas (ROCHA JUNIOR, 2001).

A atividade ervateira entre 1999 e 2004 em diversos municípios do Estado do Paraná pode ser verificada na Tabela 2.

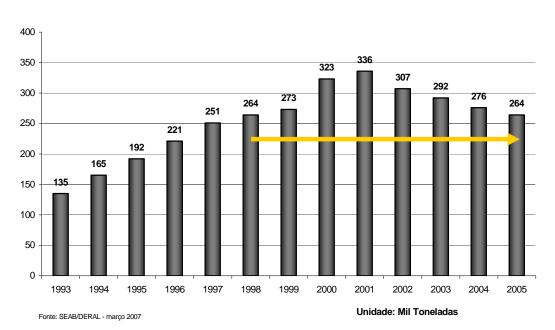
TABELA 2 - INDICADORES DA ATIVIDADE ERVATEIRA NAS REGIÕES ADMINISTRATIVAS DO ESTADO DO PARANÁ – SAFRAS 1999-2000, 2001-2002, 2003-2004

NIÍCI EO DECIONAL	PRODUÇÃO (Kg)			
NÚCLEO REGIONAL	SAFRA 1999-2000	SAFRA 2001-2002	SAFRA 2003-2004	
Campo Mourão	571.800	10.000	-	
Cascavel	15.943.500	15.133.300	14.913.000	
Curitiba	4.211.100	4.271.200	3.679.900	
Francisco Beltrão	9.308.350	9.371.180	12.642.900	
Guarapuava	44.278.000	50.756.000	26.827.000	
Iratí	39.235.000	41.412.000	39.756.790	
Ivaiporã	36.252.000	22.308.000	3.125.000	
Laranjeiras do Sul	8.582.000	11.091.000	8.684.250	
Pato Branco	21.640.000	20.684.400	13.653.375	
Ponta Grossa	13.113.400	13.104.887	15.237.500	
União da Vitória	129.980.000	148.455.000	134.349.000	

FONTE: SEAB/DERAL, 2002; SEAB/DERAL, 2003; SEAB/DERAL 2005

O Gráfico 1 mostra a evolução da cultura da erva-mate no Estado do Paraná desde 1993 até 2005.

GRÁFICO 1 - EVOLUÇÃO DA PRODUÇÃO AGRICOLA DE ERVA-MATE NO ESTADO DO PARANÁ ENTRE 1993 E 2005



A alta da produção ocorreu em 2001, porém nos anos seguintes tem-se registrado uma queda na produção anual. De acordo com ALMEIDA (2007) e produtores de folha verde cancheada, fatores climáticos influenciaram na queda de produção de folha verde, e este valor (igual à safra de 1998) está muito aquém da demanda atual do mercado.

### 2.3.1 Sistemas Agro-Florestais Com Erva-Mate

Os sistemas Agro-Florestais (SAFs) constituem uma das mais promissoras áreas da atividade humana, capazes de contribuir para o desenvolvimento sustentável mediante o uso do meio ambiente para satisfazer as demandas por alimentos e energia no mundo. Além disso, são apontados como opções preferenciais de uso das terras pelo alto potencial que oferecem para aumentar o nível de rendimento em relação aos aspectos agronômicos, sociais, econômicos e ecológicos (DA SILVA, 1998).

De acordo com a Organização das Nações Unidas para a Alimentação - FAO (1984) um SAF entende-se como "um sistema de manejo sustentado da terra que incrementa o rendimento, combina a produção de culturas agrícolas, plantas florestais e animais, simultânea ou consecutivamente, na mesma unidade de terreno, aplicando as práticas de manejo compatíveis como as práticas culturais da população local".

A erva-mate permite a associação com culturas agrícolas, principalmente com milho, feijão, soja e mandioca, nos três primeiros anos de plantio. O consórcio minimiza a necessidade de recursos financeiros para implantação do erval, permitindo a produção de grãos nas terras destinadas à erva-mate (DA CROCE e FLOSS, 1999).

Além disso, a espécie permite o corte de ramos e folhas, com elevada capacidade de rebrota após o corte. Assim sendo, existem ervais com mais de 100 anos de manejo (CARVALHO, 1994).

Desta forma, o cultivo da erva-mate passa a ser uma importante alternativa econômica para os agricultores da região sul do país, visto que a planta pode coexistir com outros cultivos tradicionais, e, além disso, pode ser usada pelos

organismos de preservação do meio-ambiente como incentivo ao reflorestamento de espécies nativas, como a Araucária.

# 2.4 INDUSTRIALIZAÇÃO DA ERVA-MATE

Ao longo dos anos, o processo de industrialização e de beneficiamento da erva - mate foi muito pouco alterado, tanto do ponto de vista do processo como do tecnológico. Atualmente, vem se desenvolvendo de maneira lenta e incipiente, principalmente pelo processo de agro-industrialização, que se iniciou a partir dos anos 60, e pela competitividade da erva-mate estrangeira (ROCHA JUNIOR, 2001). Além disso, a falta de novos produtos no mercado não incentiva a criação de novos processos e equipamentos.

Diferentes produtos podem ser obtidos dos ramos e folhas da planta de erva-mate, da elaboração da erva cancheada e subprodutos decorrentes do beneficiamento agroindustrial. Destacam-se o chimarrão, tereré, chá mate queimado e chá mate verde, mate solúvel e chá (bebida) pronto para consumo (MAZUCHOWSKI e RUCKER, 1993).

Como relatado por SCHIFFL (1997) e VALDUGA (1995), verificou-se no desenvolver deste trabalho que existem grandes variações no processo industrial da erva-mate, de região para região, e de acordo com o porte da empresa produtora.

As etapas e parâmetros de processo, layout da planta industrial, variedades da planta, idade em que é colhida, período de descanso, granulometria final, além das fontes de energia necessárias ao processo, demonstram que cada empresa possui um processo diferenciado das outras, o que acaba dessa maneira, proporcionando produtos muito diferentes no mercado.

O processamento da erva-mate para chimarrão consiste basicamente de sete etapas. O processo inicia-se na colheita das folhas. A erva-mate é colhida retirando-se das árvores as partes dos ramos com galhos de diâmetro de aproximadamente 20 milímetros, com folhas "maduras" (que de acordo com os produtores possuem mais de 2 ou 3 anos), que são desbastados da planta e depositados numa manta denominada "poncho", ao redor das árvores, para evitar o contato das folhas com o solo (ROCHA JUNIOR, 2001).

Após a colheita, a etapa seguinte é o sapeco. Esta etapa é feita em um cilindro rotativo metálico, com pequenas perfurações e inclinado, com aletas ou pás internas que conduzem as folhas colhidas pelo seu interior, recebendo as chamas, como verificado na Figura 2.



FIGURA 2 - SAPECADOR DE ERVA-MATE

FONTE: O AUTOR, 2006.

Como principal objetivo desta etapa, tem-se a redução da umidade e inativação de enzimas (peroxidases e polifenoloxidases que causam a oxidação do produto) e escurecimento das folhas (PRAT KRICUN, 1994; VALDUGA, 1995; ESMELINDRO et al., 2002).

A temperatura média no interior do sapecador é de 400° C e na superfície das folhas 120° C. O tempo de residência é em média de 90 segundos, mas varia em função do equipamento. Esse calor rompe as bolsas de água existentes nas folhas, levando à perda de 30% a 40% do teor de umidade das folhas. O rompimento das vesículas ou bolsas cria uma descontinuidade superficial e auxilia a difusão de oxigênio até as estruturas celulares internas. As chamas produzidas dependem da quantidade e qualidade da lenha utilizada, e a experiência do operador de sapecamento é primordial para que não se queime a erva-mate ou a deixe crua (MAZUCHOWSKI, 1991; VALDUGA, 1995; ESMELINDRO et al., 2002).

Segundo BERTONI et al. (1992 e 1993) o processo de saponificação dos lipídios existentes na folha fresca tem como resultado a formação de compostos precursores do aroma da erva-mate, que ocorre nessa fase da industrialização.

Após o sapeco, procede-se a pré-secagem e secagem. A erva sapecada passa então para a fase de secagem, que consiste em desidratar as folhas até que estas adquiram uma consistência quebradiça e crespa. Os secadores mecânicos são os equipamentos mais modernos no setor. Estes secam as partes das folhas de maneira uniforme, com maior rapidez, minimizando perdas devido a uma melhor utilização da fonte de calor (VALDUGA, 1995).

A pré-secagem é realizada para redução de teor de água nas folhas e partes dos ramos. O processo é executado em cilindro rotativo semelhante ao de sapecamento, porém com maior tempo de residência que aquele, de 2 a 9 minutos e temperaturas entre 80° C (KOWAKAMI e KOBAYASHI, 1991) e 250° C (PRAT KRICUN, 1994), deixando o material com umidade final de 15% (NIETSCHE, 2002).

A secagem pode ser realizada em dois tipos de secadores: rotativo e de esteira. A principal diferença entre os dois tipos de secadores está relacionada com o contato da matéria-prima com a fumaça durante o processo de secagem, o que influencia severamente o sabor do produto final, além da fonte de calor utilizada, geralmente lenha (ESMELINDRO et al., 2002).

No secador rotativo, a fumaça entra em contato direto com o produto, e no secador de esteira, o contato é indireto, causando menores danos à matéria-prima. Segundo ESMELINDRO et al. (2002), o tempo de residência e a temperatura média da erva nos secadores dependem das características operacionais de cada um. No secador de esteira, o tempo médio é de 3 horas e a temperatura varia entre 90 e 110° C. No secador rotativo, o produto permanece em contato direto com a fumaça por aproximadamente 30 minutos. No entanto, a temperatura não apresenta a mesma uniformidade da utilizada no secador de esteira, sendo que na entrada do secador a temperatura média é de 350° C e na saída 110° C.

Após secas, as folhas passam por um processo de peneiramento, denominado cancheamento. Na etapa do cancheamento a erva-mate é peneirada em material assoalhado, chamado "cancha", furado para processar o peneiramento (COSTA, 1989) e o material coletado passa a denominar-se erva "cancheada" (ESMELINDRO et al., 2002).

Neste peneiramento ocorre também a separação de parte dos palitos ou ramos, presentes na massa foliar desidratada. Estes palitos desidratados são geralmente queimados, ou simplesmente descartados ou usados como lenha ou fertilizante.

São atualmente utilizados pelas indústrias equipamentos denominados "cancheadores", que nada mais são que trituradores, que reduzem o tamanho das folhas secas. De acordo com ROCHA JUNIOR (2001) a redução de tamanho é feita por roscas sem fim, que moem e trituram a erva-mate de acordo com a rotação que é dada à rosca, levando a erva diretamente para o armazém, de onde seguirá para o soque.

A redução de tamanho das folhas secas, e conseqüentemente o aumento da superfície de contato com o ar atmosférico, também é importante para a formação do perfil de sabor desejado pelo consumidor de chimarrão, durante a fase de estacionamento ou descanso das folhas cancheadas.

A folha cancheada pode ser usada diretamente como matéria-prima para a produção de chás ou, após passar pelo processo de beneficiamento, como chimarrão.

Uma vez cancheadas, as folhas passam por um processo de armazenagem ou estacionamento, fundamental para a formação do seu sabor. Nesta etapa, também conhecida como maturação ou envelhecimento, são atingidos os perfis de sabor necessários ao produto final, que foram iniciados no sapeco das folhas, sendo, portanto uma das etapas mais importantes, desde a colheita ao beneficiamento.

Segundo alguns autores, a formação do sabor se dá pela auto-oxidação dos lipídios presentes nas folhas. Devido às propriedades antioxidantes dos compostos polifenólicos – naturalmente presentes em grandes quantidades nas folhas frescas – a velocidade de auto-oxidação dos lipídios depende da temperatura e grau de aeração da erva-mate no estacionamento.

Segundo consultas feitas a fabricantes de erva-mate, os produtos destinados ao consumo do mercado brasileiro, esse período é curto, e varia em função da época do ano. O tempo médio de estacionamento para a erva cancheada destinada ao mercado nacional é de apenas seis meses, enquanto que a erva destinada à

exportação esse tempo chega até dois anos, o que acarreta em mudanças de sabor e cor, como se pode ver na Figura 3.



FIGURA 3 - ERVA-MATE CANCHEADA VERDE E ESTACIONADA

FONTE: O AUTOR, 2006.

O estacionamento deve ser feito embalando-se a erva cancheada em sacos de polipropileno de aproximadamente 50 kg, empilhados sobre *pallets* que permitam a aeração na parte inferior. As pilhas destes sacos são cobertas com uma lona, para evitar a contaminação com poeira, pragas e umidade excessiva.

Terminado o período de estacionamento desejado, realiza-se o beneficiamento e finalmente a embalagem da erva-mate. O beneficiamento consiste basicamente de três operações: o soque, a separação e a mistura ou blend para compor o tipo de composto de erva -mate para chimarrão desejada pela empresa.

O soque consiste em uma bateria de pilões mecânicos onde a erva-mate é socada até atingir a granulometria desejada. Quanto mais tempo a erva ficar nessa fase, mais fina será. Nesta etapa é gerado um dos subprodutos utilizados neste projeto. Um pó de folhas, muito fino para ser usado nos compostos para chimarrão é formado, e passa a ser descartado.

Antes de erva-mate seca ser levada para o soque, a mesma passa por uma pré-limpeza para a retirada de partículas sólidas, impurezas e material inerte. A fase seguinte consiste em fazer a limpeza da erva-mate por meio de peneiras,

ventiladores e filtros coletores de pó, que permitem a separação de material inerte e de pequenas impurezas da erva-mate cancheada em pó, talinhos e paus (ROCHA JUNIOR, 2001). A erva-mate é separada por uma série de peneiras, de acordo com os tamanhos de partículas, sendo os palitos (denominação dada aos talos secos dos ramos da erva-mate, que são colhidos juntamente, com as folhas com alto teor de lignina, responsáveis pela suavidade da bebida chimarrão) também separados.

As impurezas e material inerte são descartados, e com o material limpo e selecionado é feita a mistura, de acordo com a granulometria que cada empresa deseja para compor o tipo de erva que será comercializado.

Os palitos e as folhas são desidratados separadamente e, depois, agregados novamente na confecção do *blend*. Um dos fatores que podem ser responsáveis pela suavidade do sabor da erva-mate é a quantidade de palito que há na erva-mate, porém o excesso destes palitos caracterizará um produto de qualidade inferior.

