

EUCLIDES LARA CARDOZO JUNIOR

Teores de metilxantinas e compostos fenólicos em extratos de
erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.).

MARINGÁ
PARANÁ – BRASIL
NOVEMBRO - 2006

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

EUCLIDES LARA CARDOZO JUNIOR

Teores de metilxantinas e compostos fenólicos em extratos de
erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.).

Tese apresentada à Universidade Estadual de Maringá, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia, para obtenção do título de Doutor em Agronomia – Área de Concentração em Produção Vegetal.

MARINGÁ
PARANÁ – BRASIL
NOVEMBRO - 2006

EUCLIDES LARA CARDOZO JUNIOR

Teores de metilxantinas e compostos fenólicos em extratos de
erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.).

Tese apresentada à Universidade Estadual de Maringá, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia, para obtenção do título de Doutor em Agronomia – Área de Concentração em Produção Vegetal.

APROVADA - Maringá, 21 de novembro de 2006.

MARINGÁ
PARANÁ – BRASIL
NOVEMBRO - 2006

Dedico este trabalho ao meu pai (*in memoriam*).

AGRADECIMENTOS

Meu agradecimento a Deus Supremo;

Aos meus orientadores Prof. Dr. Osvaldo Ferrarese Filho e Prof. Dr. Lucio Cardozo Filho;

A minha família Terezinha, Rozane, Mariana e agora Ana Luiza pela paciência e compreensão;

Aos meus colegas de projeto e aos professores da UNIPAR, em especial à Prof^a Carmen Maria Donaduzzi e Prof^a Patrícia M. F. Doblinski;

Aos acadêmicos de iniciação científica: Andrey, Cleide, Elenise, Miriam, Aline, Josiane, Juliana, Gheisa e Carin, sem seus esforços este trabalho seria impossível;

Aos empresários do setor ervateiro Sr. Waldemar Geteski, Sr. Afonso Olisewski, Sr. Dalnei Neiverth e Sr. Antonio Schier;

A todos os funcionários da PGA, em especial à Érika Cristina T. Sato;

Às instituições participantes do projeto que originou esta tese:

- Universidade Estadual de Maringá

Departamento de Agronomia - Programa de Pós-graduação em Agronomia;

Departamento de Engenharia Química - Laboratório de Tecnologia Supercrítica e Equilíbrio de Fases;

- Universidade Paranaense – Curso de Farmácia - Campus de Toledo;
- EMBRAPA – Centro Nacional de Pesquisa de Florestas;

Ao Laboratório Prati, Donaduzzi & Cia Ltda e toda sua equipe, que possibilitou o processamento e análise das amostras de erva-mate;

À Fundação Araucária pelo financiamento de parte deste trabalho.

BIOGRAFIA

Euclides Lara Cardozo Junior nasceu em Ponta Grossa/PR em 14/05/1967, possui graduação em Farmácia e Bioquímica pela Universidade Estadual de Ponta Grossa (1986), graduação em Agronomia pela Universidade Federal de Lavras (1994) e Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos pela Universidade Federal da Paraíba (1998). Atualmente é Professor Adjunto do Curso de Farmácia da Universidade Paranaense – Campus Toledo/PR. Tem experiência na área de Farmácia, com ênfase em Farmacognosia, atuando principalmente nos seguintes temas: fitoquímica, produtos naturais e desenvolvimento de fitoterápicos. Na área de Agronomia, atua no desenvolvimento de projetos de produção e beneficiamento de plantas medicinais e aromáticas. Atualmente, coordena o Grupo de Pesquisa Institucional “Desenvolvimento e Análise de Medicamentos”, e o Curso de Pós-Graduação *lato sensu* “Plantas Medicinais na Atenção à Saúde”. Desenvolve pesquisa com erva-mate desde o ano 2000, com o projeto de pesquisa institucional denominado “*Constituição fitoquímica de extratos de erva-mate cultivadas no Paraná*”. Os resultados deste projeto já produziram quatorze apresentações em eventos nacionais e internacionais, três artigos científicos publicados em revistas indexadas e um boletim técnico. Os trabalhos desenvolvidos com a erva-mate fazem parte da linha de pesquisa “*Estudo químico e biológico da erva mate*”, e os resultados conseguidos nesta linha de pesquisa fazem parte desta Tese de Doutorado.

ÍNDICE

LISTA DE QUADROS E TABELAS.....	viii
LISTA DE FIGURAS.....	xi
RESUMO.....	xiii
ABSTRACT.....	xv
INTRODUÇÃO	
1. Importância Econômica.....	01
2. Composição Química.....	04
3. Problemas Agronômicos.....	06
4. Programa de Melhoramento da Espécie.....	07
5. Processamento Industrial.....	08
6. Referências Bibliográficas.....	10
CAPITULO I	
Variação nos teores de compostos fenólicos totais e taninos em dezesseis progênes de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> St. Hil.), cultivadas em três municípios do Paraná.	14
Resumo.....	15
Abstract.....	16
1. Introdução.....	17
2. Materiais e Métodos.....	19
3. Resultados e Discussão.....	20
4. Conclusões.....	26
5. Referências Bibliográficas.....	27
CAPITULO II	

Metilxantinas e compostos fenólicos em progênes de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> St. Hil.) cultivadas no Brasil.	30
Resumo.....	31
Abstract.....	32
1. Introdução.....	33
2. Materiais e Métodos.....	35
3. Resultados e Discussão.....	37
4. Conclusões.....	45
5. Referências Bibliográficas.....	45

CAPITULO III

Parâmetros genéticos dos teores de metilxantinas e compostos fenólicos em progênes de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> St. Hil.) cultivadas em Ivaí/PR - Brasil.....	49
Resumo.....	50
Abstract.....	51
1. Introdução.....	52
2. Materiais e Métodos.....	56
3. Resultados e Discussão.....	59
4. Conclusões.....	74
5. Referências Bibliográficas.....	75

CAPITULO IV

Extração de metilxantinas em erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> St. Hil.) por dióxido de carbono supercrítico.	79
Resumo.....	80
Abstract.....	81
1. Introdução.....	82

2. Materiais e Métodos.....	84
3. Resultados e Discussão.....	87
4. Conclusões.....	97
5. Referências Bibliográficas.....	98

CAPÍTULO V

Efeitos das condições de secagem convectiva com ar quente e vapor superaquecido no conteúdo de fenóis em folhas de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> St. Hil.).....	100
Resumo.....	101
Abstract.....	102
1. Introdução.....	103
2. Materiais e Métodos.....	105
3. Resultados e Discussão.....	108
4. Conclusões.....	118
5. Referências Bibliográficas.....	119
CONCLUSÕES	122

LISTA DE QUADROS E TABELAS

INTRODUÇÃO

Tabela 1. Usos alternativos da erva-mate por campo de aplicação industrial. (SEAB PARANÁ, 1997).....	03
---	----

CAPITULO I

Tabela 1. Localização geográfica das procedências e codificação de dezesseis progênies de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> St. Hil.) cultivadas em três localidades do Paraná.....	19
---	----

Tabela 2. Teores médios de compostos fenólicos totais de progênies de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> St. Hil.) cultivadas em três localidades do Paraná. Valores expressos em %.....	22
---	----

Tabela 3. Teores médios de compostos fenólicos totais de quatro procedências de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> St. Hil.). Valores expressos em %.....	23
--	----

Tabela 4. Teores médios de taninos de progênies de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> St. Hil.) cultivadas em três localidades do Paraná. Valores expressos em %.....	24
--	----

Tabela 5. Teores médios de taninos de quatro procedências de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> St. Hil.). Valores expressos em %.....	25
---	----

CAPÍTULO II

Tabela 1. Teores médios de metilxantinas totais, cafeína e teobromina de progênies de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> St. Hil.) obtidas por dois métodos de extração. Valores expressos em %.....	38
---	----

Tabela 2. Teores médios de metilxantinas totais, cafeína e teobromina de dezesseis progênies de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> St. Hil.) cultivadas em três localidades do Paraná. Valores expressos em %.....	40
---	----

Tabela 3. Teores médios de metilxantinas totais, cafeína e teobromina de progênies de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> St. Hil.) oriundas de quatro procedências. Valores expressos em %.....	41
--	----

Tabela 4. Teores médios de metilxantinas totais, cafeína e teobromina de progênies de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> St. Hil.) cultivadas em três localidades do Paraná. Valores expressos em %.....	42
---	----

Tabela 5. Teores médios de compostos fenólicos totais, ácido clorogênico e ácido cafeico de progênes de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> St. Hil.) oriundas de quatro procedências. Valores expressos em %.....	43
--	----

Tabela 6. Teores médios de compostos fenólicos totais, ácido clorogênico e ácido cafeico de progênes de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> St. Hil.) cultivadas em três localidades do Paraná. Valores expressos em %.....	44
---	----

CAPÍTULO III

Tabela 1. Localização geográfica das procedências e codificação de cinquenta e uma progênes de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> St. Hil.) selecionadas para análise de parâmetros genéticos dos teores de metilxantinas e compostos fenólicos.....	57
---	----

Tabela 2. Teores médios de cafeína e teobromina de cinquenta e uma progênes de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> St. Hil.) cultivadas em Ivaí/PR. Valores expressos em %.....	60
---	----

Tabela 3. Teores médios de cafeína e teobromina de progênes de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> St. Hil.) oriundas de cinco procedências. Valores expressos em %.....	62
--	----

Tabela 4. Coeficientes de variação dos teores de cafeína e teobromina em progênes de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> St. Hil.) cultivadas em Ivaí/PR.....	63
---	----

Tabela 5. Estimativas do coeficiente de herdabilidade no sentido restrito dos teores de cafeína e teobromina em progênes de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> St. Hil.) cultivadas em Ivaí/PR.....	64
--	----

Tabela 6. Ordenamento de indivíduos a partir do valor genético predito do teor de teobromina para seleção de progênes de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> St. Hil.) cultivadas em Ivaí/PR.....	65
---	----

Tabela 7. Ordenamento de indivíduos a partir do valor genético predito do teor de cafeína para seleção de progênes de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> St. Hil.) cultivadas em Ivaí/PR.....	66
--	----

Tabela 8. Teores médios de ácido clorogênico e ácido cafeico de cinquenta e uma progênes de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> St. Hil.) cultivadas em Ivaí/PR. Valores expressos em %.....	68
--	----

Tabela 9. Teores médios de ácido clorogênico e ácido cafeico de progênes de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> St. Hil.) oriundas de cinco procedências. Valores expressos em %.....	69
---	----