Finalizada a etapa de beneficiamento da erva-mate, a mesma segue para ser embalada e comercializada. A erva-mate beneficiada pode ter basicamente dois destinos:

Mercado consumidor: fabricação de compostos de chimarrão. Produto embalado em pacotes de papel, polietileno e aluminizados, para evitar o contato do produto com a umidade;

Mercado industrial: diferentes partes obtidas no beneficiamento (pó, goma, talos, folha cancheada) são embaladas separadamente e levadas à mistura para obter os produtos desejados, ou vendidas a terceiros.

# 2.5 CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DA ERVA-MATE

As investigações químicas relativas à composição da erva-mate foram iniciadas por TROMMSDRFF, em 1836, que constatou a presença de diversas substancias resinosas, matéria corante e ácido tânico. Por sua vez, Stenhouse em 1843, descobriu a presença de cafeína como seu principal alcalóide, relatando teores de apenas 0,13%; porém, na continuidade das pesquisas, em 1854 fixou teores variando de 1,10% até 1,23% (VALDUGA, 1995).

Segundo VALDUGA (1995) o teor de cafeína na erva atinge em média 1,6%, enquanto que nas infusões o valor médio é de 1,10%. Outros trabalhos apontam valores menores nas folhas, mas deve ser levado em conta que o produto não foi seco e que existem diferenças de variedades de llex paraguariensis e processos de fabricação.

Na composição química aparecem alcalóides como a cafeína, metilxantina, teofilina e teobromina, taninos, vitaminas (A, B1, B2, C e E), sais minerais (Alumínio, Cálcio, Fósforo, Ferro, Magnésio, Manganês e Potássio), glicídios (glicose, frutose, rafinose e sacarose), lipídios (óleos essenciais e substâncias ceráceas) além da celulose, dextrina, sacarose e gomas (VALDUGA, 1995; NEWELL et al., 1996; ANUÁRIO BRASILEIRO DA ERVA-MATE, 1999).

Também de acordo com VERONESE (1944) foram identificados os seguintes compostos na erva-mate: água, celulose, gomas, dextrina, mucilagem, glicose, pentose, substâncias graxas, uma resina aromática (uma mistura de oleína, palmitina, lauro-estearina e um óleo cujas características eram similares a cumarina), legumina, albumina, cafeína, teofilína, cafearina, cafamarina, ácido matetânico, ácido fólico, ácido cafêico, ácido virídico, clorofila, colesterina e óleo essencial. Além disso, nas cinzas foram encontradas grandes quantidades de potássio, lítio, ácidos fosfórico, sulfúrico, carbônico, clorídrico e cítrico, além de magnésio, manganês, ferro, alumínio e traços de arsênico.

Os três principais alcalóides, cafeína, teobromina e teofilina são os compostos mais interessantes do ponto de vista terapêutico. Estes compostos variam em função da idade da planta, existindo em maior quantidade nas plantas mais jovens. As metilxantinas apresentam uma série de atividades farmacológicas, agindo sobre o sistema nervoso central, cardiovascular, renal e digestivo. Estes compostos atuam sobre o sistema nervoso central como um estimulante, facilitando a atividade cortical, inibindo o sono e diminuindo a sensação de fadiga, explicada pela forma que atuam sobre os centros respiratórios e vaso motores bulbares, diminuindo a sensibilidade dos quimio-receptores ao dióxido de carbono (VALDUGA, 1995).

A teofilina é conhecida por atuar sobre o sistema cardiovascular, desenvolvendo uma ação sobre a capacidade de contração do tecido muscular que fortalece a ação muscular. Também aumenta a freqüência e o desgaste cardíaco

coronário. Sobre a musculatura lisa, a ação da teofilína é menos acentuada. A teobromina induz a um relaxamento não específico da musculatura brônquica, das vias biliares e dos ureteres. A cafeína tem um efeito mais pronunciado sobre a musculatura estriada, estimulando a contração e reduzindo a fadiga muscular. A teobromina e teofilina aumentam o fluxo sangüíneo renal e a filtração globular, demonstrando uma atividade diurética, sendo mais duradoura para a teobromina. A cafeína entra em diversos medicamentos com ação analgésica, antipirética e antigripal (BRUNETON, 1991; SIMÕES et al., 2000; NEWELL et al., 2002; NIETSCHE, 2002).

Segundo MAZZAFERA (1996) a distribuição de purinas, cafeína, teobromina e teofilina é bastante variável na erveira. O conteúdo desses constituintes em folhas jovens e frutos imaturos ou verdes é maior que em folhas velhas e frutos maduros.

REGINATTO et al. (1999) analisaram o teor de xantinas em extratos de diversas espécies do gênero *llex* (muitas utilizadas como adulterantes de *llex* paraguariensis), como reportado na Tabela 3.

TABELA 3 – CROMATOGRAFIA DE CAMADA DELGADA E OS COEFICIENTES DE PARTIÇÃO (Rf) EM EXTRATOS DE ESPÉCIES DO GÊNERO *ILEX* 

PADRÃO OU AMOSTRA	CAFEÍNA	TEOBROMINA	TEOFILINA
Padrão	0,79	0,29	0,07
llex brevicuspis	0,96	0,69	0,21
Ilex microdonta	0,96	0,69	0,21
llex paraguariensis var. paraguariensis	0,79	0,69	0,29
llex paraguariensis var. vestita	0,69	0,29	0,21

FONTE: REGINATTO et al. (1999)

Eles encontraram cafeína (0,65%) e teobromina (0,12%) em *Ilex* paraguariensis var paraguariensis e cafeína (0,003%) e teobromina (0,22%) em *Ilex* paraguariensis vars vestita. Foi detectada a ausência de metilxantinas nas variedades adulterantes, sendo que apenas a *Ilex paraguariensis* acumulou cafeína e .teobromina,

BARBOZA (2006) encontrou 1,55% de cafeína, e 0,337% de teobromina em amostras de folha verde cancheada de erva-mate.

CAMPOS (1991) avaliaram o balanço de nutrientes em erva-mate coletada em diferentes safras, encontrando que o produto é rico em polifenóis hidrossolúveis, como ácido isoclorogênico, ácido caféico e ácido clorogênico.

Segundo OHEM e HÖLZL (1998), os flavonóides e as substâncias lipofílicas presentes nas folhas de llex paraguariensis causam efeitos farmacológicos, como redução do apetite.

CAMPOS (1991) descreveram que os teores de nutrientes presentes na biomassa da "safrinha" de erva-mate realizada no verão são menores que os obtidos na safra tradicional de inverno. O fenômeno foi observado para a maioria dos nutrientes, em povoamentos de 9 a 12 anos de idade, no tocante à biomassa e à distribuição de nutrientes produzida em duas safras. Em uma planta de 9 anos de idade, temos de 10 a 35% de folhas e talos, com interesse comercial, enquanto numa planta com 12 anos de idade, essa quantidade sobe para 36 a 42%.

Segundo VALDUGA (1995), o sabor amargo e formação de espuma são dados pelas saponinas, que são substâncias glicosídicas com a propriedade de, em solução aquosa, provocar a formação de espumas, como sabão. Devido à redução da tensão superficial, apresentam ação detergente e emulsificante. As saponinas são formadas por uma fração de açúcares e outra de não-açúcares, chamada de aglicona. Encontrou-se na llex paraguariensis dez saponinas, tendo como aglicona o ácido ursólico ou ácido oleanolóico e como açúcares arabinose, glicose e ramnose (GOSSMAN, SCHENKEL e SELIGMANN, 1989; GOSMANN, GUILLAUME e TAKET 1995; SCHENKEL et al., 1995).

VALDUGA (1995) mostra a composição da erva-mate quanto composição centecimal, teor de minerais e vitaminas (Tabelas 4, 5 e 6), onde se pode observar uma considerável variabilidade entre valores máximos e mínimos para cada componente. Tais variações podem ter sido causadas por variações genéticas, diferente procedência, falta de cuidados na amostragem e inclusive erros de análise.

TABELA 4 – COMPOSIÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA ERVA-MATE (EM 100g)

COMPONENTES	VALOR MÍNIMO (g)	VALOR MÁXIMO (g)	VALOR MÉDIO (g)
Umidade	5,36	9,80	8,17
Proteínas	8,30	13,45	10,89
Carboidratos	9,70	14,18	12,04
Amido	2,56	6,63	4,55
Glicose	1,30	6,14	3,84
Fibras	14,96	19,95	16,96

FONTE: VALDUGA, 1995

TABELA 5 – COMPOSIÇÃO MINERAL DA ERVA-MATE (EM 100g)

COMPONENTES	VALOR MÍNIMO (g)	VALOR MÁXIMO (g)	VALOR MÉDIO (g)
Cinzas	6,310	7,780	6,910
Cloro	0,082	0,160	0,116
Enxofre	0,082	0,168	0,125
Fósforo	0,074	0,214	0,120
Cálcio	0,597	0,824	0,668
Magnésio	0,134	0,484	0,337
Potássio	1,181	1,554	1,350
Sódio	-	0,003	0,002
Ferro (mg)	-	94,000	59,900
Cobre (mg)	0,600	1,600	1,260
Manganês (mg)	30,200	183,000	133,180

FONTE: VALDUGA, 1995

TABELA 6 – TEOR DE VITAMINAS DA ERVA-MATE (EM 100g)

	ν σ,			
COMPONENTES	VALOR MÍNIMO	VALOR MÁXIMO	VALOR MÉDIO	
Caroteno (mg)	0,639	2,267	1,234	
Carotina (UI de vit. A)	1,065	3,779	2,095	
Tiamina (μg)	62,300	313,100	222,700	
Riboflavina (mg)	246,000	573,900	404,300	
Ácido Ascórbico (mg)	8,200	20,700	11,900	

FONTE: VALDUGA, 1995.

# 2.6 CONSUMO DA ERVA-MATE – PRODUTOS EXISTENTES E TENDÊNCIAS

Além do chimarrão, a erva-mate pode ser usada para várias finalidades, que vão da indústria de alimentos, medicamentos, higiene e limpeza, até cosméticos e perfumaria.

A Câmara Setorial da Erva-Mate do Estado do Paraná, apoiada por recursos oriundos do Ministério da Ciência e Tecnologia e das Indústrias de Erva-Mate do Estado do Paraná, desenvolveu o Projeto Plataforma Tecnológica da Erva-Mate (PADCT da Erva-Mate) no ano de 2000, identificando os aspectos fundamentais para o desenvolvimento tecnológico do setor ervateiro, com descrição dos temas prioritários para a pesquisa e investimento setorial. Para tanto, como resultante do esforço integrado dos membros das diversas atividades desenvolvidas, foram publicados os documentos abaixo relacionados, os quais dão direcionamento às demandas do setor ervateiro:

- a) Produtos Alternativos e de Desenvolvimento de Tecnologia Industrial;
- b) Patentes Industriais e as Prioridades para Investimentos Industriais;
- c) Normativos Legais e as Prioridades para Pesquisas Tecnológicas.

As tecnologias identificadas no estudo da cadeia produtiva da erva-mate, referentes às alternativas do segmento industrial, induziram os membros integrantes da Câmara Setorial da Erva-Mate do Paraná a priorizar as Informações relativas à obtenção de bebidas com padrão sensorial de erval sombreado, com vistas a atender ao mercado consumidor brasileiro e de terceiros países (MAZUCHOWSKI, 2004). Algumas das possíveis alternativas de uso para erva-mate, levantadas pelo PADCT estão descritas no Quadro 2.

QUADRO 2 – POSSIBILIDADES DE UTILIZAÇÃO DA ERVA-MATE POR CAMPO DE APLICAÇÃO

APLICAÇÃO INDUSTRIAL	SUB-PRODUTOS COMERCIAIS	FORMA DE CONSUMO
Bebidas	Chimarrão Tererê Chá-mate queimado, verde/cozido, solúvel.	Infusão quente ou fria
	Refrigerantes e sucos Cerveja Vinho Corante natural Conservante natural	Extrato de folhas diluído
Insumos de Alimentos	Sorvete Balas, Bombons e caramelos Chicletes e gomas	Clorofila e óleo essencial
Medicamentos	Estimulante do sistema nervoso central	Extrato de cafeína e teobromina
caramento	Compostos para o tratamento de hipertensão, bronquite e pneumonia Bactericida e antioxidante hospitalar e doméstico	Extratos de flavonóides
Higiene geral	Esterilizante Emulsificante	Extrato de saponinas e óleo essencial
	Tratamento de esgoto Reciclagem de lixo urbano Perfumes e desodorantes	
Produtos de uso Pessoal	Cosméticos Sabonetes	Extrato de folhas seletivo e clorofila

FONTE: PARANÁ, 1997

Atualmente no mercado Brasileiro de bebidas não-alcoólicas, destacam-se os crescimentos das bebidas energéticas, sucos de frutas e chás prontos para o consumo. Estes produtos apresentam as maiores perspectivas de crescimento (de 2004 a 2008), como se observa no Gráfico 2.

GRÁFICO 2 – VARIAÇÃO DE VOLUME PARA BEBIDAS PARA O MERCADO BRASILEIRO 2004 A 2008

FONTE: EUROMONITOR, 2004

### 2.7 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

### 2.7.1 Espécies Reativas de Oxigênio

Atualmente sabe-se bem que radicais oxigenados, ou espécies reativas de oxigênio (ERO) estão envolvidas em várias doenças patológicas como câncer, problemas cardiovasculares, artrite, inflamações e doenças do fígado (MCCORD, 1974; AMES, 1993; HALLIWELL, 1994; SILVA et al., 2005).

Várias substâncias antioxidantes presentes nos tecidos humanos, e fornecidas pela dieta, essencialmente de plantas, podem proteger o corpo dos danos induzidos pelos radicais oxigenados (HALLIWELL, 1996). Nesse sentido, um aumento no interesse nas propriedades antioxidantes de polifenóis, flavonóides e categuinas tem sido dado (COOK, 1996).

Estas espécies reativas de oxigênio (oxigênio, radical superóxido, radical hidroxila e peróxido de hidrogênio) comumente geradas em processos metabólicos são caracterizadas pela alta reatividade e facilidade em oxidar outras moléculas,

contudo com intensidade de ação distinta (PODDA e GRUNDMANN - KOLLMANN, 2001).

### 2.7.2 Estresse Oxidativo

O estresse oxidativo dentro do organismo se dá quando a geração de radicais livres é maior que a de substâncias antioxidantes (CHAUDIERE e FERRARI-ILIOU, 1999; CHOW, 2002). As consequências deste estresse são:

- a) Peroxidação dos lipídios da membrana celular: inicia-se com a subtração de íons hidrogênio do grupo metileno dos fosfolipídios, com posterior produção de dienos conjugados, hidroperóxidos e formação de outras espécies reativas mais deletérias à célula, como os radicais alcoxil e peroxil. Com a lesão, altera-se a fluidez da membrana e, com isso, a sua permeabilidade; como conseqüência ocorrem alterações das trocas iônicas, acarretando um influxo excessivo de cálcio, o qual ativa enzimas autolíticas, causando proteólise e morte celular (FRAGA FILHO, 2003; OLIVEIRA, 2003);
- b) Oxidação de proteínas: resultante da oxidação dos radicais livres sobre os grupos tióis, causa agregação e fragmentação de aminoácidos. A cisão pelos radicais livres do anel desoxirribose dos ácidos nucléicos promove mutações no ácido desoxirribonucléico (DNA) e no ácido ribonucléico (RNA) e inibição da síntese protéica (OLIVEIRA, 2003);

De acordo com FINKEL e HOLBROOK (2000) os danos causados pelas espécies reativas de oxigênio incluem mutação do DNA, oxidação protéica e peroxidação de lipídios, contribuindo para o desenvolvimento de câncer, diabetes, arterioclorose, inflamação e envelhecimento precoce.

### 2.7.3 Substâncias Antioxidantes

As substâncias antioxidantes atuam sobre as espécies reativas de oxigênio e outros radicais livres, inibindo ou inativando seus efeitos. Estas podem agir bloqueando a formação dos radicais livres ou interagindo com estes, inativando-os.

Portanto, os antioxidantes são definidos como qualquer substância capaz de doar elétrons para um radical livre, inativando-o, tornando-o um composto quimicamente estável (OLIVEIRA, 2003).

Além disso, a célula também deve ser protegida dentro e fora dela por outros sistemas além dos antioxidantes. Além dos antioxidantes, ela é protegida por vários captadores não – enzimáticos, incluindo carotenóides, a vitamina C (hidrossolúvel), a vitamina E (lipossolúvel), ubiquinol – 10 (coenzima Q10) e outras substâncias como cisteína, ácido úrico e glutationa. Utilizam-se também, de substâncias quelantes de íons metálicos para prevenir a reação de Fenton (SOUSSELIER e BENTHON, 1998; PODDA e GRUNDMANN-KOLLMANN, 2001; WICKENS, 2001).

## 2.7.4 Compostos Naturais de Poder Antioxidante

Enzimas como as peroxidases, superóxido dismutase e catalases normalmente eliminam espécies reativas de oxigênio. Diferentes polifenóis e derivados de ácidos cafeóicos também demonstram ser potentes antioxidantes interferindo no potencial oxidativo ou antioxidativo da célula, ou atuando como seqüestradores de radicais livres, prevenindo a oxidação de lipossomos (WANG et al., 1999; LODOVICI et al., 2001; ANESINI; FERRARO; FILIP, 2005).

Nos últimos anos, os flavonóides têm recebido atenção especial, sendo alvo de estudos que comprovassem suas atividades antioxidantes, antiinflamatórias, antivirais e antimicrobianas, redução do risco de doenças cardiovasculares, diferentes tipos de câncer e envelhecimento celular. Os estudos foram iniciados da observação de que grupos humanos com consumos consideráveis de alimentos ricos nessas substâncias possuíam baixos índices de doenças coronárias, câncer, entre outras (ANDERSON, 1996; FILHO et al., 1999).

O termo flavonóide engloba um grupo de compostos fenólicos com estrutura comum, caracterizada por dois anéis aromáticos (A e B) e um anel heterocíclico oxigenado (FILHO et al., 1999), representado na Figura 4 pela Rutina, que na natureza possui distribuição ubíqua, sendo encontrado em praticamente todas as plantas, frutas e vegetais, estando presente abundantemente na dieta do homem (BRAVO, 1998; VAN ACKER et al., 1998).

#### FIGURA 4 – RUTINA

FONTE: RUTIN, 2007

Estudos in vitro têm sugerido que o potencial antioxidante dos flavonóides possa estar associado às hidroxilas fenólicas presentes na sua estrutura, possibilitando a doação de elétrons dos grupos OH- para os radicais livres (CHEN, 1996; HEIJNEN et al., 2001), estabilizando-os, além da quelação de íons metálicos, particularmente os divalentes, como Cu<sup>+2</sup> e o Zn<sup>+2</sup> (HAVSTEEN, 1983; RICE-EVANS; MILLER; PAGANGA., 1996; LEAKE, 2001; MAGNANI, GAYDOU, HUBAUD, 2000). Desta maneira, é possível que a atividade antioxidante dos flavonóides esteja na neutralização de radicais livres, inibindo a peroxidação lipídica (ANDERSON, 1996; BENAVENTE et al., 2000).

### 2.7.5 Atividade Antioxidante da *llex paraguariensis*

A erva-mate é reconhecida mundialmente pelo seu valor nutricional e medicinal, sendo incluída em importantes códigos alimentares, como o Código Alimentar Latino-americano, Farmacopéia Brasileira, Código Alimentar Argentino, Farmacopéia Erval Britânica e Farmacopéia Suíça.

As formas de consumo da erva-mate, mediante infusões com água quente permitem a extração quase que completa de todos os constituintes da planta solúveis em água (FILIP et al., 2000).

Recentemente, foi reportado que extratos aquosos de llex parguariensis possuem as seguintes propriedades (relacionadas à sua atividade antioxidante):

FILIP et al. (2000 e 2001) estudaram a atividade antioxidante da llex paraguariensis e espécies relacionadas (utilizadas como adulterantes) verificando a oxidação de lipossomos na presença de extratos de llex spp., e qualificou e quantificou derivados cafeóicos e composto fenólicos em sete espécies sulamericanas do gênero llex;

SCHINELLA et al. (2000 e 2005) estudaram a atividade antioxidante de extratos aquosos de llex paraguariensis usando métodos geradores de radicais livres. Os extratos inibiram a peroxidação enzimática e não-enzimática em microssomos do fígado de ratos; reduziu a peroxidação de membranas de células vermelhas induzida pelo radical H<sub>2</sub>O<sub>2</sub><sup>-</sup>; exibiu propriedades seqüestrantes por meio do ânion superóxido e radical DPPH e inibiu a oxidação induzida por cobre da lipoproteína de baixa densidade no plasma humano, sugerindo que alguns compostos presentes no extrato podem aumentar a capacidade antioxidante da fase aquosa do plasma;

ANESINI et al. (2005) verificaram que extratos de llex paraguariensis possuem atividade antioxidante similar à ação da enzima peroxidase, demonstrando que tal atividade está claramente relacionada com o conteúdo total de polifenóis;

LUNCEFORD e GUGLIUCCI (2005) verificaram que extratos de llex paraguariensis inibem in vitro a formação de produtos finais de glicação avançada (AGE) mais eficientemente que chá verde;

BASTOS et al. (2006) concluíram nas condições que conduziu seu estudo, que infusões de folhas tostadas de erva-mate, chá verde possuem o mesmo poder antioxidante (*in vitro*) que Hidroxitolueno butilado (BHT), um conhecido antioxidante fenólico, de ampla utilização em alimentos.

Os estudos acima descritos sugerem que a ingestão diária de infusões de llex paraguariensis aumentam as defesas do organismo contra o ataque de radicais livres, porém poucos estudos in vivo foram encontrados.

FILIP et al. (2000) sugeriram que pela habilidade de prevenir a oxidação de lipossomos, os extratos de llex paraguariensis possuem atividade antioxidante duas vezes superior se comparadas com vinho tinto. O consumo de 400 mL/dia de infusão, preparados com 70g de material seco da planta supririam aproximadamente a mesma atividade antioxidante de dois copos de vinho tinto ou quarto xícaras de chá preto.

## 2.7.6 Métodos Analíticos de Avaliação de Atividade Antioxidante

Os efeitos antioxidantes de uma substância são medidos indiretamente, pelos de seus efeitos em um sistema ou substrato ou sistema biológico onde tais efeitos possam ser monitorados. A maioria desses métodos usa processos oxidativos, que envolvem a adição de um agente "starter", como a temperatura, agitação ou uma pressão parcial de oxigênio, um metal de transição ou mesmo a exposição à luz, para acelerar o processo, e uma fonte de radicais livres específica. Esses radicais são então, oxidados sob condições padronizadas e o grau de oxidação, ou sua extensão medidas (ANTOLOVICH et al., 2002).

De maneira geral, os métodos de avaliação da atividade antioxidante avaliam o efeito de diferentes concentrações de substâncias antioxidantes em concentrações conhecidas de radicais livres ou comparam a ação de diversos agentes oxidantes em sistemas celulares, usando sempre substâncias de referência como vitaminas C e E, BHT, quercitina, rutina entre outros (PIETRO; PINEDA; AGUIAR, 1999; ARBOS, 2004).

Dos métodos *in vitro* pesquisados, um em particular destaca-se pela sua simplicidade e capacidade de avaliar a atividade antioxidante de determinadas substâncias, em condições de temperatura ambiente, usando um radical livre estável. Tal metodologia foi desenvolvida por BLOIS (1958), e utiliza o radical DPPH (1, 1-difenil-2-picrilhidrazil) e tem sido amplamente utilizado como um método químico para a investigação do potencial antioxidante de produtos naturais, particularmente para extratos de plantas medicinais (BRACA et al., 2001; BRACA et al., 2002; SILVA, 2005).

O DPPH é um radical livre estável que, na presença de um antioxidante doador de hidrogênio (AH), pode ser reduzido em meio alcoólico, formando difenil picrilhidrazina (KOLEVA et al., 2002).

Esta redução pode ser verificada mediante espectrofotometria a 518 nm, pela diminuição da absorbância, com simultânea mudança de coloração violeta escura original, para amarela clara (KOLEVA et al., 2002). Ou seja, quanto mais DPPH for reduzido, menor a coloração violácea, consequentemente maior a atividade antioxidante da solução testada. Este método é muito popular, pois utiliza

reagentes e equipamentos de custo não muito elevados, e a análise é realizada à temperatura ambiente, sendo que o tempo de reação varia entre 10 a 30 minutos.

Existe, porém, para uma confirmação mais precisa sobre a atividade antioxidante de um extrato vegetal, a necessidade de realizar diferentes análises, *in vitro* e *in vivo*, que utilizem diversos mecanismos de reação, pois como verificado em trabalhos que compararam a atividade antioxidante *in vitro* e *in vivo* de extratos vegetais, alguns deles apresentaram pouca atividade antioxidante quando avaliados por um método *in vitro*, e uma atividade antioxidante elevada quando utilizado um método *in vivo*.

## **3 MATERIAL E MÉTODOS**

#### 3.1 MATERIAL

## 3.1.1 Material para Preparo dos Extratos Aquosos

As matérias-primas utilizadas na elaboração dos extratos aquosos que compuseram a bebida foram dois subprodutos da indústria ervateira, fornecidos por duas empresas paranaenses. Estes subprodutos são provenientes da industrialização das folhas de erva-mate para fabricação de compostos para consumo de chimarrão, e são simplesmente descartados ou queimados pela maioria das indústrias.

O pó de folhas cacheadas de erva-mate, (Figura 5 - que a partir deste ponto será denominado de PFC) - gerado na etapa de cancheamento e soque das folhas verdes de erva-mate, e ramos desidratados (Figura 6 – que a partir deste ponto serão denominados RDM), que ficam retidos nas peneiras de cancheamento, e que neste projeto, visando melhorar o rendimento da extração passaram por uma etapa preliminar de moagem.



FIGURA 5 - PÓ DE FOLHAS CANCHEADAS DE ERVA-MATE

FONTE: O AUTOR, 2006.



FIGURA 6 - RAMOS DESIDRATADOS E MOÍDOS DE ERVA-MATE

FONTE: O AUTOR, 2006

# 3.1.1.1 Padronização das amostras de PFC e RDM

Tanto o PFC como os RDM foram peneirados visando uma padronização no tamanho de partícula utilizado na extração. Foram utilizadas peneiras de 2,0, 1,0, 0,85 e 0,30 mm, e trabalhou-se com o pó retido na peneira de 0,85 e 0,30 mm, descartando-se o resto.

### 3.1.2 Desenvolvimento da Bebida

Para desenvolver a bebida à base destes subprodutos (denominada Nativa II) - foram utilizados como principais ingredientes:

Extrato aquoso do pó de folhas cancheadas de erva-mate (de agora em diante denominado EPFC);

Extrato aquoso dos ramos desidratados moídos de erva-mate (de agora em diante denominada ERDM).

34

Estes extratos proporcionaram cor e sabor característicos à bebida. Os extratos foram preparados por infusão em água destilada quente, simulando o processo tradicional de preparo de chás e bebidas à base de erva-mate.

Além dos extratos aquosos, foram utilizados os seguintes ingredientes no preparo da bebida:

Água mineral;

Sacarose;

Ácido cítrico anidro granular 95%;

Ácido fosfórico 85% p.a.;

Ácido tartárico p.a.;

Aroma idêntico ao natural de erva-mate;

Citrato trissódico dihidratado granular.

As características físico-químicas da água mineral utilizada são as seguintes: pH (25° C): 7,35; condutividade elétrica (25° C): 251 μS/cm; Resíduo de evaporação (180 °C): 148,48 mg/L.

### 3.1.3 Análises de Atividade Antioxidante

Para a realização das análises de atividade antioxidante foram utilizados os seguintes reagentes:

Etanol 99% p.a.;

Padrão analítico de DPPH (1, 1-difenil-2-picrilhidrazil);

Padrão analítico de Rutina:

Espectrofotômetro

Rotaevaporador

# 3.2 MÉTODOS

## 3.2.1 Pré-Tratamento da Matéria-Prima dos Extratos Aquosos

Visto a fina granulometria do PFC, não foi necessário realizar nenhum tipo de pré-tratamento objetivando elevar o rendimento da extração. Porém, para os ramos desidratados fez-se necessária uma redução do tamanho de partícula, pois o produto inicial não favorece uma extração eficiente.