Tabela 10. Coeficientes de variação dos teores de ácido clorogênico e ácido cafeico em progênies de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> St. Hil.) cultivadas em Ivaí/PR.....	69
Tabela 11. Estimativas do coeficiente de herdabilidade no sentido restrito dos teores de ácido clorogênico e ácido cafeico em progênies de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> St. Hil.) cultivadas em Ivaí/PR.....	70
Tabela 12. Ordenamento de indivíduos a partir do valor genético predito do teor de ácido clorogênico para seleção de progênies de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> St. Hil.) cultivadas em Ivaí/PR.....	71
Tabela 13. Ordenamento de indivíduos a partir do valor genético predito do teor de ácido cafeico para seleção de progênies de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> St. Hil.) cultivadas em Ivaí/PR.....	72

CAPÍTULO IV

Tabela 1. Localização geográfica das procedências e codificação de dezesseis progênies de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> St. Hil.) cultivadas em três localidades do Paraná.....	84
Tabela 2. Teores médios de metilxantinas em progênies de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> St. Hil.) cultivadas em três localidades do estado do Paraná obtidas por dois métodos de extração. Valores expressos em %....	89
Tabela 3. Rendimento do extrato obtido com CO ₂ supercrítico de progênies de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> St. Hil.) cultivadas em três diferentes localidades do Paraná e teores de cafeína e teobromina no extrato.....	91
Tabela 4. Teores de cafeína e teobromina em progênies de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> St. Hil.) cultivadas em três localidades do estado do Paraná extraídas por CO ₂ supercrítico.....	91

CAPÍTULO V

Tabela 1. Coeficientes de secagem nas diferentes temperaturas e diâmetros equivalentes de partículas considerados na investigação.....	107
Tabela 2. Conteúdo de fenóis em folhas de erva-mate com $6,95 \times 10^{-3}$ m de diâmetro equivalente desidratadas com vapor superaquecido e ar quente a 120° C.....	115

LISTA DE FIGURAS

INTRODUÇÃO

- Figura 1.** Área de distribuição natural da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) na região sul do Brasil. (SEAB PARANÁ, 1993)..... 02
- Figura 2.** Metilxantinas presentes na erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.)..... 04
- Figura 3.** Compostos fenólicos presentes na erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.)..... 05

CAPÍTULO I

- Figura 1.** Teores médios de compostos fenólicos totais em dezesseis progênes de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) cultivadas em três localidades do Paraná..... 21
- Figura 2.** Teores médios de taninos em dezesseis progênes de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) cultivadas em três localidades do Paraná..... 24

CAPÍTULO II

- Figura 1.** Cromatogramas dos padrões (A, B) e do extrato etanólico (C,D) de erva-mate. Teobromina (1), ácido clorogênico (2), ácido cafeico (3) e cafeína (4). Condições cromatográficas: Coluna: Supelcosil LC-18 (4,6 x 250 mm, 5 µm). Fase Móvel: Gradiente MeOH:H₂O (AcOH-0,3%). Fluxo: 1,0 mL/min. Temp.: 30°C e Detecção: (A e C) 265 nm e (B e D) 325 nm..... 37

CAPÍTULO III

- Figura 1.** Correlação entre teores médios de teobromina e cafeína de cinquenta e uma progênes de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) cultivadas em Ivaí/PR..... 61

CAPÍTULO IV

- Figura 1.** Diagrama esquemático do aparato experimental para extração por dióxido de carbono supercrítico..... 86

Figura 2. Cromatogramas dos extratos de erva-mate obtidos por CO ₂ supercrítico (A) e maceração hidroalcoólica (B). Teobromina (1) e cafeína (2). Condições cromatográficas: Coluna: Supelcosil LC-18 - 4,6 x 250 mm, 5 µm. Fluxo: 1,0 mL/min. (A) Fase Móvel: MeOH 40% em H ₂ O (AcOH-0,5%). Detecção: 280 nm. (B) Fase Móvel: Gradiente MeOH:H ₂ O (AcOH-0,3%). Temp: 30°C. Detecção: 265 nm.....	88
Figura 3. Teor de cafeína em folhas de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> St. Hil.) obtido por CO ₂ supercrítico em diferentes condições extrativas. Valores expressos em mg kg ⁻¹	93
Figura 4. Teores médios de teobromina em folhas de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> St. Hil.) obtidos por CO ₂ supercrítico em diferentes condições extrativas. Valores expressos em mg kg ⁻¹	94
Figura 5. Teores médios de cafeína em extratos obtidos por CO ₂ supercrítico de dezesseis progênes de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> St. Hil.) cultivadas em três localidades do Paraná. Valores expressos em mg g ⁻¹ de extrato.....	95
Figura 6. Teores médios de teobromina em extratos obtidos por CO ₂ supercrítico de dezesseis progênes de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> St. Hil.) cultivadas em três localidades do Paraná. Valores expressos em mg g ⁻¹ de extrato.....	96
 CAPÍTULO V	
Figura 1. Diagrama esquemático do procedimento de secagem.....	106
Figura 2. Cinética de secagem de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> St. Hil.) com vapor superaquecido a 120°C.....	109
Figura 3. Cinética de secagem da erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> St. Hil.) com vapor superaquecido a 140°C.....	110
Figura 4. Comparação entre os resultados encontrados neste trabalho e dados reportados previamente na literatura para conteúdo de fenóis. CH: Chaves et al. (2001); CR: Clifford & Martinez (1990); FI: Filip et al. (2000).....	116

RESUMO

CARDOZO JUNIOR, Euclides Lara; Dr. Universidade Estadual de Maringá; Novembro de 2006; Teores de metilxantinas e compostos fenólicos em extratos de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.); Orientador: Prof. Dr. Osvaldo Ferrarese Filho, Co-orientador: Prof. Dr. Lúcio Cardozo Filho.

A erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) é explorada no cone sul da América Latina pela capacidade de produção de bebidas tônicas e estimulantes. Na composição química de extratos da planta, destaca-se a presença de metilxantinas e compostos fenólicos derivados do ácido clorogênico. Num esforço para compreender a dinâmica destes compostos na erva-mate, buscou-se quantificar teores de metilxantinas totais, cafeína e teobromina, além de compostos fenólicos totais, ácido clorogênico e ácido cafeico e relacioná-los com variáveis ambientais, genéticas e de processamento da planta. Os compostos foram quantificados por espectrometria e cromatografia líquida de alta eficiência. A quantificação dos compostos em dezesseis progênes de erva-mate oriundas de quatro procedências (Ivaí/PR, Barão de Cotegipe/RS, Quedas do Iguaçu/PR e Cascavel/PR), cultivadas em três localidades (Ivaí/PR, Rio Azul/PR e Guarapuava/PR) demonstrou diferenças significativas entre progênes. Na avaliação dos teores de compostos fenólicos (7,910-9,591%), em relação à localidade observou-se maior produção em Guarapuava/PR > Rio Azul/PR > Ivaí/PR, sendo que maiores valores de ácido clorogênico foram verificados nas progênes cultivadas em Rio Azul (0,953%) e Guarapuava (0,911%), e maiores teores de ácido cafeico ocorreram nas progênes cultivadas em Ivaí/PR (0,018%) e Guarapuava/PR (0,020%). Ácido clorogênico (0,861-0,915%) apresentou menores teores (0,786%) a partir das progênes oriundas de Cascavel quando comparadas às demais. Teores de metilxantinas (0,560-0,734%) e cafeína (0,490-0,611%) foram maiores nas progênes cultivadas em Guarapuava/PR > Ivaí/PR > Rio Azul/PR. Teores de metilxantinas e cafeína foram menores em progênes oriundas de Ivaí/PR < Quedas do Iguaçu < Barão de Cotegipe < Cascavel. Teores

de teobromina (0,132-0,068%) foram inversamente proporcionais aos teores relatados de cafeína. Na determinação de parâmetros genéticos, observou-se que cafeína e teobromina apresentaram valores estimados elevados de herdabilidade e do coeficiente de variação genética aditiva de indivíduos. Para os ácidos clorogênico e cafeico, os valores estimados foram de média a baixa magnitude. A extração de metilxantinas por dióxido de carbono supercrítico demonstrou ser uma técnica eficiente e seletiva, sendo que as características particulares das progênies influenciaram os teores dos compostos obtidos por esta técnica. Avaliou-se também a influência da atmosfera de secagem no conteúdo de compostos fenólicos totais. Dois experimentos foram conduzidos, utilizando-se ar quente e vapor superaquecido a baixa pressão. Os extratos obtidos a partir de folhas desidratadas em atmosfera com vapor superaquecido, apresentaram uma quantidade de fenóis totais 47% superior àquela resultante da extração a partir de folhas desidratadas com ar quente.

Palavras-Chave: erva-mate, *Ilex paraguariensis*, compostos fenólicos, metilxantinas, progênies.

ABSTRACT

Mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) is commercially cultivated in countries from southern cone of Latin America. Some biological properties are related with the presence of the methylxanthines (caffeine and theobromine) and phenolic compounds (chlorogenic and caffeic acids). This research evaluates the contents of methylxanthines (caffeine and theobromine) and phenolic compounds (chlorogenic and caffeic acids) in leaves of progenies of mate. The chemical compounds were evaluated by High Performance Liquid Chromatography (HPLC) and spectrophotometrically. Methylxanthines and phenolic compounds contents of sixteen mate progenies from four Brazilian regions (Ivaí/PR, Quedas do Iguaçu/PR, Cascavel/PR and Barão de Cotegipe/RS) and grown in three places within the state of Paraná (Ivaí/PR, Rio Azul/PR and Guarapuava/PR) were evaluated. The results showed different average values for total phenolic compounds (7.910-9.591%) in the progenies cultivated at the three places Guarapuava/PR > Rio Azul/PR > Ivaí/PR, whereas higher chlorogenic acid contents were detected in Rio Azul (0.953%) and Guarapuava (0.911%) progenies, and higher caffeic acid occurred in Ivaí (0.018%) and Guarapuava (0.020%) progenies. Chlorogenic acid in the Cascavel progenie was lower (0.786%) than that in the others (0.861 to 0.915%). Rio Azul progenies contained lower methylxanthines (0.574%) when compared to progenies from Ivaí (0.678%) and Guarapuava (0.734%). Caffeine (0.426-0.695%) contents were as follows: Rio Azul < Ivaí < Guarapuava. Total methylxanthines (0.560-0.734%) and caffeine (0.490-0.611%) contents revealed Ivaí < Quedas do Iguaçu < Barão de Cotegipe < Cascavel. Theobromine (0.132-0.068%) contents were inversely related to caffeine contents. Heritability and the coefficient of additive genetic variance were high for caffeine and theobromine contents. Chlorogenic and caffeic acids contents had a low heritability and coefficient of additive genetic variance. The supercritical carbon dioxide extraction procedure applied here, in conjunction with high performance liquid chromatography, may be considered

efficient for characterization and quantification of the methylxanthines in the analyzed samples. Two additional drying runs were performed at identical conditions with conventional hot air and low pressure superheated steam, respectively. The influence of drying atmosphere on the total content of phenols was evaluated. The leaves dried with superheated steam had approximately 47% higher retention of these compounds.

Key-words: mate, *Ilex paraguariensis*, total phenolic compounds, methylxanthines, progenies.

INTRODUÇÃO

1. Importância Econômica

A erva-mate historicamente, tem sido um dos principais produtos agrícolas da região sul do Brasil e nos dias atuais desponta como espécie de grande potencial econômico, social e ecológico. Sua matéria prima, é obtida comercialmente de ervais nativos ou plantados, originados principalmente de pequenas e médias propriedades rurais dos estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. É distribuída desde a Latitude 21° S até 30° S e Longitude 48°30' W até 56°10' W, compreendendo cinco estados brasileiros, e parte do Paraguai e Argentina, numa superfície aproximada de 540 mil Km² (Figura 1). O Brasil é, atualmente, o segundo maior produtor mundial de erva-mate, e o estado do Paraná, o maior produtor nacional. A indústria brasileira produz anualmente em torno de 675 mil toneladas de erva-mate, sendo o Uruguai, o maior importador, absorvendo cerca de 80% da produção brasileira (Neumann, 2000).

No estado do Paraná, a ocorrência de erva-mate está concentrada abaixo do paralelo 24° S – Região Centro Sul – sendo que somente nas microrregiões dos Campos de Guarapuava e Médio Iguaçu são produzidas mais de 80% da erva-mate paranaense (SEAB Paraná, 1997). Esta cultura é a base econômica para cerca de 50 mil pequenos e médios produtores rurais, com uma área ocupada de 283 mil ha. Desta área, 91,2% corresponde aos ervais nativos e 8,8% aos ervais plantados e adensamentos. No Paraná existem 256 indústrias processadoras, distribuídas em 176 municípios, predominando empresas de pequeno porte (SEAB Paraná, 1993; SEAB Paraná, 1997).

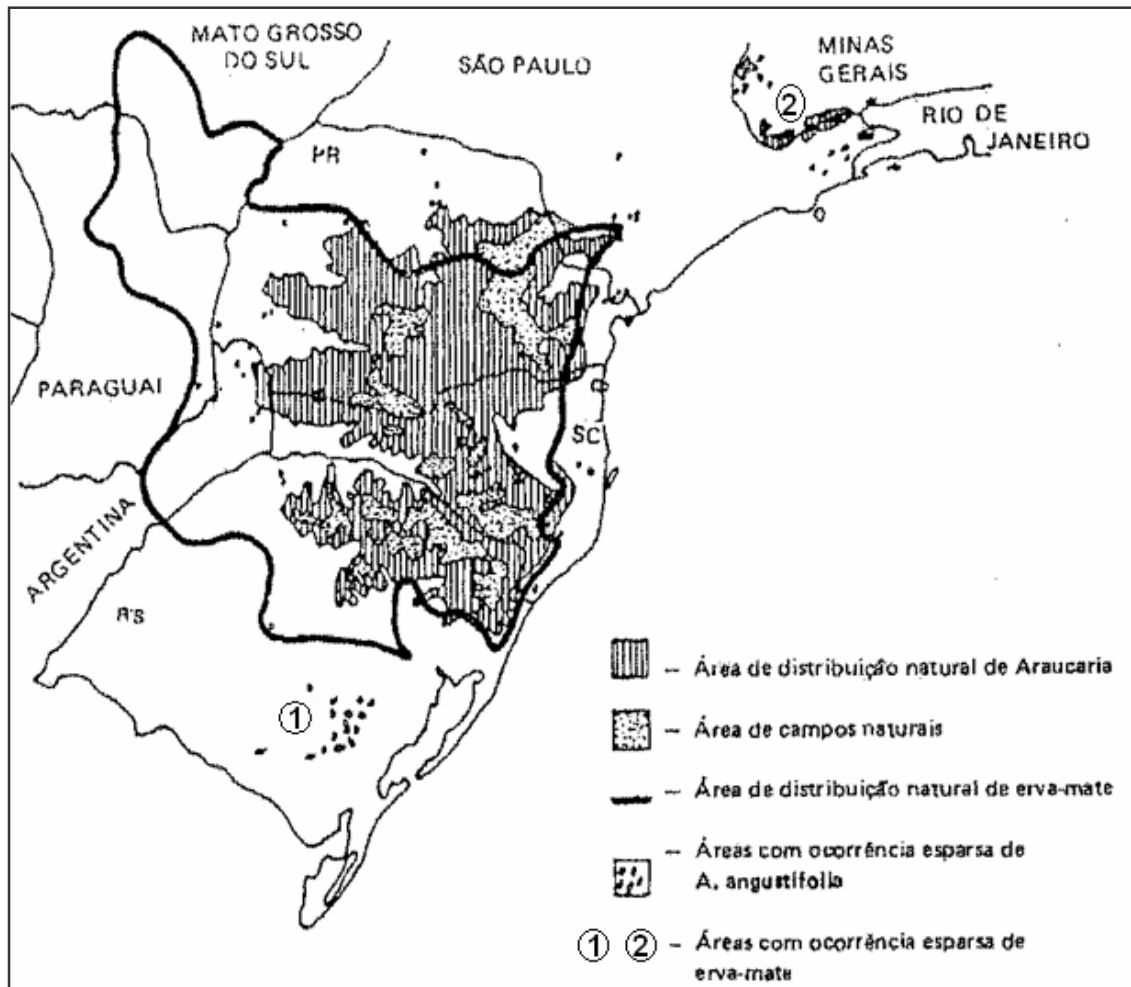


Figura 1. Área de distribuição natural da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) na região sul do Brasil. (SEAB Paraná, 1993).

O extrativismo da erva-mate foi motivo de intensa exploração comercial, sendo responsável por um dos mais importantes ciclos econômicos da região Sul do Brasil. O mate foi o principal produto de exportação da Província do Paraná no final do séc. XIX e até o início da Primeira Guerra Mundial foi o esteio econômico do Estado. Após este período, a erva-mate foi substituída pela madeira (SEAB Paraná, 1993), marcando o início da devastação da Floresta com Araucária. A produção nacional de erva-mate verde, que em 1995 foi de 675 mil toneladas, apresentou um crescimento de 89% em relação a 1992 (SEAB Paraná, 1997).

Da produção brasileira, 80% destinam-se ao mercado interno, sendo 96% consumida como chimarrão e 4% como chás e refrigerantes (Mazuchowski, 1996.). Apesar desta alta concentração em uma única forma de consumo, a erva-

mate apresenta grande potencial para usos alternativos (Tabela 1), devido à diversidade de sua composição fitoquímica. Para a viabilidade destes tipos de utilização, o principal desafio da pesquisa é a identificação e a seleção dos componentes químicos de interesse.

Tabela 1. Usos alternativos da erva-mate por campo de aplicação industrial. (SEAB PARANÁ, 1997)

Aplicação Industrial	Usos Alternativos da erva-mate	
	Sub-Produtos Comerciais	Forma de Consumo
Bebidas	<ul style="list-style-type: none"> • Chimarrão • Tereré • Chá Mate <ul style="list-style-type: none"> – Queimado – Verde / Cozido – Solúvel 	Infusão quente e/ou fria
	<ul style="list-style-type: none"> • Refrigerantes • Sucos • Cerveja • Vinho 	Extrato de folhas diluído
Insumo de Alimentos	<ul style="list-style-type: none"> • Corante Natural • Conservante alimentar 	Clorofila e Óleo Essencial
	<ul style="list-style-type: none"> • Sorvete • Balas, bombons e caramelos. • Chicletes e gomas 	
Medicamentos	<ul style="list-style-type: none"> • Estimulante do Sistema Nervoso Central 	Extrato de Cafeína e Teobromina
	<ul style="list-style-type: none"> • Composto para tratamento de hipertensão, bronquite e pneumonia. 	Extrato de Flavonóides
Higiene Geral	<ul style="list-style-type: none"> • Bactericida e antioxidante hospitalar e doméstico • Esterilizante • Emulsificante 	Extrato de Saponinas e Óleo Essencial
	<ul style="list-style-type: none"> • Tratamento de esgoto • Reciclagem de lixo urbano 	
Produtos de Uso Pessoal	<ul style="list-style-type: none"> • Perfumes • Desodorantes • Cosméticos • Sabonetes 	Extrato de folhas seletivo e clorofila

2. Composição Química

No que se refere à constituição química, a erva-mate foi investigada por diversos autores. Alikaridis (1987) revisou a constituição química do gênero *Ilex*, que inclui cerca de 400 espécies nativas principalmente da Ásia e América do Sul. Cita-se a presença de metilxantinas, fenóis e ácidos fenólicos, aminoácidos e outros compostos nitrogenados, ácidos graxos, antocianinas, flavonóides, compostos terpênicos, alcanos e álcoois, carboidratos, vitaminas e carotenóides.

Sem dúvida, as metilxantinas são os compostos mais conhecidos desta espécie, uma vez que os estudos destas substâncias remontam ao final do século XIX. A cafeína - 1,3,7-trimetilxantina - é a principal xantina encontrada. Seguida da teobromina - 3,7-dimetilxantina - e em quantidades pequenas a teofilina - 1,3-dimetilxantina (Figura 2).

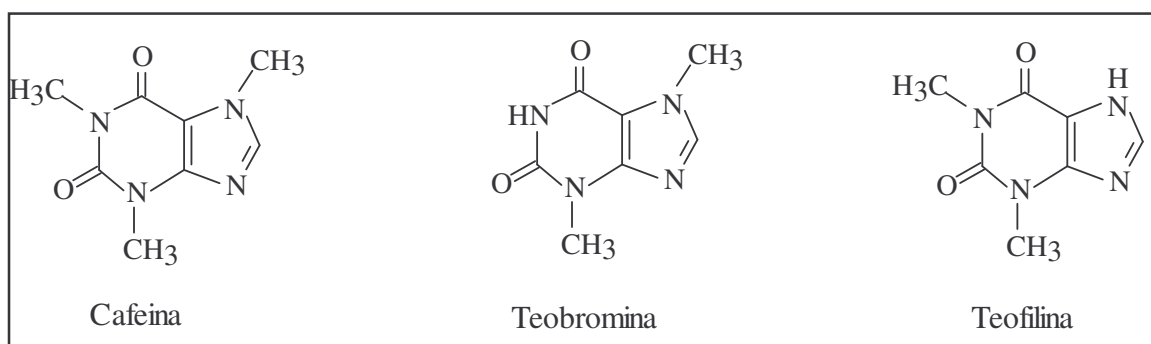


Figura 2. Metilxantinas presentes na erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.).