Os ramos foram processados num moinho de facas, em malha de 0,30 mm, gentilmente cedido pelo Laboratório de Polpa de Madeira da UFPR.

### 3.2.2 Características Físico-Químicas da Matéria-Prima

#### 3.2.2.1 Umidade

Para determinar a umidade das amostras de PFC e RDM foi utilizado o método baseado nas normas analíticas do IAL (1985). Utilizaram-se 10 gramas da amostra em 4 determinações – foram aquecidas a 105° C durante 3 horas, resfriadas em dessecador até temperatura ambiente e pesadas.

### 3.2.2.2 Cinzas

A metodologia utilizada é descrita por FREITAS (1977). O método fundamenta-se na perda de peso que ocorre quando a amostra é incinerada a 550° C com destruição da matéria orgânica, sem apreciável decomposição dos constituintes do resíduo mineral ou perda destes por volatilização.

## 3.2.2.3 Proteínas, lipídeos e carboidratos

Determinaram-se as características físico-químicas das amostras de PFC e RDM, quanto proteínas, lipídeos e carboidratos, utilizando metodologia descrita por FREITAS (1977) e ITAL (1982).

### 3.2.2.4 Características Físico-Químicas da Bebida Final

A formulação final escolhida na análise sensorial de escala hedônica será submetida a análises físico-químicas para determinar sua composição centesimal, acidez titulável, pH e <sup>o</sup>Brix, de acordo com as metodologias específicas para análises em bebidas, descritas por IAL (1985), FREITAS (1977).

## 3.2.3 Preparo dos Extratos Aquosos

Para preparação dos extratos aquosos usados na bebida, usaram-se técnicas sugeridas por BURGARDT (2000), SAMBIASI, ESCALADA e SCHMALKO (2002) e SCHINELLA et al. (2000) com algumas adaptações.

No preparo dos extratos aquosos utilizaram-se 100g de PFC foram adicionados a 900g de água destilada quente (80° C) sob agitação constante. A extração ocorreu até que a temperatura do sistema caísse até 40° C. Após isso, a mistura foi filtrada à vácuo utilizando filtro quantitativo tarja preta (Marca Framex # 389/1). O mesmo procedimento foi seguido na preparação do extrato de RDM.

A quantidade total de extrato na bebida foi fixada em 21,5% peso/peso mediante ensaios preliminares em laboratório, levando em conta a cor, sabor e corpo proporcionados à bebida.

### 3.2.4 Desenvolvimento da Bebida Final

Utilizaram-se no desenvolvimento desta bebida três acidulantes - ácido cítrico, tartárico e fosfórico - de uso comum na formulação de chás e bebidas à base de erva-mate prontas para beber, para proporcionar o perfil organoléptico desejado, em função das diferentes características dos mesmos. Estes acidulantes são geralmente utilizados, pois além de proporcionar o perfil de sabor desejado, eles atuam como quelantes de metais comumente presentes em chás e produtos à base de ervas, que podem acelerar o processo oxidativo das bebidas (VARMAN e SUTHERLAND, 1997). Para adoçar a bebida utilizou-se apenas sacarose. A água utilizada foi mineral, utilizando-se sempre produto do mesmo fabricante e lote.

Por não existir nenhum produto no mercado brasileiro com perfil sensorial similar (apenas produtos à base e erva-mate tostada), buscou-se inicialmente detectar quais eram as características organolépticas mais apreciadas pelos consumidores para este tipo de produto. Para isso foi utilizada numa primeira etapa uma avaliação sensorial de perfil de características.

Por se tratar de uma bebida não-carbonatada e sem conservantes, a conservação foi feita mediante e redução do pH e uso de alta temperatura.

O processo térmico escolhido foi a "autopasteurização", ou enchimento à quente, utilizando o procedimento descrito por VARMAN e SUTHERLAND (1997) com algumas modificações.

Esquentou-se a bebida até 85° C, e imediatamente encheram-se garrafas de vidro, previamente lavadas junto com as tampas em solução de hipoclorito de sódio a 60 ppm e pré-aquecidas até 65° C. Assim que cheias, as garrafas foram lacradas com as tampas metálicas e invertidas por aproximadamente 10 segundos. Imediatamente após esse tempo, as garrafas foram levadas ao resfriamento. O resfriamento foi realizado usando um banho em água fria.

Após reduzir a temperatura até aproximadamente 30 a 35° C, as bebidas foram armazenadas sob refrigeração (7 a 10° C) por três dias, até seu uso nas análises sensoriais. O pH final da bebida foi sempre mantido abaixo de 4,0 – um valor seguro do ponto de vista de conservação microbiológica (VARMAN e SUTHERLAND, 1997).

Além desses ingredientes, aroma idêntico ao natural de erva-mate e citrato trissódico dihidratado granular foi adicionado para evitar possíveis variações de pH e sabor causadas pelo processamento.

### 3.2.5 Análise Sensorial

Buscou-se por meio de análises sensoriais alcançar uma formulação agradável para o consumo e com potencial de venda. Visto que não existe nenhuma bebida similar no mercado, foi necessário identificar quais são os perfis sensoriais mais interessantes para uma bebida como esta.

Para isso utilizou-se inicialmente o teste classificatório de perfil de características, analisando em cinco diferentes formulações quanto cor, sabor característico, doçura, acidez e amargor.

Depois de obtidos os resultados do teste de perfil de características, elaboraram-se três bebidas tomando como base os melhores parâmetros obtidos na análise anterior, variando apenas a proporção de EPFC (extrato de pó de folhas cancheadas) e ERDM (extrato de ramos desidratados e moídos) e realizou-se um teste de escala hedônica.

# 3.2.5.1 Teste classificatório de perfil de características

Solicitou-se aos provadores (semi-treinados) que atribuíssem notas de 1 a 5 para as características sensoriais avaliadas (APÊNDICE 1) para 5 diferentes formulações. Avaliaram-se as formulações quanto cor, sabor característico, doçura, acidez e amargor.

O teste foi realizado com 20 provadores semi-treinados, nas Usinas Piloto do Centro Politécnico da UFPR, das 09h00 às 11h00, e das 14h00 às 17h00.

As médias das notas obtidas foram tratadas estatisticamente. Esta metodologia, de acordo com ANZALDÚA-MORALES (1994) tem como principal utilidade o desenvolvimento de produtos, pois ao observar os perfis sensoriais, o pesquisador pode detectar quais são as características que necessitam ser alteradas, alcançando mais facilmente a formulação ideal.

Os resultados obtidos nestes testes foram submetidos à análise de variância, submetendo as variâncias ao teste de Bartlett quanto à homogeneidade. A comparação das médias foi realizada pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. As análises foram efetuadas utilizando o software estatístico MSTATC V 2.11.

## 3.2.5.2 Teste de escala hedônica

Baseado no resultado do teste classificatório de perfil de características escolheu-se uma formulação "base", com Brix e acidez fixos, variando apenas na

proporção dos extratos EPFC e ERDM. Foi realizado então um teste de preferência (usando uma escala hedônica de 9 pontos) comparando três fórmulas finais.

Solicitou-se aos provadores (semi-treinados) que atribuíssem notas de 1 a 9 para cada uma das bebidas, sendo 1 para "desgostei extremamente" e 9 para "gostei extremamente" (APÊNDICE 2).

O teste foi realizado com 25 provadores semi-treinados, nas usinas piloto do Centro Politécnico da UFPR, das 09h00 às 11h00, e das 14h00 às 17h00.

Os resultados obtidos nestes testes foram submetidos à análise de variância, submetendo as variâncias ao teste de Bartlett quanto à homogeneidade. A comparação das médias foi realizada pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. As análises foram efetuadas utilizando o software estatístico MSTATC V 2.11.

As bebidas, em ambos os testes, foram servidas em temperaturas entre 7 a  $10^{\circ}$  C, em copos descartáveis de 50 mL, codificadas com números de três dígitos aleatórios.

#### 3.2.6 Análises de Atividade Antioxidante

O método escolhido observa a quantidade reduzida, *in vitro*, do radical livre estável DPPH, após 30 minutos. A redução do DPPH é verificada por meio de espectrofotometria (absorbância a 518 nm).

Além da bebida Nativa II, EPFC e ERDM, analisaram-se os seguintes produtos:

Chimarrão – Marca A;

Folhas sapecadas de erva-mate – Marca A;

Folhas cancheadas de erva-mate – Marca A;

Chá verde em saquinhos – Marca B e C;

Chá mate tostado - Marca B e C;

Chá preto em saquinhos – Marca B;

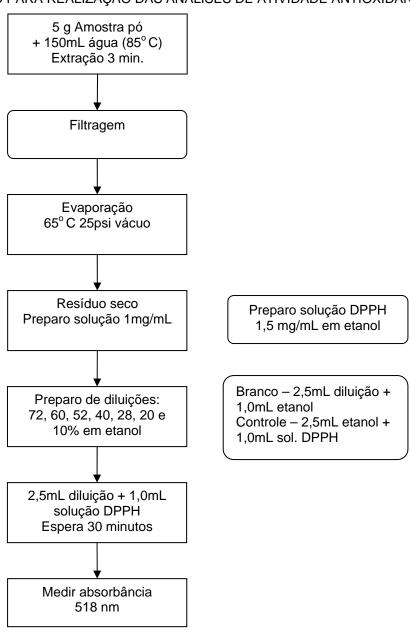
Bebida à base de erva-mate tostada (tipo "mate copo") – Marca B;

Padrão analítico de Rutina - Marca Sigma-Aldrich (usado como referência de polifenol).

Utilizou-se nas determinações um padrão analítico de DPPH – Marca Sigma-Aldrich. Para preparar os extratos aquosos dos chás e chimarrão utilizou-se a metodologia sugerida por SCHINELLA et al. (2000) e HOFFMANN (2006). Pesaram-se 5g do produto, e adicionaram-se 150g de água destilada a 85° C. Esperaram-se 3 minutos, filtrou-se a bebida no papel filtro faixa preta.

O ensaio da atividade antioxidante foi realizado seguindo a metodologia descrita por BRAND-WILLIAMS, CUVELIER e BERSET (1995) e KOLEVA et al. (2002) com as modificações necessárias. O fluxo de operações seguido durante a realização dos ensaios de atividade antioxidantes estão descritos na Figura 7.

FIGURA 7 – PROCEDIMENTO PARA REALIZAÇÃO DAS ANÁLISES DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE



Os ensaios de atividade antioxidante foram realizados da seguinte forma:

- a) Preparou-se uma solução de concentração conhecida, com os sólidos da bebida ou extrato a ser analisada. Concentrou-se inicialmente a bebida ou extrato utilizado rota-evaporador (65° C e 25 psi de vácuo) até total evaporação da água. Esse resíduo seco foi então diluído com água destilada na concentração de 1mg/mL;
- b) Preparou-se uma solução alcoólica de DPPH na concentração de 1,5 mg/mL;
- c) Partindo da solução 1 mg/mL da bebida ou extrato, diluiu-se a solução para 0,1 mg/mL e prepararam-se 7 diferentes diluições em tubos de ensaio (72%, 60%, 52%, 40%, 28%, 20% e 10%), visando obter uma curva que revelasse a cinética de redução do DPPH. O volume final era completado para 2,5 mL usando etanol;
- d) Estas diluições receberam 1 mL da solução previamente preparada de DPPH. A mistura foi deixada por 30 minutos em temperatura ambiente;
- e) Após esse tempo as absorbâncias são obtidas a 518 nm. Utilizou-se como branco específico para cada concentração 2,5 mL da diluição + 1,0 mL de etanol. O controle utilizado foi uma solução de 2,5 mL de etanol com 1,0 mL de DPPH.

A fórmula utilizada para calcular a quantidade de DPPH reduzida foi:

% DPPH consumido = 1 - [(ABS DILUIÇÃO - BRANCO)/ CONTROLE] x 100

A redução do DPPH pode ser verificada pela alteração da cor da solução, nas diferentes concentrações. Neste trabalho optou-se pela determinação do condição inibitória (IC 50) para expressar o resultado da atividade antioxidante. Essa representação calcula a quantidade necessária de substância antioxidante para reduzir 50% do DPPH adicionado (BRAND-WILLIAMS et al., 1995; SANDOVAL et al., 2002).

Partindo dos valores de DPPH consumido nas diferentes concentrações de extrato testadas, elaborou-se um gráfico que representava a cinética de reação do extrato com o DPPH, e por meio da determinação da equação desta reação, interpolou-se o valor onde 50% do DPPH fora consumido.

Cada amostra de bebida/extrato foi realizada em triplicata, mediante três ensaios distintos. As curvas foram ajustadas utilizando as médias das três leituras espectrofotomêtricas (a 518 nm) para cada diluição.

Os resultados das análises do IC50 foram tratados estatisticamente no programa MSTATC. A homogeneidade das variâncias dos tratamentos foi testada pelo teste de Bartlett, e os resultados sofreram análise de variância e teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade para a comparação das médias.

# 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

# 4.1 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DA MATÉRIA-PRIMA

### 4.1.1 Características Físico-Químicas do PFC

Os valores encontrados para granulometria e composição centesimal do PFC estão descritos nas Tabelas 7 e 8.

TABELA 7 – GRANULOMETRIA DO PFC

PENEIRA (mm)	% RETIDA	DESVIO PADRÃO
2,00	0,00	+/- 0,000
1,00	0,30	+/- 0,006
0,85	0,80	+/- 0,020
0,30	83,00	+/- 1,000
Fundo	15,90	+/- 1,270
TOTAL	100	-

TABELA 8 – CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DO PFC

CARACTERÍSTICA	g/100g	DESVIO PADRÃO
Proteína	11,01	+/- 0,260
Lipídios	3,35	+/- 0,053
Carboidratos	74,63	+/- 0,023
Resíduo mineral fixo	3,03	+/- 0,062
Umidade	7,98	+/- 0,072
TOTAL	100	-

O PFC apresenta uma granulometria muito fina, em função de este ser obtido após o processo de cancheamento e soque das folhas de erva-mate. Isso tornou a extração mais simples, e dispensou qualquer pré-tratamento, como realizado com os ramos desidratados.

O PFC também apresentou composição centesimal similar à encontrada por VALDUGA (1995) e BARBOZA (2006) para erva-mate cancheada.

### 4.1.2 Características Físico-Químicas dos RDM

Os valores encontrados para composição centesimal e granulometria do RDM estão descritos nas Tabelas 9 e 10.