Usando cromatografia gasosa e espectrometria de massa, Kawakami & Kobayashi (1991) identificaram 196 compostos voláteis relacionados ao sabor do mate verde e do mate tostado. Muitos destes compostos estão presentes também no chá-preto (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze).

Outro grupo de interesse, são os compostos fenólicos, que também apresentam importância nas propriedades da planta bem como de seus produtos comerciais. Neste grupo, destacam-se os flavonóides e os derivados do ácido clorogênico. Os flavonóides, são compostos que sofrem pouca variação estrutural nesta espécie, relacionam-se principalmente à quercetina livre e seus derivados glicosilados, além da presença de kaempferol (Riccio et al., 1995; Filip et al.,

2001). Avaliando a presença de compostos fenólicos e de flavonóides em sete espécies sul-americanas de *Ilex*, Filip et al. (2001) encontraram maiores teores destes compostos em *I. paraguariensis*, quando comparados às outras seis espécies de *Ilex*.

Os autores verificaram para *I. paraguariensis* uma concentração de 9,608% de derivados fenólicos no extrato seco, com a presença de ácido clorogênico (ácido 5-cafeoilquínico), ácido cafeico, ácido 3,4-dicafeoilquínico, ácido 3,5-dicafeoilquínico e ácido 4,5-dicafeoilquínico (Figura 3) e de 0,064% dos flavonóides rutina, quercetina e kaempferol.

Clifford & Ramirez-Martinez (1990) também analisaram os teores de compostos fenólicos em amostras comerciais de erva-mate, e constataram a presença de derivados da quercetina e principalmente derivados do ácido clorogênico, como o ácido 3-cafeoilquínico e o ácido 3,5-dicafeoilquínico. Evidenciando diferenças nos perfis destes derivados nos extratos originados de amostras de erva-mate tostada e erva-mate verde.

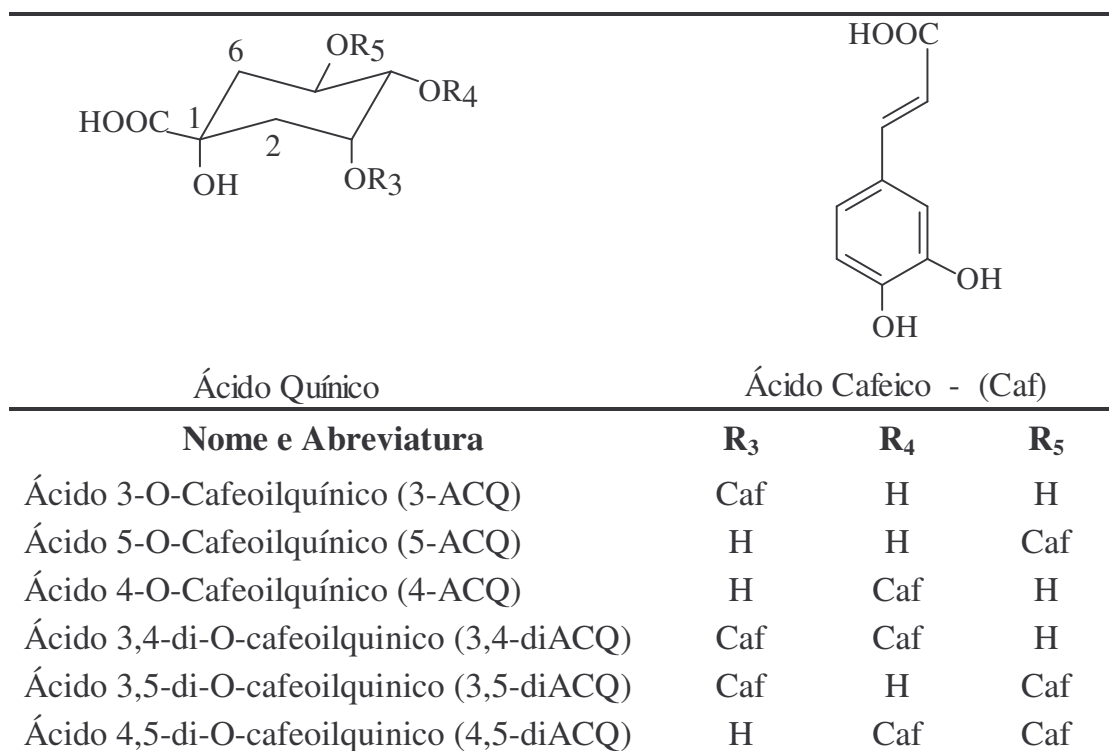


Figura 3. Compostos fenólicos presentes na erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.).

Vários outros trabalhos revelam a riqueza da composição química e nutricional da erva-mate. Indicativo de que o manejo e a exploração apropriada deste recurso genético nativo exigem o conhecimento aprofundado dos componentes químicos produzidos, principalmente no que se refere às concentrações de metilxantinas e de compostos fenólicos (Donaduzzi et al., 2000; Cardozo Junior et al., 2003; Zanoelo et al., 2004).

3. Problemas Agronômicos

A grande variabilidade genética da erva-mate, associada à diversidade pedológica na ampla área de ocorrência e cultivo da espécie, e as inúmeras práticas silviculturais utilizadas no seu manejo, têm sido consideradas as responsáveis pelos resultados contraditórios nos estudos envolvendo sua nutrição e aumento da produtividade. Experimentos, associando a composição química e variáveis ambientais como intensidade de luz, idade da folha, adubação orgânica e mineral, foram desenvolvidos para a espécie (Zampier, 2003; Esmelindro et al., 2004).

A pesquisa agronômica e principalmente as estratégias de melhoramento da espécie, devem priorizar a obtenção de matéria prima em quantidade e qualidade, produzindo informações e tecnologias que levem ao aumento da produção de biomassa/área, sem afetar as características comerciais desejáveis das plantas, diretamente relacionadas ao padrão fitoquímico (Scheffer, 1990).

Em função do desmatamento, da expansão da fronteira agrícola e do aumento do consumo, a erva-mate vem sendo plantada em cultivos homogêneos puros ou em associação. Estima-se que mais de quinze milhões de mudas de erva-mate são produzidas anualmente, com sementes oriundas, na sua maioria, de ervais nativos ou implantados sem qualquer critério seletivo. Como conseqüência, os ervais apresentam alta taxa de mortalidade, desenvolvimento heterogêneo e baixa qualidade da massa foliar.

Levantamentos indicam que, em ervais produtivos, 35% das plantas são responsáveis por mais de 50% da produção de massa foliar por unidade de área

(Belingheri & Prat Kricun, 1992). A falta de critérios na seleção de mudas para a implantação de cultivos da erva-mate também prejudica o produto final devido à falta de padrões que caracterizem a marca ou a região de procedência.

4. Programa de Melhoramento da Espécie

O Brasil possui mais de 80% da área de distribuição natural de *Ilex paraguariensis* St. Hil. Todavia, o crescente desmatamento e a exploração predatória da erva-mate nativa, aumentaram o risco da perda da variabilidade genética.

Poucas informações há, no tocante à biologia e à estrutura genética das populações naturais da erva-mate. Os trabalhos para a conservação e melhoramento genético da erva-mate iniciaram-se em 1986 na EPAGRI/SC com a avaliação de 16 procedências dos Estados de Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná (Floss, 1997). Em 1995, a EMBRAPA Florestas iniciou testes com 175 progênies de oito procedências de erva-mate em sete localidades do Paraná e uma em Santa Catarina.

A característica básica destes, e de outros projetos de melhoramento, é de que a seleção se baseia num único fator quantitativo – a produção de massa foliar - por falta de outros parâmetros que caracterizem a qualidade da matéria prima obtida. Com relação aos programas de melhoramento com erva-mate, deve-se ressaltar o da Argentina, que teve início em 1970 (Belingheri & Prat Kricun, 1995) com três cultivares recomendados para plantio (Franco, 1992).

É importante destacar, que os programas de melhoramento genético da erva-mate visaram, prioritariamente, o aumento da produtividade de massa foliar. Os programas de manejo e melhoramento de recursos genéticos de *Ilex paraguariensis* St. Hil., por utilizarem apenas a produção de massa foliar como parâmetro de avaliação (Sturion & Resende, 1997; Floss, 1997), carecem de informações básicas sobre o comportamento do padrão fitoquímico das espécies. Tais informações poderiam ser relacionadas com a qualidade industrial e

comercial do produto e incorporadas aos estudos de melhoramento, configurando maior competitividade ao produto nacional.

Assim, pouco se conhece sobre os fatores que influenciam a qualidade da bebida comercial. A quantificação dos componentes químicos, bem como a padronização dos métodos de análise, são procedimentos necessários na detecção de períodos de variação destes compostos, o que pode influenciar na qualidade do produto final e nas propriedades sensoriais. Isto permite, como consequência, auxiliar na identificação de indivíduos com características desejáveis para a multiplicação clonal. Tal medida se deve ao fato de que, o mercado Brasileiro tem preferência e preços superiores para folhas oriundas de ervais que produzem chimarrão de sabor suave, implicando na necessidade de estudos que propiciem padrões para qualificar o material comercializado (Donaduzzi et al., 2000).

Estudos básicos, com o propósito de subsidiar programas eficientes de melhoramento genético da erva-mate que levem em consideração aspectos qualitativos, praticamente inexistem ou são incipientes. As pesquisas realizadas, têm se concentrado no estudo do controle genético associado principalmente ao caráter produção de massa foliar. Assim, é imprescindível o desenvolvimento de estudos visando obter informações básicas para o estabelecimento da melhor estratégia de melhoramento e métodos de seleção, considerando a produtividade e a qualidade do produto (Sturion & Resende, 1997; Sturion & Resende, 1999; Sturion et al., 2000; Sturion & Resende, 2001; Sturion et al., 2002).

5. Processamento Industrial

Existe consenso na cadeia produtiva da erva-mate, de que os processos industriais ervateiros pouco se alteraram com o decorrer do tempo. O regime de produção da erva-mate varia de acordo com a localidade, em função de aspectos ligados à tradição e aos aspectos econômicos. Apesar destas diferenças, três etapas são claramente definidas até a obtenção do produto final: o sapeco, a secagem e o cancheamento (ICTA, 2004).

O sapeco, na sua forma rudimentar, é realizado manualmente junto ao fogo e consiste na passagem rápida dos ramos com folhas sobre as chamas de uma fogueira de lenha, adequada para este fim. O sapecador mecânico é basicamente um cilindro metálico, rotatório e inclinado, no qual a erva colhida recebe as chamas, saindo sapecada. O sapeco deve ocorrer rapidamente após a colheita. Esta prática retira a umidade superficial inativando enzimas (peroxidases e polifenoloxidasas) e evita que as folhas se tornem escuras e de sabor desagradável.

A secagem é realizada até as folhas ficarem encrespadas e quebradiças. Faz-se pelo ar quente e seco, por processo mecânico de sucção pneumática, efetuada por exaustores ligados a ciclones cuja finalidade é de eliminar o ar úmido e o pó, ou por meio de elevadores de caçamba (Valduga, 1995). O método convencional de secagem de folhas de erva-mate utiliza um processo caro e pouco eficiente do ponto de vista térmico, e na qualidade do produto final obtido.

Com o crescente número de pesquisas referentes à composição química da erva-mate, surge outra questão, pouco abordada até então: a influência das variáveis operacionais na qualidade da erva-mate, principalmente no que tange à concentração de compostos fenólicos (Zanoelo et al., 2004a). Tal questão, surge devido à possibilidade de que algumas variações no sapeco ou secagem podem alterar a concentração de produtos que influenciam no sabor característico da erva-mate brasileira.

Outra questão importante está relacionada ao método extrativo para a quantificação dos compostos, presentes em extratos de matérias primas vegetais. A obtenção dos compostos químicos contidos no extrato da erva mate se efetua, geralmente, por meio da extração com solventes orgânicos. Em se tratando de pequenas amostras, a extração com solventes orgânicos possui alguns inconvenientes como, por exemplo, a alta temperatura envolvida no processo de extração que pode alterar as características dos compostos presentes na planta *in natura* (Esmelindro et al., 2002).

Apesar da importância da erva-mate e do avanço no conhecimento sobre os aspectos da produção agrícola e da composição química, pouco se conhece

sobre os fatores influentes na qualidade da bebida comercial e na atividade biológica da erva-mate. O conhecimento destes fatores, influenciaria a cadeia produtiva com repercussões sociais, comerciais e ambientais, favoráveis para toda a região. Visto que, a determinação de parâmetros operacionais adequados ao processo de secagem, pode fornecer ferramentas para um estudo técnico-econômico de impacto, melhorando a qualidade do produto nacional obtido a partir desta espécie.

6. Referências Bibliográficas

- Alikaridis, F. Natural constituents of *Ilex* species. *Journal of ethnopharmacology*, v. 20, p.121-144, 1987.
- Belingheri, L.D.; Prat Kricun, S.D. Evaluación preliminar de clones y progenies policlonales de yerba-mate en San Vicent, Misiones, Argentina. In: Reunión Técnica do Cone Sul Sobre a Cultura da Erva-mate, 1. Porto Alegre: UFRS, 1992. Resumos... p. 45.
- Belingheri, L.D.; Prat Kricun, S.D. Evaluacion preliminar de clones y progenies policlonales de yerba mate. In: Winge, H.; Ferreira, A.G.; Mariath, J.E. de A.; Tarasconi, L.C. Org. Erva-mate: biologia e cultura no cone sul. Porto Alegre: Ed. Universidade/UFRGS, 1995. p.151-156.
- Cardozo Junior, E. L.; Donaduzzi, C. M.; Sturion, J. A.; Correa, G. Variação nos teores de metilxantinas em dezesseis progênies de erva mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) cultivadas em três municípios do Paraná. In: Congresso Sul-Americano da Erva Mate, 3. Chapecó: EPAGRI, 2003. Anais ... v. 1, p. 41.
- Clifford, M.N.; Ramirez-Martinez, J.R. Chlorogenic acids and purine alkaloids contents of mate (*Ilex paraguariensis*) leaf and beverage. *Food Chemistry*, v. 35, p. 13-21, 1990.
- Donaduzzi, C.M.; Coelho, S.R.M.; Cardozo Junior., E.L.; Gallo, A G.; Huppes, G.K.; Kuhn, I.M.V.; Schichel, C. Teores de cafeína, polifenóis totais e taninos

- em amostras de erva mate comercializadas na região de Toledo, Paraná. In: Congresso Sul-Americano da Erva-Mate, 2. Encantado/RS: Edição dos Organizadores, 19-23, nov. 2000. Anais... p. 158-161.
- Esmelindro, M.C.; Toniazzo, G.; Dariva, C.; De Oliveira, D.; Lopes, D. The effects of manufacturing steps on the chemical characteristics of the extracts from SCFE of mate tea leaves. *Chemical Engineering Transactions*, v. 2, p. 241-246, 2002.
- Esmelindro, A.A.; Girardi, J.S.; Mossi, A.; Jacques, R.A.; Dariva, C. Influence of agronomic variables on the composition of mate tea leaves (*Ilex paraguariensis*) Extracts Obtained from CO₂ Extraction at 30°C and 175 bar. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 52, p. 1990-1995, 2004.
- Filip, R.; López, P.; Giberti, G.; Coussio, J.; Ferraro, G. Phenolic compounds in seven South American *Ilex* species. *Fitoterapia*, v. 72, p. 774-778, 2001.
- Floss, P.A. Programa de melhoramento genético da erva-mate na EPAGRI. In: Congresso Sul-Americano da Erva-Mate, 1. Curitiba: EMBRAPA-CNPQ, 24-27, nov. 1997. Anais... p. 279-284.
- Franco, H.M. Erva-mate: O Mercosul dispõe dessa exclusividade. *Agropecuária Catarinense*, Florianópolis, v.5, n.4, p.34-31, 1992.
- ICTA - Instituto de Ciências e Tecnologia de Alimentos – UFRGS. In: <http://www.ufrgs.br/icta/> . Acessado em dezembro de 2004.
- Kawakami, M.; Kobayashi, A. volatile constituents of green mate and roasted mate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. v. 39, p. 1275-1279, 1991.
- Mazuchowski, J.Z. Diagnóstico e perspectivas da erva-mate no Brasil. Ed. dos Organizadores. Chapecó/SC, 1996, 27 p.
- Neumann, R.I. Anuário Brasileiro da Erva-Mate - 1999. Santa Cruz do Sul/RS, Editora Gazera, 2000, 79 p.
- Riccio, R.A.; Wagner, M.L.; Gurni, A.A. Estudio comparativo de flavonóides en especies austrosudamericanas del genero *Ilex*. In: Erva Mate – Biología e cultura no Cone Sul. Ed. Universidade/UFRGS, Porto Alegre, 1995.
- SEAB Paraná. Diagnóstico e alternativas para a erva-mate *Ilex paraguariensis*. Curitiba, 1993. 141 p.

- SEAB Paraná. Erva-mate – Prospecção tecnológica da cadeia produtiva. Documento Executivo. Curitiba, 1997. 27 p.
- Scheffer, M.C. Roteiro para estudos de aspectos agrônômicos das plantas medicinais selecionadas pela fitoterapia do SUS-PR/CEMEPAR. SOB Informa, v. 11, n. 1, 1990.
- Sturion, J.A.; Resende, M. D. V. de. Programa de melhoramento genético da erva-mate no Centro Nacional de Pesquisa de florestas da Embrapa. In: Congresso Sul-Americano da Erva-Mate, 1. Reunião Técnica do Cone Sul sobre a Cultura da Erva-Mate, 2., Curitiba: EMBRAPA-CNPf, 24-27, nov. 1997. Anais... p. 285-297.
- Sturion, J.A.; Resende, M.D.V. Comparação da produção de massa foliar entre clones de erva-mate. Colombo: EMBRAPA-CNPf, 1999. 4p. (EMBRAPA-CNPf. Comunicado Técnico, 36).
- Sturion, J.A.; Resende, M.D.V. de; Ulbrich, A.L. Seleção para massa foliar em erva-mate com base no coeficiente de repetibilidade. Colombo: EMBRAPA-CNPf, 2000. 3p. (EMBRAPA-CNPf. Comunicado Técnico, 40).
- Sturion, J.A.; Resende, M.D.V. de. Produção de massa foliar de três procedências de erva-mate e eficiência de seleção em dois tipos de solos na região de Ponta Grossa, PR. Boletim de Pesquisa Florestal, Colombo, n. 43, p. 87-98, 2001.
- Sturion, J.A.; Resende, M.D.V. de; Ulbrich, A.L. Estimativas de herdabilidade para peso foliar de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) por ocasião da primeira poda de produção. Colombo: EMBRAPA-CNPf, 2002. 3p. (EMBRAPA-CNPf. Comunicado Técnico, 73).
- Valdudga, E. Caracterização química e anatômica da folha de *Ilex paraguariensis* Saint Hilaire e de algumas espécies utilizadas na adulteração do mate. Tese de mestrado em Tecnologia Química, UFPR, Curitiba, 1995.
- Zampier, A.C. Avaliação dos níveis de nutrientes, cafeína e taninos após adubação mineral e orgânica e sua relação com a produtividade na erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). In: Congresso Sul Americano da Erva-Mate, 3. Chapecó/SC:EPAGRI, 16-19, nov. Anais... 2003. 5.21. CD-ROOM.

Zanoelo, E.F; Menin, J.C.; Zarkrezevski, C.; Cardozo Junior., E.L.; Cardozo Filho, L.; Estudo preliminar para a determinação de ácidos clorogênicos na erva-mate. In: Congresso Brasileiro de Engenharia Química, 15. 2004. Curitiba. Anais.... 2004. v.1, p. 1-6. CD-ROOM.

Zanoelo, E.F; Menin, J.C.; Zarkrezevski, C.; Cardozo Filho, L.; Influence of operating conditions on the drying of mate (*Ilex paraguariensis*) leaves with superheated steam. In: International Drying Symposium, 2004a, v. C., p. 1577-1583.

CAPITULO I

Varição nos teores de compostos fenólicos totais e taninos em dezesseis progênies de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.), cultivadas em três municípios do Paraná.

Cardozo Junior, E.L., Donaduzzi, C.M., Donaduzzi, E.M., Silva, M.M., Sturion, J.A. Correa, G. **Varição nos teores de polifenóis totais e taninos em dezesseis progênies de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) cultivadas em três municípios do Paraná.** *Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR.* Umuarama/PR: v. 7, n. 2, p. 129-133, 2003.