TABELA 9 - GRANULOMETRIA DOS RDM

PENEIRA (mm)	% RETIDA	DESVIO PADRÃO
2,00	0,00	+/- 0,000
1,00	1,90	+/- 0,015
0,85	26,40	+/- 0,180
0,30	66,40	+/- 0,458
Fundo	5,50	+/- 0,404
TOTAL	100	-

TABELA 10 - CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DOS RDM

THE ELECTION OF THE PROPERTY O					
CARACTERÍSTICA	g/100g	DESVIO PADRÃO			
Proteína	4,00	+/- 0,173			
Lipídios	0,38	+/- 0,020			
Carboidratos	81,04	+/- 0,120			
Resíduo mineral fixo	7,33	+/- 0,050			
Umidade	7,25	+/- 0,070			
TOTAL	100	-			

RDM diferem principalmente da erva-mate cancheada e do PFC na quantidade de proteína e lipídios, visto que eles são compostos praticamente por carboidratos (na forma de fibras).

# 4.2 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DA BEBIDA DESENVOLVIDA

A Tabela 11 apresenta as características físico-químicas da bebida final desenvolvida.

TABELA 11 – CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DA BEBIDA DESENVOLVIDA

CARACTERÍSTICA	g/100g
Brix	9,0
рН	3,8
Acidez	0,11

A bebida final desenvolvida apresentou características físico-químicas similares a bebidas à base de erva-mate tostado e chá preto encontradas

atualmente no mercado. O Brix desta bebida é inferior ao de refrigerantes de Cola (aproximadamente 11º Brix) ou Laranja (aproximadamente 12º Brix).

A acidez é baixa, se comparada com refrigerantes ou sucos (que variam de 0,30 a 0,60 % como ácido cítrico). Foi verificado no desenvolvimento da bebida que acidez elevada descaracteriza o sabor de erva-mate, porém com o uso de ácido fosfórico, foi possível reduzir o pH a valores microbiológicamente seguros.

## 4.3 ANÁLISE SENSORIAL

### 4.3.1 Teste Classificatório de Perfil de Características

As diferenças de composição das cinco formulações avaliadas estão descritas na Tabela 12.

TABELA 12 – CARACTERÍSTICAS DAS FORMULAÇÕES INICIAIS PARA ANÁLISE SENSORIAL

TABLETTE OTTO	ABEEN 12 ON NOTE NOTION BING FOR ONLY OF WHOM HE FAND THE CENTER OF THE					
VARIÁVEL	FÓRMULA	FÓRMULA	FÓRMULA	FÓRMULA	FÓRMULA	
VARIAVEL	781	694	529	315	852	
Acidez (% cítrico)	0,08	0,11	0,08	0,08	0,11	
Brix açúcar	8,5	10,5	8,5	10,5	8,5	
EPFC* (%)	90	70	50	30	10	
ERDM* (%)	10	30	50	70	90	

NOTA: \*valor total de extrato na bebida igual a 21,5% peso/peso

Para as características Amargor, Acidez e Doçura, eram desejadas notas mais próximas de 3. Já para Cor e Sabor, quanto maiores as notas, melhor era a avaliação da bebida nessas características.

As médias das notas atribuídas, com o desvio padrão respectivo, para cada característica sensorial da bebida, obtidos no teste de perfil de características, estão apresentados nas Tabelas 13 e Gráfico 3. Na Tabela 14 são apresentados os resultados da análise da variância das notas do teste de perfil de características, e o valor do qui-quadrado ( $\chi^2$ ), referente ao teste de Barttlet de homogeneidade de variâncias.

TABELA 13 – MÉDIAS OBTIDAS NO TESTE DE PERFIL DE CARACTERÍSTICAS DAS 5 FORMULAÇÕES TESTADAS

	1 ONNOLAÇOLO 1LOTABAO					
FORMULA	PERFIL DE CARACTERISTICA					
	COR	SABOR	DOÇURA	AMARGOR	ACIDEZ	EPFC:ERDM
781	$4,2 \pm 0,70^{a}$	$4,6 \pm 0,60^{a}$	$3,2 \pm 0,85^{ab}$	3,2 ± 1,24 <sup>a</sup>	$2,4 \pm 0,82^{a}$	90:10
694	$3,95 \pm 0,76^{a}$	$3,65 \pm 1,23^{b}$	$2,65 \pm 0,59^{bc}$	2,7 ± 1,17 <sup>ab</sup>	$2,05 \pm 0,94^{a}$	70:30
529	$3,05 \pm 0,60^{b}$	$2.8 \pm 1.24^{c}$	$3,45 \pm 1,15^{a}$	2,1 ± 1,12 <sup>bc</sup>	$2,5 \pm 1,40^{a}$	50:50
315	$2,2 \pm 0,62^{c}$	$2,3 \pm 0,98^{cd}$	$2,05 \pm 0,76^{c}$	$2,1 \pm 1,12^{bc}$	$2,05 \pm 0,94^{a}$	30:70
852	$1,4 \pm 0,50^{d}$	$1,7 \pm 0,92^{d}$	$3,1 \pm 1,07^{ab}$	$1,45 \pm 0,69^{c}$	1,9 ± 1,12 <sup>a</sup>	10:90

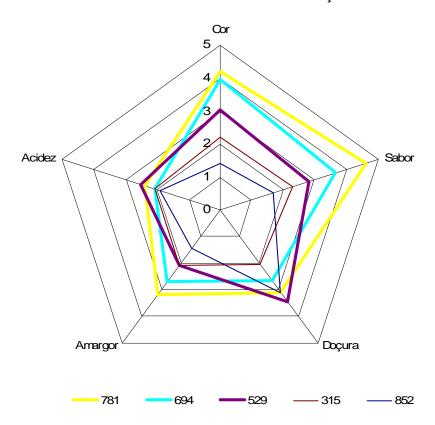
NOTA: \* Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (5%)

TABELA 14 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA DAS NOTAS NO TESTE PERFIL DE CARACTERÍSTICAS

FONTE DE	GL	QUADRADO MÉDIO				_
VARIAÇÃO	GL	COR	SABOR	ACIDEZ	AMARGO	DOCURA
PROVADOR	19	0,818*	2,747*	3,303*	2,073*	1,126 <sup>ns</sup>
BEBIDAS	4	27,075 <sup>*</sup>	26,01 <sup>*</sup>	1,315 <sup>ns</sup>	8,860 <sup>*</sup>	6,085 <sup>*</sup>
ERRO EXP.	76	0,328	0,773	0,589	0,955	0,711
χ²	-	4,135 <sup>ns</sup>	8,548 <sup>ns</sup>	6,507 <sup>ns</sup>	6,924 <sup>ns</sup>	2,879 <sup>ns</sup>
COEF. VAR. %	-	19,40	29,21	35,20	42,30	29,18

NOTA: ns - não significativo

GRAFICO 3 - PERFIL DE CARACTERÍSTICAS DAS FORMULAÇÕES TESTADAS



<sup>\*\*</sup> Proporção dos extratos, num total de 100%

<sup>\* -</sup> significativo ao nível de 1% de probabilidade

Conforme se pode observar, os resultados do teste analítico de perfil de características revelaram que quanto maior a proporção de EPFC na bebida, maiores foram as médias para cor e o sabor característico à erva-mate, contudo, o amargor também ficou mais acentuado. Tanto é assim que no preparo de compostos para chimarrão, os ramos desidratados são utilizados para suavizar o amargor das folhas (VALDUGA, 1995). Tal fato também pode estar relacionado ao fato que os compostos fenólicos são caracterizados por sabor amargo e adstringência, e as saponinas aumentarem a tensão superficial da água (GOSSMAN; SCHENKEL; SELIGMANN, 1989; GOSSMAN; GUILLAUME; TAKEDA, 1995; DUARTE, 2000). À medida que a proporção de ERDM aumentou, as médias de amargor foram menores.

Nos comentários de muitos provadores foi mencionado que um amargor muito intenso é pouco desejado, porém o amargor característico da erva-mate deveria estar presente. Portanto o amargor apresentado pela fórmula 694 atenderia tais exigências, pois apresentou média levemente inferior a 3 (sendo 1 para "pouco amargo" e 5 para "muito amargo").

BURGARDT (2000), também constatou que à medida que incrementava a quantidade de extrato de erva-mate tostada, maior era a influência na cor e corpo da bebida, e também aumentava o amargor da mesma. Ela não encontrou diferenças quanto ao aroma da bebida, mas essa característica não foi avaliada neste trabalho, e sim o sabor característico.

Os resultados da avaliação da doçura foram contraditórios, pois as formulações com menor quantidade de sacarose receberam notas mais altas (e não apresentaram diferenças significativas). Uma possível explicação para esse fato pode estar na saturação da língua dos provadores pelo sabor amargo da bebida, o que pode ter confundido os mesmos ao longo da análise, e também ao fato dos provadores não serem treinados. Como praticamente não houveram diferenças significativas nesse atributo, foi escolhida a menor quantidade de açúcar.

Da mesma forma não foi verificada diferença significativa no que se refere à acidez, sendo escolhida a formulação com maior acidez por uma questão de conservação microbiológica.

Com isso, a base de bebida selecionada teve as seguintes características: 8,5° Brix (adicionado em sacarose) e acidez 0,11% (calculada como ácido cítrico).

### 4.3.2 Teste de Escala Hedônica

Visto que não foram encontradas diferenças significativas em cor, acidez e amargor entre as fórmulas 781 e 694 no teste classificatório de perfil de características, e a segunda melhor média para sabor característico foi da bebida 694, decidiu-se realizar o teste de escala hedônica utilizando os valores de <sup>o</sup>Brix e acidez obtidos do Perfil de Características, variando a proporção do EPFC e ERDM em 90:10, 80:20 e 70:30 para verificar qual seria a preferida.

Pode-se verificar na Tabela 15 que não houve diferença significativa entre as três formulações, optando-se então pela formulação 581, que possui maior quantidade de ERDM, e consequentemente um custo de formulação menor.

TABELA 15 – RESULTADO DO TESTE DE COMPARAÇÃO DE MÉDIAS DAS NOTAS DE CADA FORMULAÇÃO NO TESTE DE ESCALA HEDÔNICA

		147.10 1.10 1.2012 2.2 2.0 1.2 1.1 1.2 0 1.1 0 1.1	
	FORMULAÇÃO	PROPORÇÃO EPFC: ERDM**	MÉDIA DAS NOTAS
_	581	70:30	6,48 a
	492	80:20	6,56 a
	302	90:10	6,76 a

NOTA: \* Médias seguidas da mesma letra na mesma linha são significativamente iguais ao teste de Tukey (5%)

\*\* Proporção dos extratos, num total de 100%

Esta formulação foi, portanto analisada quanto a sua atividade antioxidante e características físico-químicas.

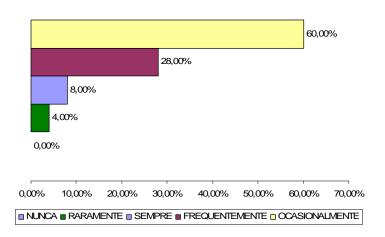
### 4.3.3 Avaliação da Intenção de Compra

Ao final do teste de escala hedônica, solicitou-se aos provadores que respondessem um questionário destinado a avaliar a intenção de compra da bebida. Solicitou-se que respondessem a duas perguntas (APÊNDICE 2). A primeira pergunta era: "com qual freqüência consumiria esta bebida?". As respostas poderiam ser: a) Sempre; b) Freqüentemente; c) Ocasionalmente; d) Raramente; e) Nunca.

Os resultados apontam que 60% dos provadores consumiriam ocasionalmente a bebida degustada, enquanto que 28% deles a consumiriam com freqüência, como verificado no Gráfico 4.

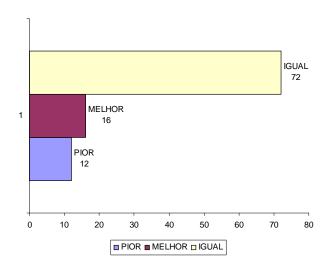
GRÁFICO 4 – AVALIAÇÃO DA INTENÇÃO DE COMPRA DA BEBIDA – FREQÜÊNCIA DE CONSUMO





A segunda pergunta visava avaliar como os provadores consideravam esta bebida em relação a bebidas já existentes no mercado à base de erva-mate. As respostas podiam ser: a) Melhor; b) Igual; c) Pior. A bebida foi considerada pela maioria dos provadores (72%) como sendo "tão boa quanto" aos produtos existentes, como verificado no Gráfico 5.

GRÁFICO 5 – COMPARAÇÃO DA BEBIDA DESENVOLVIDA COM PRODUTOS JÁ EXISTENTES NO MERCADO



## 4.4 ANÁLISES DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A verificação da atividade antioxidante foi realizada mediante a medição da absorbância a 518 nm de uma mistura de extrato com solução de DPPH, com coloração violeta intensa. À medida que o DPPH é reduzido, temos a diminuição da coloração violeta, e formação de uma coloração amarelada, como verificado na Figura 8, onde se pode perceber que a medida que a concentração de extrato diminui, aumenta a coloração violeta.

72% 60% 52% 40% 28% 20% 10% CONTROLE autor Pablo Contreras, 2006

FIGURA 8 – ENSAIOS DE REDUÇÃO DO DPPH PELA AÇÃO DOS EXTRATOS DAS BEBIDAS

FONTE: O AUTOR, 2006.

O Gráfico 6 mostra a curva que representa a cinética de consumo do DPPH pelo extrato obtido da bebida Nativa II (581). Utilizando a equação desta curva calculou-se o IC50. Para elaborar a curva, utilizaram-se os resultados das três determinações para cada concentração, visando obter um modelo estatístico mais confiável. Quanto menor o valor de IC 50, maior é a atividade antioxidante do extrato analisado.

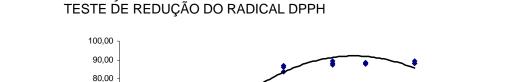
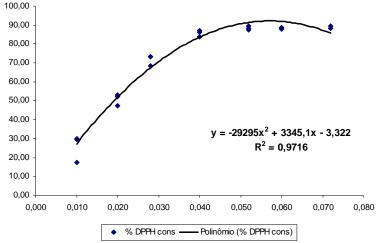


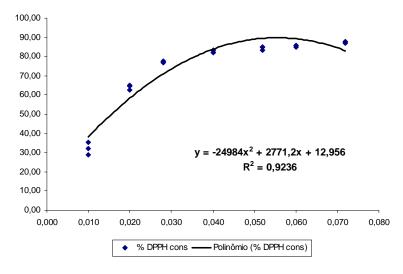
GRÁFICO 6 - AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO EXTRATO DE NATIVA II PELO



Desta forma, o IC50, ou seja, a quantidade de extrato da bebida necessária para reduzir 50% do DPPH adicionado foi 0,019153 g.

No Gráfico 7 está representada a curva de redução do DPPH pelo padrão analítico de Rutina.

GRÁFICO 7 – AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DO PADRÃO ANALÍTICO DE RUTINA PELO TESTE DE REDUÇÃO DO RADICAL DPPH



Os valores de IC50 foram calculados para todas as bebidas e extratos analisados. Os resultados do IC50 dos extratos e bebidas analisados estão representados na Tabela 16.

TABELA 16 - VALORES DE IC 50 DAS BEBIDAS E EXTRATOS ANALISADOS

BEBIDA / EXTRATO	IC50 (g)*	DESVIO PADRÃO
Padrão Analítico Rutina	0,01552 a	+/- 0,00105
Chá verde marca B	0,01674 ab	+/- 0,00035
EPFC	0,01845 abc	+/- 0,00040
Chá Preto marca B	0,01845 abc	+/- 0,00057
Folhas sapecadas marca A	0,01856 bc	+/- 0,00022
Folhas Cancheadas marca A	0,01896 bc	+/- 0,00139
Nativa II	0,01907 bcd	+/- 0,00189
Chá verde marca C	0,02132 cde	+/- 0,00051
Chá mate tostado marca C	0,02199 de	+/- 0,00057
Chá mate tostado marca B	0,02315 ef	+/- 0,00150
Chimarrão marca A	0,02506 f	+/- 0,00039
ERDM	0,03632 g	+/- 0,00284
Chá mate tostado copo marca B	0,05426 h	+/- 0,00106

NOTA: \* = gramas de extrato necessários para reduzir 50% dos 0,0150g de DPPH adicionados
\*\* Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (5%)

Não houve diferença significativa entre a atividade antioxidante da bebida desenvolvida e o chá preto e chá verde da Marca B, nem com o EPFC, o que demonstra que a atividade antioxidante desta bebida, nas condições de análise que o trabalho seguiu, é tão boa quanto de outros produtos existentes (e de atividade antioxidante amplamente estudada), comprovando que é necessário aproveitar o potencial nutricional dos subprodutos da erva-mate, antes de descartá-los.

Há que ressaltar que a bebida desenvolvida neste projeto, sofreu tratamentos térmicos mais severos que as demais (com exceção do chá mate tostado copo marca B, cuja formulação e parâmetros de processo são desconhecidos), visto que além do processo de extração à quente dos subprodutos, a bebida foi também conservada termicamente.

Por sua vez, o EPFC de *llex paraguariensis* St. Hil apresentou atividade antioxidante muito superior à do ERDM (comparável inclusive ao padrão de Rutina). O ERDM apresentou o pior valor de IC50 depois da bebida de chá mate tostado, o

que indica que a atividade antioxidante da erva-mate está concentrada nas folhas, e poucas substâncias antioxidantes existem nos ramos.

Verificou-se também que há muita variação na atividade antioxidante de produtos de diferentes marcas, como verificado no caso do chá verde. O fenômeno pode ser associado às possíveis diferenças de processos de fabricação (como secagem), diferentes variedades de matéria-prima e condições de plantio.

Nenhuma das bebidas analisadas neste trabalho apresentou atividade antioxidante superior ao padrão analítico de Rutina, fato não observado na maioria das literaturas consultadas. Uma das possíveis explicações para isso pode estar no processo de concentração dos extratos. Neste trabalho utilizou-se um rota-evaporador, enquanto que em outras literaturas observa-se o uso do liofilizador, que preserva muitas substâncias antioxidantes sensíveis ao calor.

Também foi possível verificar que o processo de secagem das folhas não afetou a atividade antioxidante das amostras analisadas neste trabalho.

# 5 CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

Somados os resultados das análises sensoriais com as determinações da atividade antioxidante, nas condições em que esta pesquisa foi desenvolvida, conclui-se que:

É possível desenvolver uma nova bebida industrializada utilizando como principais ingredientes extratos provenientes dos subprodutos da indústria da ervamate (ramos desidratados e pó de folhas cancheadas), proporcionando assim novas opções de consumo, incentivando dessa forma o cultivo desta planta.

A bebida desenvolvida apresentou atividade antioxidante tão eficiente quanto outras bebidas existentes no mercado, tais como chá verde, chá preto e chimarrão, demonstrando que a mesma possui excelente potencial de mercado, em função de suas propriedades funcionais e sabor diferenciado.

É possível aproveitar melhor os recursos naturais disponíveis, extraindo substâncias de importante valor nutricional dos subprodutos da erva-mate, antes de descartá-los ou fazer uso deles como fertilizantes, reduzindo possíveis impactos ambientais.

A bebida desenvolvida apresentou um novo conceito de sabor, diferenciando-se do apelo tradicional do chimarrão e do produto tipo "mate tostado". De acordo com a pesquisa preliminar de intenção de compra, possui boas chances de sucesso com os consumidores de chás, desde que ajustes na formulação, estudos de vida-de-prateleira e testes de escala industrial sejam realizados no futuro visando um produto ainda mais agradável ao consumo e com estabilidade físico-química e microbiológica.

Em função da atividade antioxidante verificada nestes subprodutos e o volume de produção de erva-mate no Brasil, sugere-se outros usos industriais alimentícios, como a extração de corantes do PFC, além da extração de cafeína e outros alcalóides disponíveis na folha.

Ao longo do desenvolvimento do presente trabalho, alguns pontos foram levantados, e por isso, sugerem-se as seguintes recomendações para trabalhos futuros, relacionados ao processamento industrial da erva-mate.

Na industrialização da erva-mate, maior cuidado deve ser tomado no recebimento, estoque e manipulação da matéria-prima, evitando possíveis riscos físicos, químicos ou biológicos. Trabalhos em segurança alimentar podem ser desenvolvidos com os fabricantes.

No processo de elaboração dos extratos aquosos utilizados na bebida, notou-se que a filtragem dos PFC e RDM é complicada. O aperfeiçoamento do processo de filtragem deverá ser realizado em caso de industrialização da bebida;

No caso do uso farmacêutico da erva-mate, é importante indicar que a princípio, não há necessidade de seguir o processo tradicional da industrialização da erva-mate, que é voltada à fabricação dos compostos para chimarrão. Como este processamento utiliza intenso tratamento térmico (no sapeco e secagem das folhas), muitos componentes funcionais certamente são perdidos. Um caminho mais apropriado poderia ser o uso de uma extração hidro-alcoólica à temperatura ambiente diretamente das folhas *in natura*.

É necessário realizar mais estudos sobre a atividade antioxidante (inclusive *in vivo*) da erva-mate e outras propriedades funcionais, que levem em conta diferentes safras, localização geográfica, plantio e formas de processamentos, de maneira a obter dados estatísticos mais concretos sobre tais características e aumentem também o seu valor de mercado.

Seria necessário também, verificar em trabalhos futuros a atividade antioxidante das folhas *in natura* de erva-mate, e verificar quanto dessa atividade é perdida durante todo o processamento industrial.

## **REFERÊNCIAS**

ABIA. Associação Brasileira das Indústrias da Alimentação. **Compendio da Legislação de Alimentos: consolidação das normas e padrões de alimentos.** Ver. 7. São Paulo, 1999. v. 1/1<sup>a</sup>.

ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. Análise sensorial dos Alimentos e Bebidas – Terminologia NBR 12806. Rio de Janeiro, 1993. 8 p.

ABNT. **Métodos de Análise Sensorial dos alimentos e Bebidas – Classificação. NBR 12994**. Rio de Janeiro, 1993. 2p.

AMES, B. N.; SHIGENAGA, M. K.; HAGEN, T. M.; Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. Proc Academic Science USA. v. 90, p. 7915 – 7922, 1993.

ANDERSON, D. Antioxidant defenses against reactive oxygen species causing genetic and other damage. **Mutant Research**, v. 350 n. 1, p. 103-108. 1996.

ANDERSON, D.; PHILLIPS, B. J.. Comparative *in vitro* and *in vivo* effects of antioxidants. **Food Chemestry Toxicology**. v. 37, n. 9-10, p. 1015 – 1025. 1999.

ANDRADE, F. M. Diagnóstico da Cadeia Produtiva da *Ilex paraguariensis* St. Hil. Erva-mate. São Mateus do Sul: [s.n.], 1999.

ANESINI, C., FERRARO, G., FILIP, R. Peroxidase-like activity of *Ilex paraguariensis*. Food Chemistry, 2005.

ANTOLOVICH, M.; PRENZIER, P. D.; PATSALIDES, E.; McDONALD, S. ROBARDS, K.. Methods for Testing Antioxidant Activity. **Analyst**. v. 127 (n. 1), p. 183-198, 2002.

ANUÁRIO BRASILEIRO DA ERVA-MATE. Santa Cruz do Sul (RS): Gazeta Grupo de Comunicações, 1999.

ANZALDUA-MORALES, A. La evaluación sensorial de los alimentos em la teoría y la practica. Zaragoza: Editorial Acribia, 1994. 198p.

ALMEIDA, N. G. **Desempenho e Tendência do Agronegócio Erva-Mate.** SEAB, 2007.

AOAC, Official Methods of analysis, 15 ed. 1990, Vol. II, Arlington, Virginia – USA.

ARBOS, K. A. Estudo do Potencial Antioxidante de Vegetais da Família Cruciferae de Diferentes Cultivos. Dissertação de Mestrado do Programa de ciências Farmacêuticas – UFPR. Curitiba, 2004.

- BARBOZA, L. M. V. **Desenvolvimento de Bebida à Base de Erva-Mate (***Ilex paraguariensis* **Saint Hilaire) Adicionada de Fibra Alimentar**. Tese de doutorado. Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos UFPR. 2006
- BASTOS, D. H. M.; ISHIMOTO, E. Y.; MARQUES, M. O. M.; FERRI, A. F.; ELIZABETH A. F. S. TORRES.. Essential oil and antioxidant activity of green mate and mate tea (*Ilex paraguariensis*) infusions. **Journal of Food composition and Analysis**. v. 19; p. 538 543, 2006.
- BENAVENTE, G. O.; CASTILHO, J.; LORENTE, J.; ORTUNO, A.; DEL-RIO, J. A. **Antioxidant activity of phenolic extracted from** *Olea europaea* **leaves.** Food Chemestry Toxicology. 68, p. 457-462. 2000.
- BERTONI, M. H.; VIGO, M. S.; GOMES, R. G.; PRAT KRINCUN, S. D.; KÄNZIG, R. G.; CATANEO, Y. P., 1991. Hojas frescas de *llex paraguariensis* St. Hil. I Composición química general en función del grado de desarrollo (joven, intermedio y maduro) y de la época de cosecha para tres clones. Buenos Aires, Anales de la Asociación. Química Argentina, 79(6) 269-276
- BERTONI, M.H.; PRATKRICUN, S.D.; KANZIG, R.G.; CATTANEO, P. Effect of different stages of the traditional process for yerba mate production on the composition of fresh leaves. **Anales de la Association Quimica Argentina**, v.80, n.6, p.493-501, 1992.
- BERTONI, M. H.; PRAT KRINCUN, S. D.; KÄNZIG, R. G., CATANEO, Y. P. Hojas frescas de especies de *Ilex (Aquifoliaceae)* IV Composición química general de hojas de *Ilex dumosa* e *Ilex brevicuspis* Influencia del proceso de elaboración de "Yerba mate" sobre algunos valores de composición. **Anales de la Asociación. Química Argentina**, v. 81(n. 1) 1 8. Buenos Aires, 1993.
- BIXBY, M.; SPIELER, L.; MENINI, T.; GUGLIUCCI, A. *Ilex paraguariensis* extracts are potent inhibitors of nitrosative stress: A comparative study with green tea and wines using a protein nitration model and mammalian cell cytotoxicity. **Life sciences**. v. 77, p. 345–358. 2005
- BONDET, V.; BRAND-WILLIAMS, W.; BERSET, C. Kinetics and Mechanisms of Antioxidant Activity using the DPPH Free Radical Method. **Lebensm -Wiss. u.-Technol**. v. 30, 609 a 615, 1997.
- BLOIS, M. S. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. **Nature**. v. 181: p. 1199 1200, 1958.
- BRACA, A.; DE TOMASI, N.; BARI, L. D.; PIZZA, C.; POLITI, M.; MORELLI, I.. Antioxidant principles from *Baunihinia tarapotensis*. **Journal of Natural Products**. v. 64, p. 892-895, 2001.
- BRACA, A.; SORTINO, C.; POLITI, M.; MORELLI, I.; MENDEZ, J. Antioxidant Activity of Flavonoids from *Licania licaniaeflora*. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 79 (3), p. 379 381, 2002.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria nº 233/98 de 25/02/1998. **Regulamento Técnico para fixação de identidade e Qualidade para Composto de Erva-Mate**. Diário Oficial da União. Brasília, 1998a.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria nº 234/98 de 25/02/1998. **Regulamento Técnico para fixação de identidade e Qualidade para Erva-Mate.** Diário Oficial da União. Brasília, 1998b.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria nº 360/03 de 23/Dezembro/2003. **Regulamento Técnico para fixação de identidade e Qualidade para Erva-Mate.** Diário Oficial da União. Brasília, 2003.

BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. **Nutrition Review**. v. 56(11), p. 317-333, 1998.

BRUNETON, J. **Elementos de fitoquímica y de Farmacognosia**. Zaragoza, España, 1991. Editorial Acribia S.A..

BURGARDT, A.C. **Desenvolvimento de uma Bebida Utilizando Extrato de Erva-Mate Verde (***Ilex paraguariensis* **St. Hil)**. Dissertação do Curso de Pós-Graduação em Tecnologia Química. Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2000. 124p.

BURGSTALLER, J.A. **700 Hierbas Medicinales**. Edicial S. A. Buenos Aires, 1994 – disponível em <a href="http://reality.sgi.com/">http://reality.sgi.com/</a>.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**, v. 28, p. 25–30, 1995.