Resumo

A erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.), um dos principais produtos agrícolas da região Sul, com grande potencial econômico, social e ecológico, tem 96% da produção destinada ao consumo como chimarrão. É grande o interesse pelo estudo de compostos químicos presentes na espécie e sua influência sobre as características da planta e dos produtos comerciais. Dos constituintes químicos encontrados nesta espécie, destacam-se os compostos fenólicos e as metilxantinas. O objetivo deste trabalho, foi analisar a variação nos teores de compostos fenólicos totais e taninos em dezesseis progênes de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.), oriundas de quatro procedências (Ivaí/PR, Barão de Cotegipe/RS, Quedas do Iguaçu/PR e Cascavel/PR) e cultivadas em três áreas experimentais nos municípios de Ivaí/PR, Rio Azul/PR e Guarapuava/PR. Amostras de três blocos foram coletadas entre os meses de julho/setembro de 2001, selecionadas, estabilizadas e secas em estufa com circulação de ar a 45°C por 48h. Determinaram-se os teores de compostos fenólicos totais e taninos por espectrofotometria a 715 nm, baseado na redução do ácido fosfotúngstico, antes e após precipitação com pó de pele. Utilizou-se o teste de Tukey para avaliação da significância estatística dos resultados. Os teores de compostos fenólicos totais tiveram diferença estatística nas progênes cultivadas nas três localidades. A produção de compostos fenólicos foi maior em Guarapuava/PR (7,91 a 10,90%) > Rio Azul/PR (7,34 a 9,93%) > Ivaí/PR (6,65 a 9,72%). Comparando-se procedências houve diferença significativa apenas nas progênes oriundas de Ivaí/PR (8,60%), quando cultivadas em Ivaí/PR. Na avaliação dos teores de taninos, as diferenças observadas entre as três localidades não foram significativas. Na comparação de taninos (0,93%) em relação às procedências, obteve-se comportamento idêntico para compostos fenólicos totais. Concluiu-se que a localidade de cultivo influencia nos teores de compostos fenólicos totais em erva-mate, a partir de procedências distintas. O mesmo não foi verificado em relação ao teor de taninos.

Palavras-Chave: *Ilex paraguariensis*, compostos fenólicos totais, taninos.

Abstract

Mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) has been one of the principal agricultural products of the Brazilian South, with great economical, social and ecological potential. Of its 96% is destined for consumption of tea. Thus, there is a great interest about the influence of its chemical composition on the characteristics of the plant and its related products. The chemical composition of mate includes phenolic compounds and methylxanthines. The objective this work was to evaluate the contents of total phenolic compounds and tannins in sixteen progenies of mate from four Brazilian regions (Ivaí/PR, Barão de Cotegipe/RS, Quedas do Iguaçu/PR e Cascavel/PR) cultivated in three locations (Ivaí/PR, Rio Azul/PR and Guarapuava/PR). Samples of three blocks were collected between July and September 2001, selected, stabilized and dried in an air-circulated oven (45°C, 48 h). The content of total phenolic compounds and tannins was determined spectrophotometrically, based in the reduction of phosphotungstic acid, before and after absorption with skin-powder. Tukey's test was applied with 5% of significance. The results showed different average values for total phenolic compounds in the progenies cultivated at the three places Guarapuava/PR > Rio Azul/PR > Ivaí/PR. No significant difference in the progenies cultivated at the three places was noted for tannins. Significant difference has been observed in the cultivation of Ivaí/PR for native progenies. Significant changes has been noted in the contents of total phenolic compounds and tannins in mate starting from different origins and with respect to the cultivation place.

Key-words: *Ilex paraguariensis*, total phenolic compounds, tannins.

1. Introdução

O extrativismo da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) foi o responsável por um dos mais importantes ciclos econômicos da região Sul do Brasil. O mate, foi o principal produto de exportação da Província do Paraná no final do séc. XIX e até o início da 1ª Guerra Mundial foi o esteio econômico do Estado (SEAB Paraná, 1993).

Atualmente é um dos principais produtos agrícolas da região Sul, com grande potencial econômico, social e ecológico. Da produção brasileira atual, 80% destinam-se ao mercado interno, sendo 96% consumido na forma de chimarrão e 4% como chás e refrigerantes (Mazuchowski, 1996). Apesar desta alta concentração em uma única forma de consumo, a erva-mate apresenta grande potencial para outros usos alternativos devido à diversidade de sua composição fitoquímica.

Destacam-se também as pesquisas sobre o uso de extratos desta espécie na avaliação das atividades antioxidante (Gugliucci & Stahl, 1995), eupéptica e colerética (Gorzalczany et al., 2001) e hipolipidêmica (Mosimann et al., 2006).

A constituição química da erva-mate foi investigada por diversos autores demonstrando a riqueza química desta planta. Alikaridis (1987) revisou a constituição química do gênero *Ilex* que inclui cerca de 400 espécies nativas principalmente da Ásia e América do Sul. O autor cita a presença de fenóis e ácidos fenólicos, metilxantinas, aminoácidos e outros compostos nitrogenados, ácidos graxos, antocianinas, flavonóides, compostos terpênicos, alcanos e álcoois, carboidratos, vitaminas e carotenóides.

Sem dúvida, as metilxantinas são os compostos mais conhecidos desta espécie, sendo que os estudos destas substâncias remontam ao final do século XIX. A cafeína é a principal xantina encontrada seguida da teobromina e em quantidades muito pequenas, a teofilina. Kawakami & Kobayashi (1991) analisaram os constituintes voláteis de produtos comerciais a base de erva-mate, demonstrando a presença de 250 compostos dos quais 196 foram identificados, apresentando semelhança com compostos presentes no chá preto (*Camellia*

sinensis (L.) O. Kuntze). Destacam-se a presença de álcoois terpênicos como linalool, α -terpineol, geraniol e nerolidol, compostos relacionados à ionona como a β -ionona e 2,6,6-trimetil-2-hidroxiciclohexanona e também a presença de altos níveis de 2-butoxietanol e 3,3,5-trimetilciclohexanona.

A fração saponínica em erva-mate é constituída basicamente de compostos triterpênicos onde são encontrados derivados glicosilados do ácido ursólico e do ácido oleanólico com predominância do primeiro (Schenkel et al., 1995). Estes autores mencionam a presença de dez saponinas originadas dos núcleos triterpênicos acima, com os açúcares arabinose, glicose e rhamnose. Outro grupo de interesse na espécie refere-se aos flavonóides. Compostos que sofrem pouca variação estrutural e relacionam-se, principalmente, à quercetina livre e seus derivados glicosilados, além da presença de kaempferol (Ricco, 1995; Filip et al., 2001).

Os compostos fenólicos parecem ter importância nas propriedades da planta, bem como de seus produtos comerciais. Filip et al. (2001) avaliaram a presença de compostos fenólicos e flavonóides em sete espécies sul-americanas de *Ilex*, constatando maior teor destes compostos na espécie *I. paraguariensis* quando comparada às demais. Determinaram uma concentração de 9,608% de derivados fenólicos no extrato seco com a presença de ácido clorogênico, ácido cafeico, ácido 3,4-dicafeoilquínico, ácido 3,5-dicafeoilquínico e ácido 4,5-dicafeoilquínico e de 0,064% dos flavonóides rutina, quercetina e kaempferol.

Clifford & Ramirez-Martinez (1990) demonstraram a presença de derivados da quercetina e principalmente derivados do ácido clorogênico, como o ácido 3-cafeoilquínico e o ácido 3,5-dicafeoilquínico em produtos comerciais, havendo diferenças no perfil destes derivados entre os extratos originados de amostras de erva-mate tostada e verde.

O objetivo deste trabalho foi analisar a variação nos teores de compostos fenólicos totais e de taninos em dezesseis progênies de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.), originadas de quatro procedências e cultivadas em condições controladas, em três diferentes localidades do Paraná.

2. Materiais e Métodos

Cultivo

Dezesseis progênies de erva-mate foram selecionadas entre as mais produtivas, no que se refere à massa foliar, de um teste de procedência e progênie dentro do programa para melhoramento da espécie desenvolvido pela EMBRAPA Florestas.

As progênies foram cultivadas em três áreas experimentais nos municípios de Ivaí/PR, Rio Azul/PR e Guarapuava/PR, e originadas de quatro procedências distintas: Ivaí/PR, Barão de Cotegipe/RS, Quedas do Iguaçu/PR e Cascavel/PR. O delineamento experimental empregado foi o de blocos ao acaso, com oito (Guarapuava/PR e Rio Azul/PR) e 10 repetições (Ivaí/PR), todas com seis plantas por parcela linear. As progênies foram aleatorizadas independentemente das procedências, não se empregando o arranjo hierárquico de progênies dentro da procedência. O espaçamento adotado foi de 3m x 2m.

A poda de formação foi efetuada por volta de dois anos de idade; a segunda poda foi efetuada por volta de dois anos após a primeira. A identificação das procedências e progênies está sumarizada na Tabela 1.

Tabela 1. Localização geográfica das procedências e codificação de dezesseis progênies de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) cultivadas em três localidades do Paraná.

Procedências	Código das Progênies	Coordenadas		
		Lat. (S)	Long. (O)	Alt (m)
Ivaí/PR	01; 03; 05; 10	25°01'	50°48'	600
Barão de Cotegipe/RS	51; 59; 61; 65	27°38'	52°23'	530
Quedas do Iguaçu/PR	80; 81; 88; 100	25°25'	52°55'	590
Cascavel/PR	151; 155; 165; 171	24°57'	53°27'	750

Foram coletadas amostras em três blocos das dezesseis progênies nas três localidades, totalizando 144 amostras. As mesmas eram constituídas das partes

aéreas de seis árvores, que foram homogeneizadas, retirando-se 3 kg para análise. Após, acondicionadas em sacos, devidamente identificadas e transportadas ao laboratório para beneficiamento. As coletas foram realizadas nos meses de julho, agosto e setembro de 2001.

Beneficiamento

As amostras, constituídas das partes aéreas, foram submetidas individualmente a um banho em água fervente por 10 segundos, selecionadas retirando-se manualmente as sujidades, e separadas as folhas dos galhos. Posteriormente, levadas à estufa com circulação de ar a 45°C por 48 horas, trituradas, identificadas e armazenadas em ambiente refrigerado.

Determinação de Compostos Fenólicos Totais e Taninos

A determinação dos compostos fenólicos, baseou-se na redução do ácido fosfotúngstico pelos componentes do extrato aquoso. Quantificados por espectrometria a 715 nm, usando ácido pirogálico como padrão. Os constituintes redutores totais foram diferenciados dos taninos pela capacidade destes em precipitarem com pó de pele, segundo Costa (1982).

Análise estatística

Todas as análises foram realizadas em triplicatas e os resultados expressos em porcentagem sobre a matéria seca. Os parâmetros estatísticos foram obtidos com o auxílio do programa estatístico SISVAR versão 4.3, utilizando-se “Análise Conjunta em Blocos ao Acaso” dos três experimentos, aplicando-se o teste de Tukey a 5 % de significância. As determinações foram realizadas em triplicata.

3. Resultados e Discussão

Os resultados na determinação dos teores de compostos fenólicos totais das dezesseis progênes de erva-mate, cultivadas nas três localidades, podem ser observados na Figura 1. Os valores são expressos em porcentagem e resultam da média da determinação de três blocos. Ocorreram diferenças significativas nos teores de compostos fenólicos totais, entre as dezesseis progênes. O teor de

compostos fenólicos totais das progênes cultivadas em Ivaí/PR variou de 6,65% na progênie 61 a 9,72% na progênie 03.

Na localidade de Rio Azul os valores de mínimo e máximo obtidos foram de 7,34% na progênie 88 e 9,93% na progênie 51. Em Guarapuava obtiveram-se teores máximos de 7,91% na progênie 65 e 10,90% da progênie 61.

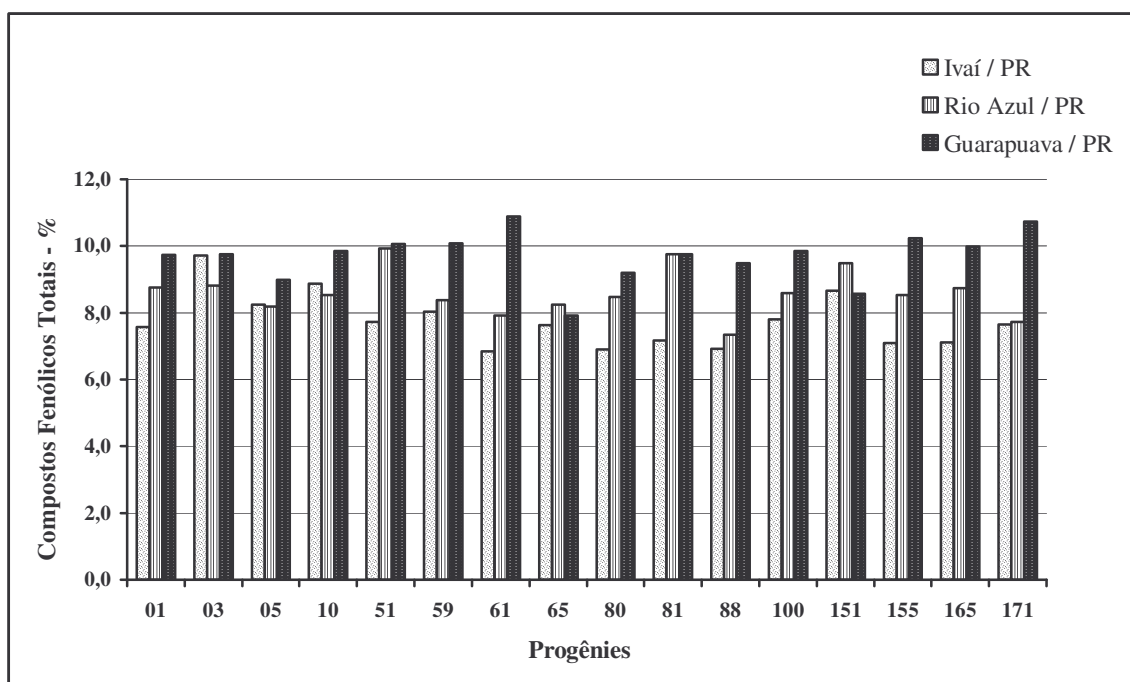


Figura 1. Teores médios de compostos fenólicos totais em dezesseis progênes de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) cultivadas em três localidades do Paraná.

Os compostos fenólicos da erva-mate, estão relacionados aos derivados do ácido clorogênico e ácido cafeico, como o ácido 3-cafeoilquínico, ácido 3,4-dicafeoilquínico, ácido 3,5-dicafeoilquínico e ácido 4,5-dicafeoilquínico e uma pequena concentração de derivados flavonoídicos como rutina, quercetina e kaempferol (Filip et al., 2001). Estes autores encontraram valores de 9,608% para os teores dos cafeoil derivados e 0,064 para teores de flavonóides em *Ilex paraguariensis*.

Esta espécie apresentou teores elevados destes compostos fenólicos, quando comparada a outras espécies sul-americanas de *Ilex* usadas comumente como adulterantes da erva-mate. Convém ressaltar que os valores médios para compostos fenólicos totais, obtidos pelos autores, estão próximos aos valores obtidos das progênes avaliadas neste trabalho.

A média do teor de compostos fenólicos totais das dezesseis progênies cultivadas no município de Ivaí/PR foi de 7,91%, enquanto que no município de Rio Azul/PR foi de 8,74% e em Guarapuava/PR foi de 9,59%, conforme Tabela 2. Observou-se, portanto, uma diferença significativa na produção de compostos fenólicos, entre as três localidades, com uma maior produção dos compostos ocorrendo no cultivo de Guarapuava/PR.

Tabela 2. Teores médios de compostos fenólicos totais de progênies de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) cultivadas em três localidades do Paraná. Valores expressos em %.

Localidade	Compostos fenólicos
Ivaí/PR	7,91 ^c
Rio Azul/PR	8,74 ^b
Guarapuava/PR	9,59 ^a

Médias seguidas por mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Tukey a 5%.

Os compostos fenólicos são encontrados com frequência no reino vegetal. Possivelmente desempenham diversos papéis na fisiologia da planta. Eles participam nas relações ecológicas do vegetal com o meio ambiente e estão relacionados à função alelopática, proteção da planta contra radiação UV e na proteção contra insetos, herbívoros e patógenos.

Internamente influenciam diversos processos metabólicos essenciais à planta, como o crescimento vegetal, germinação de sementes, e nos mecanismos de transdução dos sinais luminosos na resposta fototrópica das plantas. A diversidade química e de papéis fisiológicos dos compostos fenólicos leva a crer, que possam ocorrer variações nas concentrações destes compostos, em função de variáveis ambientais.

Rachwal et al. (2000) encontraram variação no teor de compostos fenólicos, relacionado à luminosidade, havendo uma correlação positiva para as duas variáveis. Os resultados obtidos nesse trabalho demonstraram diferenças significativas para compostos fenólicos totais nas progênies cultivadas nas três diferentes localidades. Nos tratamentos realizados, as plantas cresceram a pleno

sol, portanto outras variáveis ambientais, além da luminosidade, devem ser consideradas na variação de compostos fenólicos.

A Tabela 3 demonstra por meio de análise estatística, o comportamento das progênes na produção de compostos fenólicos totais em relação às quatro procedências. As progênes oriundas da região de Ivaí/PR, quando cultivadas na mesma localidade, apresentam diferença estatística nos valores de média do teor de compostos fenólicos totais, quando comparadas com as outras três procedências. Quando comparados os resultados obtidos das procedências cultivadas em Rio Azul/PR e Guarapuava/PR, não foram observadas diferenças estatísticas nos teores destes compostos.

Tabela 3. Teores médios de compostos fenólicos totais de quatro procedências de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). Valores expressos em %.

Procedências	Ivaí/PR	Rio Azul/PR	Guarapuava/PR
Ivaí/PR	8,60 ^a	8,58 ^a	9,58 ^a
Barão de Cotegipe/RS	7,56 ^b	8,62 ^a	9,73 ^a
Quedas do Iguaçu/PR	7,20 ^b	8,54 ^a	9,57 ^a
Cascavel/PR	7,63 ^b	8,62 ^a	9,88 ^a

Médias seguidas por mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Tukey a 5%.

Os teores obtidos na determinação de taninos para as dezesseis progênes cultivadas nas três localidades, podem ser observados na Figura 2. Os valores em porcentagem representam a média dos três blocos analisados. A média encontrada no teor de taninos das dezesseis progênes cultivadas no município de Ivaí/PR foi de 0,51%, enquanto que no município de Rio Azul/PR foi de 0,45% e em Guarapuava/PR foi de 0,57%, como pode ser observado na Tabela 4. Observam-se valores discrepantes para as dezesseis progênes analisadas.

As discrepâncias encontradas podem ser justificadas pela falta de sensibilidade do método utilizado. Pois a diferenciação de taninos é obtida pela capacidade destes em constituírem complexos com proteínas do pó de pele. Os resultados encontrados para as dezesseis progênes avaliadas reforçam a tese de que taninos condensados inexistem e que pequenas quantidades de taninos

hidrolisáveis estão presentes em folhas de erva-mate (Clifford & Ramirez-Martinez, 1990).

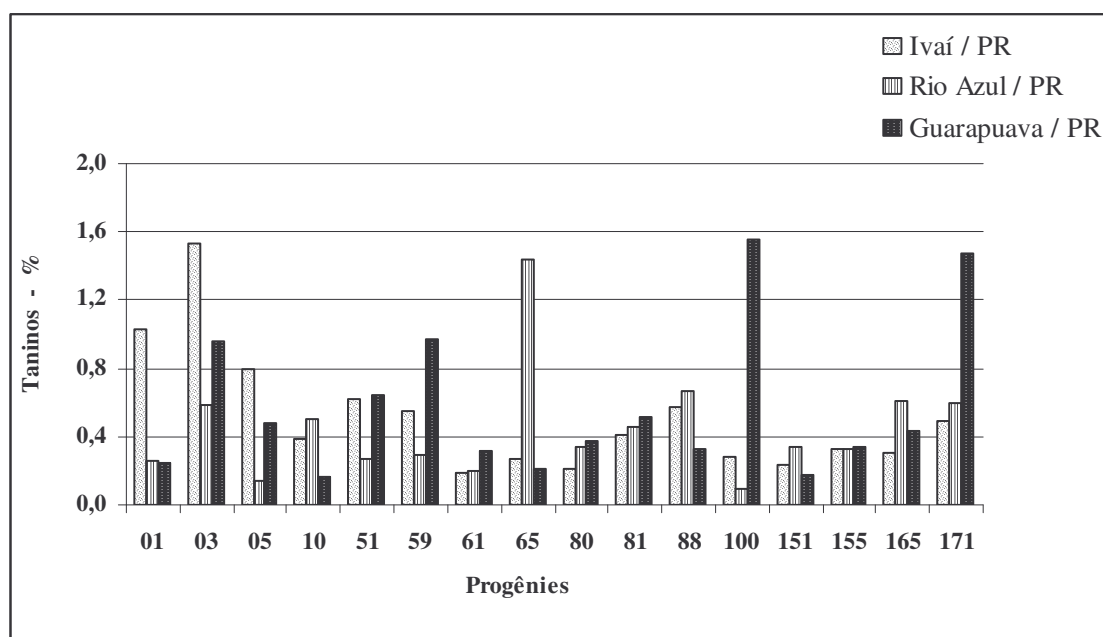


Figura 2. Teores médios de taninos em dezesseis progênies de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) cultivadas em três localidades do Paraná.