CAMPOS, M.A.A. Balanço de Biomassa e nutrientes em Povoamentos de *Ilex* paraguariensis. Avaliação de Safra e Safrinha. Dissertação de mestrado em Ciências Florestais do curso de Pós-Graduação em engenharia florestal da UFPR. Curitiba, 1991.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies Florestais Brasileiras**. Recomendações Silviculturais. Potencialidades e Uso da Madeira. Colombo, EMBRAPA – CNPF; Brasília, EMBRAPA – SPI, 639p, 1994.

CHAUDIERE, J.; FERRARI-ILIOU, R.; Intracellular antioxidants: from chemical to biochemical mechanisms. **Food Chemistry and Toxicology**, v. 37 (9-10); p. 949 – 962, 1999.

CHEN, Z. Y. Antioxidant activity of natural flavonoids in governed by number and location of their aromatic hydroxyl groups. **Chem Phys Lipids**, v. 79(2), p. 157-163, 1996.

CHOW, C. K.. Antioxidant nutrients and environmental health: **Introduction. Toxicology**, v. 180(1); p. 1 - 3. 2002.

- COELHO, G. C. Variabilidade morfológica e química da erva mate. In Congresso Sul-Americano da Erva-Mate e Reunião Técnica da Erva-Mate. Anais. Edigraf, p. 125. Porto Alegre 2000.
- COELHO, G. C.; RACHWAL, M.; SCHNORRENBERGER, E.; SCHENKEL, E. P. Efeito do sombreamento sobre a sobrevivência, morfologia e química da erva-mate. In: CONGRESSO SUL-AMERICANO DA ERVA-MATE, 2.; REUNIÃO TÉCNICA DA ERVA-MATE, 3. Anais. Porto Alegre: Comissão dos Organizadores: Universidade do Rio Grande do Sul: Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária, 2000. p. 396-399
- COOK, N. C.; SAMNAM, S.. Flavonoids: chemistry, metabolism, cardioprotective effects and dietary sources. **Journal of Nutrition Biochemestry**, v. 7, p. 66 76, 1996
- CONAMATE. Diagnóstico do Setor Ervateiro Brasileiro. Curitiba, 1997. 18p.
- CONGRESSO SUL-AMERICANO DA ERVA-MATE; III Reunião Técnica Do Cone Sul Sobre a Cultura da Erva-Mate. Encantado RS, 2000. Anais. Encantado, RS, 2000, p. 3-5.
- CORRÊA, S; KIST, B. B; QUINTANA, A. **Anuário Brasileiro da Erva-Mate**. Santa Cruz do Sul: Editora Palotti, 1999. 64p.
- COSTA, S. G. A erva-mate. Curitiba: Editora UFPR, 1989. 86p.
- DA CROCE, D. M.; NADAL, R. de. Viabilidade técnico-econômica de sistemas de produção de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.) consorciada com culturas anuais. In: CONGRESSO FLORESTAL PANAMERICANO, 1.; CONGRESSO FLORESTAL BRASILEIRO, 7., 1993, Curitiba. Floresta para o desenvolvimento: política, ambiente, tecnologia e mercado: anais. São Paulo: SBS; [S.I.]: SBEF, 1993. v. 1, p. 403-406.
- DA CROCE, D. M.; FLOSS, P. A. Cultura da erva-mate no Estado de Santa Catarina. Boletim Técnico, Florianópolis, n.1000, p. 15-19, 1999.
- DA SILVA, V. P.. **Modificações microclimáticas em Sistema Silvipastoril com** *Grevílea robusta* **A. Cunn. Ex R. BR na Região Noroeste do Paraná.** Dissertação de Mestrado em Agrossistemas: Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis: 1998. 128p.
- DEGÁSPARI, C. H. Propriedades Antioxidantes e Antimicrobianas dos Frutos da Aroeira (*Schinus terebenthifolius* Raddi). Curitiba, 2004. Tese (**Doutorado em Tecnologia de Alimentos**) do Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos da UFPR.
- DUARTE, F. Seleção, Treinamento de julgadores e Metodologia para Análise Sensorial de Extrato de Erva-Mate. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Química) Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2000

DUTCOSKY, S. D. **Análise Sensorial de Alimentos**. Editora Universitária Champagnat. Curitiba, 1996. 123 p.

EMATER PARANA. Realidade Ervateira do Paraná. Curitiba, 2000. 25p.

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

EUROMONITOR. Market Research for Non-Alcoholic Beverages. Latin América. London, 2004.

FAGUNDES, G. C. P. Cevando mate. Editora Habitasul. Porto Alegre, 1980. 135p.

FAO. **Sistemas Agroforestales en América Latina y el Caribe**. Santiago, 1984. 114 p.

FERREIRA FILHO, J. C. Cultura da Erva-Mate. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, 1948.

FINKEL, T.; HOLBROOK, N. J.. Oxidants, oxidative stress and the Biology of ageing. **Nature**, v. 408; p. 239 – 247. 2000.

FILHO, D. W.; SILVA, E. L.; BOVERIS, A. **Flavonoides antioxidantes de plantas medicinais e alimentos: importância e perspectivas terapêuticas**. Editora Argos. 1999, p. 318-334.

FILIP, R. S. M. S.; LOTITO, S. B.; FERRARO, G.; FRAGA, C. G.; Antioxidant Activity of *Ilex Paraguariensis* and Related Species. **Nutrition research**, v. 20, (10), p. 1437-1446, 2000.

FILIP, R., LOPEZ, P. L, GIBERTI, G., COUSSIO, J., FERRARO, G. Phenolic compounds in seven South American *Ilex* species. **Fitoterapia.** v. 72, p-774-778, 2001.

FRAGA FILHO, C. Radicais livres: vilões ainda em estudo. **Ciência hoje**; v. 27: p. 60 – 62. 2003.

FREITAS, R. J. S.; CECATO, E; CUBAS, C. S.. **Técnicas Analíticas de Alimentos**. Editora TECPAR. 122p. Curitiba, 1977.

GAUER, L.; CAVALLI-MOLINA, S.. Genetic variation in natural populations of mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. *Aquifoliaceae*) using RAPD markers. **Heredity**, v. 84, p. 647 – 656, 2000.

GOSSMAN, G.; SCHENKEL, E. P.; SELIGMANN, O. A new saponin from mate, Ilex paraguariensis. **Journal of Natural Products**. v. 52, n. 6, p. 1367-1370. 1989.

- GOSMANN, G.; GUILLAUME, D.; TAKETA, A. T. C. et al. Triterpenoid saponins from *Ilex paraguariensis*. **Journal of Natural Products**, v. 52, n. 6, p. 1367-1370, 1995.
- GUGLIUCCI, A. Antioxidant Effects of *Ilex Paraguariensis*: Induction of Decreased Oxidability of Human LDL *in Vivo*. **Biochemical and Biophysical Research Communications**. v. 224, p 338-344, 1996.
- HALLIWELL, B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause or consequence? **Lancet**.. v. 344, p. 721 724, 1994.
- HALLIWELL, B. Antioxidants in human health and disease. **Annual Rev. Nutrition**, v. 16; p. 33 50, 1996.
- HALLIWELL, B.; GUTTERDGE, J. M.; CROSS, C. E.. Free radicals. Antioxidants and human disease: where are we now? **The Journal of Laboratory and clinical Medicine**. v. 119, p. 598 620, 1992.
- HAVSTEEN, B. Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. **Biochemical Pharmacology**, v. 32 (7), p. 1141-1148. 1983.
- HEIJNEN, C. G.; HAENEN, G. R.; VAN ACKER, F. A.; VAN DER VIJGH, W. J.; BAST, A. Flavonoids as peroxynitrite scavengers: the role of the hydroxyl groups. **Toxicology in vitro**, v. 15(1), p. 3-6, 2001.
- HOFFMANN, R. R. Compostos fenólicos em erva-mate e frutas. Tese de Doutorado. Doutorado em Alimentos e Nutrição. UNICAMP, 2006.
- HOGG, J. S.; LOHMANN, D. H.; RUSSELL, K. E. The kinetics of reaction of 2, 2 Diphenyl 1 picrylhyrazyl with phenols. **Canadian Journal of Chemistry**, v. 39, 1588–1594, 1961
- IAL Instituto Adolfo Lutz. **Normas analíticas: métodos químicos e físicos para análises de alimentos**. v. 1, 3 ed. São Paulo, 1985. 533p.
- ITAL. Instituto de Tecnologia de Alimentos. **Análises químicas do café**. Campinas, 1982.
- JAY, V.; BERTHON, J. Y.. New active ingredient for aging prevention. **Cosmetics and Toiletries Magazine**. v. 113, p. 71 77. 1998.
- JACQUES, R. A.; FREITAS, L. S.; PEREZ, V. F.; DARIVA, C.; OLIVEIRA, A. P.; OLIVEIRA, J. V.; CARAMÃO, E. B.. The use of ultrasound in the extraction of llex paraguariensis leaves: A comparison with maceration. **Ultrasonics Sonochemistry**. v. 14, p. 6–12, 2007.
- JOLY, S.; BROUILLET, L.; BRUNEAU, A. Phylogenetic Implications of the Multiple Losses of the Mitochondrial *coxII.i3* Intron in the Angiosperms. **International Journal of Plant Sciences**. Chicago. v. 162, p. 359–373, 2001.

- KOLEVA, I.; VAN BEEK, T. A.; LINSSEN, J. P.; DE GROOT, A.; EVSTATIEVA, L. N. Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. **Phytochemical analysis**, v. 13(1), p. 8-17. 2002.
- KOWAKAMI, M. KOBAYASHI, A. Volatile constituents of green mate and roasted mate. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 39, p. 1275 1279, 1999.
- LEAKE, D. S. Flavonoids and the oxidation of low-density lipoprotein. **Nutrition.** V 17(1), p. 63-66. 2001.
- LODOVICI, M.; GUGLIELMI, F.; CASALINI, C.; MEONI, M.; CHEYNIER, V.; DOLARA, P.. Antioxidant and radical scavenging properties *in vitro* of polyphenolic extracts from red wine. **European Journal of Nutrition**, v. 40, p. 74 77. 2001.
- LUNCEFORD, N., GUGLIUCCI, A. *Ilex paraguariensis* extracts inhibit AGE formation more efficiently than green tea. **Fitoterapia**. v. 76, p. 419-427, 2005.
- MACCARI, A. J.; SANTOS, A. P. R. **Produtos alternativos e desenvolvimento da tecnologia industrial na cadeia produtiva da erva-mate**. MCT/CNPq/PADCT, Curitiba, PR, 2000.
- MAGNANI, L.; GAYDOU, E. M.; HUBAUD, J. C. Spectrophoto, etric measurement of antioxidant properties of flavones and flavonols against superoxide anion. **Analytic Chemestry**, v. 41, p. 209-216. 2000.
- MARX, F.; JANSSENS, M.J.J.; URFER, P.; SCHERER, R. Caffeine and Theobromine Composition of Mate (*Ilex paraguariensis*) Leaves in Five Plantations of Misiones, Argentina. **Plant Foods for Human Nutrition** v. 58, p. 1 8, 2003.
- MAZUCHOWSKI, J. Z.; **Princípios Mercadológicos para Geração e Difusão de Tecnologia Florestal.** Convênio FAO Paraná França. Projeto Bracatinga. EMATER Paraná. Curitiba, 1989a. 68p.
- MAZUCHOWSKI, J. Z.; **A Cultura da Erva-Mate.** Técnicas Florestais nº 1. EMATER Paraná. Curitiba, 1989b.
- MAZUCHOWSKI, J. Z. **Manual da Erva-Mate** (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). Curitiba: EMATER-Paraná, 1991. 104p.
- MAZUCHOWSKI, J. Z.; RUCKER, N.G.A. **Diagnóstico e Alternativas para a Erva-Mate** *Ilex paraguariensis*. Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento. Curitiba, 1993. 141p.
- MAZUCHOWSKI, J. Z.; CROCE, D. M.; WINGE, H. **Diagnóstico e Perspectivas da Erva-Mate no Brasil.** Comissão Nacional da Erva-Mate. Chapecó, 1996. 28 p.
- MAZUCHOWSKI, J. Z. Avaliação dos Produtos Comerciais de Erva-Mate pelos Mercadistas Vinculados à Associação Paranaense de Supermercados APRAS. Curitiba: EMATER Paraná, 1997. 40p.

- MAZUCHOWSKI, J. Z.; RUCKER, N. G. A. **Prospecção Tecnológica da Cadeia Produtiva da Erva-Mate** Documento Executivo. Secretaria do Estado da Agricultura e Abastecimento. Curitiba, 1997. 27 p.
- MAZUCHOWSKI, J. Z.; Incorporação e Exportação de Biomassa e de Nutrientes pela Erva-Mate. UFPR EMATER Paraná. Curitiba, 2001. 28p.
- MAZUCHOWSKI, J. Z. Influência de Níveis de Sombreamento e de Nitrogênio na Produção de Massa Foliar da Erva-Mate *llex paraguariensis* St. Hil. **Dissertação do Curso de Pós-Graduação do Departamento de Solos e Engenharia Agrícola do Setor de Ciências Agrárias**. Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2004. 93p.
- MAZZAFERA, P. Mate drinking: caffeine and phenolic acid intake. **Food chemistry**, v. 60, (1), p. 67-71, 1996.
- MCCORD, J. M.. Free radicals and inflammation: protection of synovial fluid by superoxide dismutase. Science. V. 185, p. 529 531, 1974.
- NEWELL, C. A.; ANDERSON, L. A.; PHILLIPSON, J. D.. Herbal Medicines. A Guide for Health-Care Professionals. The Pharmaceutical Press. London, 1996.
- NIETSCHE, K. Caracterização da Qualidade da Erva-Mate Cancheada. Dissertação de mestrado, do Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos da UFPR. 2002.
- OHEM, N.; HÖLZL, J. Some investigations on Ilex paraguariensis flavonoids and triterpenes. **Planta Medica**, v. 54, n. 6, p. 576, 1998.
- OLIVEIRA, C. P. M. S.. **Radicais livres e estresse oxidativo**. Disponível em: <a href="https://www.fugesp.org.br/Revistas/nutricao/Nutric\_04/nutric4\_indice.htm.2003">www.fugesp.org.br/Revistas/nutricao/Nutric\_04/nutric4\_indice.htm.2003</a>>
- OLIVEIRA, Y. M. M.; ROTTA, E. **Área de Distribuição Natural de Erva-Mate (Ilex paraguariensis St. Hil.)**. X Seminário Sobre Atualidades e Perspectivas Florestais Silvicultura da Erva-Mate. EMBRAPA-CNPF. p. 17-36. Curitiba, 1995.
- PARANÁ Secretaria da agricultura e do abastecimento do Paraná. **Erva-Mate: Prospecção Tecnológica da Cadeia Produtiva**. Curitiba: SEAB,1997. 121p.
- PAULA, S. R. Micropropagação de Erva-Mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) e Comparação das Folhas *in vitro* com as Originadas em Casa de Vegetação. (Dissertação de Mestrado em Botânica). UFPR. Curitiba, 1992.
- PIETRO, P.; PINEDA, M.; AGUIAR, M.. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity trough the formation of a phosphomolybidenum complex: specific application to the determination of vitamin E. **Analytic Biochemistry**, v. 269 (2): p. 337 341. 1999.

PEARSON, David. **The Chemical analysis of Foods**. 5th Edition. J. & A. Churchill Ltd. London, 1962.

PODDA, M.; GRUNDMANN-KOLLMANN, M.. Low molecular weight antioxidants and their role in skin ageing. **Clinical Experimental Dermatology** v. 26 (7): p. 578 – 582, 2001.

PRAT KRICUN, S. D. **Yerba-mate**: investigación agronomica en la Republica Argentina. Cerro Azul: INTA, Estación Experimental Agropecuaria Misiones, 1983. 16 p.

PRAT KRICUN, S. D. **Yerba-mate**: técnicas actualizadas de cultivo. Cerro Azul: INTA, Estación Experimental Agropecuaria Cerro Azul, 1993. 14 p. (INTA. Miscelanea, 27).

PRAT KRICUN, S. D.; BELINGHERI, L. D. Disposicion, distanciamento y densidad de plantacion de yerba-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) In: **CURSO DE CAPACITACION EN PRODUCCIÓN DE YERBA-MATE**, 1., 1992, Cerro Azul. Curso. Cerro Azul: INTA, Estación Experimental Agropecuaria. p. 27-99.

PRAT KRICUN, S. D.; BELINGHERI, L. D. Identificación y recolección de germoplasma de especies del genero *llex* L. **Plant Genetic Resources Newsletter**, n. 83/84, p. 23-24, 1991.

PRAT KRICUN, S. D. **Segundo curso de capacitación en producción de yerba mate** — Cerro Azul : INTA-EEA Cerro Azul, 1994 . — 165 p

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

REGINATTO, F. H.; ATHAYDE, M. L.; GOSMANN, G.; SCHENKEL, E.P. Methylxanthines accumulation in Ilex species – Caffeine and Theobromine in Erva-Mate (*Ilex paraguariensis*) and other Ilex species. **Journal of Brazilian chemical society**. v. 10, (6), p. 443-446, 1999.

REITZ, R.; EDWIN, G. Aquifoliceae. Itajaí:Barbosa Rodrigues, 1967. 47p.

RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radical Biological Medicine.** v. 20 (7), p. 933-956. 1996.

ROCHA JUNIOR., W., F. Análise do Agronegócio da Erva-Mate com o Enfoque da Nova Economia Institucional e o Uso da Matriz Estrutural Prospectiva. Programa de Pós-Graduação em Engenharia da Produção. UFSC, 2001.

- RÜCKER, N. G. **Diagnóstico e alternativas para a erva-mate**. Secretaria do Estado da Agricultura e do Abastecimento do Paraná SEAB/PR. Curitiba, 1993. 141 p.
- RÜCKER, N. G. **Análise do Agro-negócio da Erva-Mate.** Curitiba: SEAB Departamento de Economia Rural, 1995. 38 p.
- RUTIN. Disponível em: <a href="http://en.wikipedia.org/wiki/Image:Rutin.png#filehistory">http://en.wikipedia.org/wiki/Image:Rutin.png#filehistory</a> Acesso em: 16 ago. 2007.
- SAAP. Secretaria da Agricultura e Abastecimento do Paraná. **Erva-mate: prospecção tecnológica da cadeia produtiva**. SEAB, p. 121. Curitiba, 1997.
- SAMBIASSI, A.; ESCALADA, A. M.; SCHMALKO, M. E. Extraction Optimization of Soluble Compounds of Yerba Mate. **Brazilian Archives of Biology and Technology**. v. 45 (2), p. 189 193, 2002.
- SANDOVAL, M.; OKUHAMA, N. N.; ANGELES, F. M.; MEICHOR, V. V.; CONDEZO, L.A.; LAO, J.; MILLER, M. J. S. Antioxidant activity of the cruciferous vegetable Maca (Lipidium meyenii). **Food Chemestry**. v. 79, p. 207-213, 2002.
- SCHIFFL, C. F. Industrialização da Erva-Mate no Brasil. In: I Congresso Sul americano da Erva-Mate; Anais da II Reunião Técnica do Cone Sul Sobre A Cultura da Erva-Mate. Curitiba, 1997. p. 89-98.
- SCHENKEL, E. P.; ATHAYDE, M. L.; GIBERTI, G. C.; GUILLAUME, D. . A New Saponin From Ilex Argentina. **Acta Farm.** Bonaerense, La Plata, v. 14, p. 217-221, 1995.
- SCHINELLA, G. R.; TROIANI, G.; DÁVILA, V.; de BUSCHIAZZO P. M; TOURNIER, H. A. Antioxidant Effects of an Aqueous Extract of *Ilex paraguariensis*. **Biochemical and Biophysical Research Communications**. v. 269, p 357-360, 2000.
- SCHINELLA, G.; FANTINELLI, J., C.; MOSCA, S., M. Cardioprotective effects of *Ilex* paraguariensis extract: evidence for a nitric oxide-dependent mechanism. **Clinical Nutrition**, v. 24, p. 360–366, 2005.
- SECRETARIA DE ESTADO DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO DO PARANÁ SEAB: DEPARTAMENTO DE ECONOMIA RURAL DERAL. Relação de Municípios do Estado do Paraná e dividido por núcleo regional da cultura da erva-mate (em folhas) safra 99/00. Curitiba, 2002.
- SECRETARIA DE ESTADO DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO DO PARANÁ SEAB: DEPARTAMENTO DE ECONOMIA RURAL DERAL. Relação de Municípios do Estado do Paraná e dividido por núcleo regional da cultura da erva-mate (em folhas) safra 01/02. Curitiba, 2003.
- SECRETARIA DE ESTADO DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO DO PARANÁ SEAB: DEPARTAMENTO DE ECONOMIA RURAL DERAL. **Relação de**

Municípios do Estado do Paraná e dividido por núcleo regional da cultura da erva-mate (em folhas) safra 03/04. Curitiba, 2005.

SECRETARIA DE ESTADO DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO DO PARANÁ – SEAB: DEPARTAMENTO DE ECONOMIA RURAL – DERAL. Relação de Municípios do Estado do Paraná e dividido por núcleo regional da cultura da erva-mate (em folhas) safra 05. Curitiba, 2007.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. – **Farmacognosia da planta ao medicamento.** 2ª ed. Ver. – Porto Alegre / Florianópolis: Editora Universidade / UFRGS / Editora da UFSC, 2000, pág. 723 / 738.

SILVA, C. G.; HERDEIRO, R. S.; MATHIAS, C. J.; PANEK, A. D.; SILVEIRA, C. S., RODRIGUES, V. P.; RENNÓ, M. N.; FALCÃO, D. Q.; CERQUEIRA, D. M.; MINTO, A. B. M.; NOGUEIRA, F. L. P.; QUARESMA, C. H.; SILVA, J. F. M.; MENEZES, F. S.; ELEUTHERIO, E. C. A.. Evaluation of Antioxidant Activity of Brazilian Plants. **Pharmacological research.** v. 52, p. 229-233, 2005.

SOUSSELIER, L.; BENTHON, J. Y. Phytobioactives and their role in preserving skin aging. **Happi** 10, p. 93-96, 1998.

STREIT, N. M.; HECKTHEUER, L. H. R.; DO CANTO, M. W.; MALLMANN, C. A.; STRECK, L.; PARODI, T. V.; CANTERLE, L. P.. Relation among taste-related compounds (phenolics and caffeine) and sensory profile of erva-mate (*Ilex paraguariensis*). **Food Chemistry**, 2006.

TARRAGO, J.; SANSBERRO, P.; FILIP, R.; LOPEZ, P.; GONZALEZ, A.; LUNA, C.; MROGINSKI, L.. Effect of leaf retention and flavonoids on rooting of *llex paraguariensis* cuttings. **Scientia Horticulturae**. v. 103, p. 479–488, 2005.

VAN ACKER, S. A.; VAN BALEN, G. P.; VAN DEN BERG, D. J.; BAST, A.; VAN DER VIJGH, W, J. Influence of iron chelation on the antioxidant activity of flavonoids. **Biochemical Pharmacology**. v 56(8), p. 935-943, 1998.

VALDUGA, E. Caracterização Química e anatômica da folha de Erva-Mate *Ilex* paraguaguariensis Saint Hillaire e de Algumas Espécies Utilizadas na Adulteração do Mate. Curitiba, 1995. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Química) – Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná.

VARMAN, A. H.; SUTHERLAND, J. P. Bebidas: tecnologia, química y microbiologia. Zaragoza: Acribia, 1997. 487p. (Série Alimentos Básicos 2).

VERONESE, A. **Contribuição ao estudo do mate**. Rio de Janeiro, Imprensa Nacional, 1944, 213p.

WANG, H.; NAIR, M. G.; STRASBURG, G. M.; BOOREN, A. M.; GRAY, J. I.. Novel antioxidant compounds from tart cherries (*Prumus cerasus*). **Journal of Natural Products**, v. 62, p. 86 – 88. 1999.

WICKENS, A. P. Ageing and the free radical theory. **Respir Physiol** v. 128, p. 379-391, 2001.

YOSHIDA, T.; MORI, K.; HATANO, T.; OKUMURA, T.; UEHARA, I.; KOMAGOE, K.; FUJITA, Y.; OKUDA, T. Studies on inhibition mechanism of autoxidation by tannins and flavonoids. V. Radical-scavenging effects of tannins and related polyphenols on 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. **Chemical Pharmaceutical Bulletin**, v. 37, p. 1919 – 1921, 1989.

## APÊNDICE 1 – FICHA DE ANÁLISE SENSORIAL PARA PERFIL DE CARACTERÍSTICAS

NOME:					DATA				
CONSOME PRODUTOS À BASE DE ERVA-MATE? QUAIS?									
TESTE DE PERFIL DE CARACTERÍSTICAS									
Você recebeu 5 amostras de uma bebida <b>à base de erva-mate</b> . Prove cada uma delas, avaliando os atributos solicitados, com <b>notas de 1 a 5</b> .									
	ATRIBUTO	781	529	694	315	852			
	COR 1 – MUITO CLARA 5 - MUITO FORTE								
	SABOR MATE  1 – POUCO CARACTERÍSTICO  5 – CARACTERÍSTICO								
	DOÇURA 1 – POUCO DOCE 5 – MUITO DOCE								
	AMARGOR 1 – POUCO AMARGO 5 – MUITO AMARGO								
	ACIDEZ 1 – POUCO ÁCIDO 5 – MUITO ÁCIDO								
Comentá	rios:						· 		

## APÊNDICE 2 – FICHA DE ANÁLISE SENSORIAL PARA ESCALA HEDÔNICA

NOME: DATA CONSOME PRODUTOS À BASE DE ERVA-MATE?							
TESTE DE PREFERÊNCIA (ESCALA HEDÔNICA)							
Você recebeu <b>3 amostras</b> de uma bebida <b>à base de erva-mate</b> . Prove e avalie cada uma delas, utilizando a escala abaixo para descrever quanto gostou ou desgostou dos produtos.							
<ol> <li>Desgostei extremamente</li> <li>Desgostei muito</li> <li>Desgostei Moderadamente</li> <li>Desgostei Ligeiramente</li> <li>Indiferente</li> <li>Gostei Ligeiramente</li> <li>Gostei Moderadamente</li> <li>Gostei Muito</li> <li>Gostei Extremamente</li> </ol>							
	AMOSTRA	NOTA					
	581						
	492						
	302						
Você consumiria/compraria este produto?							
a) Sempre; b) Frequentemente; c) Ocasionalmente; d) Raramente; e) Nunca							
Como você considera este produto em relação aos existentes no mercado?							
a) Melhor; b) Tão bom quanto; c) Pior							
Comentários:							

## **Livros Grátis**

( <a href="http://www.livrosgratis.com.br">http://www.livrosgratis.com.br</a>)

## Milhares de Livros para Download:

<u>Baixar</u>	livros	de A	\dm	<u>inis</u>	<u>tração</u>

Baixar livros de Agronomia

Baixar livros de Arquitetura

Baixar livros de Artes

Baixar livros de Astronomia

Baixar livros de Biologia Geral

Baixar livros de Ciência da Computação

Baixar livros de Ciência da Informação

Baixar livros de Ciência Política

Baixar livros de Ciências da Saúde

Baixar livros de Comunicação

Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE

Baixar livros de Defesa civil

Baixar livros de Direito

Baixar livros de Direitos humanos

Baixar livros de Economia

Baixar livros de Economia Doméstica

Baixar livros de Educação

Baixar livros de Educação - Trânsito

Baixar livros de Educação Física

Baixar livros de Engenharia Aeroespacial

Baixar livros de Farmácia

Baixar livros de Filosofia

Baixar livros de Física

Baixar livros de Geociências

Baixar livros de Geografia

Baixar livros de História

Baixar livros de Línguas

Baixar livros de Literatura

Baixar livros de Literatura de Cordel

Baixar livros de Literatura Infantil

Baixar livros de Matemática

Baixar livros de Medicina

Baixar livros de Medicina Veterinária

Baixar livros de Meio Ambiente

Baixar livros de Meteorologia

Baixar Monografias e TCC

Baixar livros Multidisciplinar

Baixar livros de Música

Baixar livros de Psicologia

Baixar livros de Química

Baixar livros de Saúde Coletiva

Baixar livros de Serviço Social

Baixar livros de Sociologia

Baixar livros de Teologia

Baixar livros de Trabalho

Baixar livros de Turismo