As diferenças observadas na produção de taninos não foram significativas para as três localidades, estes resultados são demonstrados na Tabela 4. Os conteúdos de compostos fenólicos em produtos comerciais foram avaliados por Clifford & Ramirez-Martinez (1990). Em outro trabalho, Donaduzzi et al. (2000) avaliando amostras comerciais de erva-mate, encontraram diferenças nos teores de compostos fenólicos totais, taninos e metilxantinas.

Tabela 4. Teores médios de taninos de progênies de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) cultivadas em três localidades do Paraná. Valores expressos em %.

Localidade	Taninos
Ivaí/PR	0,51 ^a
Rio Azul/PR	0,45 ^a
Guarapuava/PR	0,57 ^a

Médias seguidas por mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Tukey a 5%.

A adstringência característica presente em bebidas produzidas a partir da erva-mate pode estar relacionada à presença de compostos tânicos. Os resultados da Tabela 4 demonstram a pequena concentração destes compostos nas plantas.

A Tabela 5 demonstra o comportamento das progênes na produção de taninos em relação às suas procedências. As progênes oriundas da região de Ivaí/PR, quando cultivadas na mesma localidade, apresentam diferença significativa no valor de média do teor de taninos. Esta diferença pode ser encontrada quando comparada com as progênes das outras três procedências cultivadas em Ivaí/PR. Comportamento estatístico semelhante foi observado para a determinação de compostos fenólicos totais.

Tabela 5. Teores médios de taninos de quatro procedências de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). Valores expressos em %.

Procedências	Ivaí/PR	Rio Azul/PR	Guarapuava/PR
Ivaí/PR	0,93 ^a	0,39 ^a	0,46 ^a
Barão de Cotegipe/RS	0,41 ^b	0,55 ^a	0,53 ^a
Quedas do Iguaçu/PR	0,34 ^b	0,38 ^a	0,69 ^a
Cascavel/PR	0,36 ^b	0,47 ^a	0,60 ^a

Médias seguidas por mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Tukey a 5%.

Os valores encontrados para compostos fenólicos totais e taninos nas progênes oriundas de Ivaí/PR, quando cultivadas em Ivaí/PR, leva ao questionamento de que possam existir fatores relacionados à adaptabilidade das progênes influenciando os teores destes compostos. Os valores encontrados, para concentração de taninos nas localidades de Rio Azul/PR e Guarapuava/PR, não diferiram significativamente, podendo-se levar em consideração a pequena concentração destes compostos em erva-mate, sendo que a variação não foi detectada pelo método utilizado.

Pode-se concluir, a partir dos resultados, que ocorrem variações na concentração de compostos fenólicos totais em erva-mate, a partir de procedências distintas e quanto à localidade de cultivo. O mesmo tipo de

comportamento foi observado por vários autores para outros compostos presentes. Athayde & Schenkel (2000) encontraram variação significativa nos teores de metilxantinas e saponinas avaliando quatro populações de erva-mate originadas dos estados de Mato Grosso do Sul, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Além da procedência, fatores ambientais podem influenciar os teores de compostos químicos em erva-mate, desta forma, Coelho et al. (2000) apontam influência do sombreamento sobre teores de metilxantinas nas folhas.

A importância da presença de compostos fenólicos e de sua influência na qualidade de produtos, foi avaliada em *Coffea spp.* (Feldman, 1969). A presença de derivados dicafeoilquinicos em grãos de café aumentam a adstringência da bebida (Ohiokpehai, 1982). Por outro lado, derivados formados da degradação do ácido clorogênico durante a torrefação apresentam um efeito positivo sobre o aroma (De Maria, 1994). A concentração de compostos fenólicos é utilizada em programas de melhoramento de café, além de outros aspectos como produção e resistência a pragas e doenças (Ky, 1999).

O conhecimento sobre a influência que compostos fenólicos desempenham em outras espécies e seus produtos comerciais, leva a indagação sobre sua possível importância na qualidade de produtos derivados da erva-mate. Além de avaliar a variação quantitativa dos compostos fenólicos, se faz necessário analisar a variação qualitativa, as transformações que ocorrem dentro do grupo durante o processamento e suas relações com a qualidade dos produtos comerciais obtidos da erva-mate. Este conhecimento em erva-mate pode beneficiar programas de melhoramento que incluem variáveis de qualidade e estratégias de produção que beneficiem toda a cadeia produtiva da espécie.

4. Conclusões

Ocorreram variações no teor de compostos fenólicos totais nas dezesseis progênies de erva-mate, oriundas de quatro procedências, quando cultivadas em três localidades do Paraná.

Quanto à localidade de cultivo, ocorreram variações na concentração de compostos fenólicos totais em erva-mate, sendo que ocorreu maior teor dos compostos em Guarapuava/PR > Rio Azul/PR > Ivaí/PR.

Diferenças significativas nos teores de compostos fenólicos totais e taninos foram verificadas em progênies oriundas de Ivaí/PR quando cultivadas em Ivaí/PR.

5. Referências Bibliográficas

Alikaridis, F. Natural constituents of *Ilex* species. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 20, p.121-144, 1987.

Athayde, M.L. & Schenkel, E.P. Metilxantinas e Saponinas em quatro populações de *Ilex paraguariensis* St. Hill. *In: Congresso Sul-Americano da Erva-Mate. 2. Reunião Técnica da Erva-Mate. 3. Encantado/RS: Edição dos Organizadores, 19-23, nov. 2000. Anais... p. 121-124.*

Clifford, M.N. & Ramirez-Martinez, J.R. Chlorogenic acids and purine alkaloids contents of mate (*Ilex paraguariensis*) leaf and beverage. *Food Chemistry*, v. 35, p. 13-21, 1990.

Mazuchowski, J.Z. Diagnóstico e Perspectivas da Erva-mate no Brasil. Ed. dos Organizadores. Chapecó/SC, 1996, 27 p.

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. Encantado/RS: Edição dos Organizadores, 19-23, nov. 2000. Anais... p. 396-399.*

Costa, A.F. Farmacognosia. Vol III. 2. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1982. p. 652-659.

- De Maria, C.A.B.; Trugo, L.C.; Moreira, R.F.A.; Werneck, C.C. Composition of green coffee fractions and their contribution to the volatile profile formed during roasting. *Food Chemistry*, v. 50, p. 141-145, 1994.
- Donaduzzi, C.M.; Coelho, S.R.M. ; Cardozo Junior, E.L.; Gallo, A.G.; Huppes, G.K.; Kuhn, I.M.V.; Schichel, C. Teores de cafeína, polifenóis totais e taninos em amostras de erva-mate comercializadas na região de Toledo – Paraná. *In: Congresso Sul-Americano da Erva-Mate. 2. Reunião Técnica da Erva-Mate. 3. Encantado/RS: Edição dos Organizadores, 19-23, nov. 2000. Anais... p. 158-161.*
- Feldman, J.R.; Ryder, W.S.; Kung, J.T. Importance of nonvolatile compounds to the flavour of coffee. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 17, p. 733-739, 1969.
- Filip, R.; López, P.; Giberti, G.; Coussio, J.; Ferraro, G. Phenolic compounds in seven South American *Ilex* species. *Fitoterapia*, v. 72, p. 774-778, 2001.
- Gorzalczany S., Filip R., Alonso M.R., Miño J., Ferraro G.E., Acevedo C., Choleric effect and intestinal propulsion of ‘mate’ (*Ilex paraguariensis*) and its substitutes or adulterants. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 75, p. 291–294. 2001.
- Gugliucci, A; Stahl A.J. Low density lipoprotein oxidation is inhibited by extracts of *Ilex paraguariensis*. *Biochemical and Molecular Biological Int.* 35(1): 47-56. 1995
- Kawakami, M. & Kobayashi, A. Volatile constituents of green mate and roasted mate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 39, p. 1275-1279, 1991.
- Ky, C.L.; Louarn, J.; Guyton, B.; Charrier, A.; Hamon, S.; Noirot, M. Relations between and inheritance of chlorogenic acid contents in an interspecific cross between *Coffea pseudozanguebariae* and *Coffea liberica* var ‘dewevrei’. *Theoretical and Applied Genetics*, v. 98, p. 628-637, 1999.
- Mosimann, A.L.P., Wilhelm-Filho, D., Silva, E.L. Aqueous extract of *Ilex paraguariensis* attenuates the progression of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. *BioFactors*, v. 26, p. 59–70, 2006.

- Ohiokpehai, O.; Brumen, G.; Clifford, M.N. The chlorogenic acids content of some peculiar green coffee beans and the implications for beverage quality. Proc. Int. Congres. ASIC 10: 177-185, 1982.
- Rachwal, M.F.G.; Curcio, G.R.; Dedecek, R.A.; Nietsche, K.; Radomski, M.I. Influência da luminosidade sobre os teores de macronutrientes e tanino em folhas de erva-mate. In: Congresso Sul-Americano da Erva-Mate. 2. Reunião Técnica da Erva-Mate. 3. Encantado/RS: Edição dos Organizadores, 19-23, nov. 2000. Anais... p. 417-420.
- Ricco, R.A., Wagner, M.L., Gurni, A.A. Estudio comparativo de flavonóides en especies austrosudamericanas del genero *Ilex*. In: Erva-mate: biologia e cultura no Cone Sul. Ed. Universidade/UFRGS, Porto Alegre, 1995. p. 243-249.
- Schenkel, E.P.; Gosmann, G.; Heinzmann, B.M.; Montanha, J.A.; Athayde, M.L. Takeda, A.C. Saponinas em espécies do gênero *Ilex*. In: Erva-mate: biologia e cultura no cone sul. Porto Alegre: Editora da Universidade/UFRGS, 1995. p. 251-256.
- SEAB Paraná. Diagnóstico e Alternativas para a Erva-mate *Ilex paraguariensis*. Curitiba, 1993. p. 141.

CAPÍTULO II

Metilxantinas e compostos fenólicos em progênies de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.).

E.L. Cardozo Junior, O. Ferrarese-Filho, L. Cardozo Filho, M.L.L. Ferrarese, C.M. Donaduzzi, J.A. Sturion. **Methylxanthines and phenolic compounds contents in mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) progenies grown in Brazil.** *Journal of Food Composition and Analysis*. v., n., p., 2006. (No prelo).

Resumo

Os teores de metilxantinas e de compostos fenólicos foram avaliados em dezesseis progênies de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.), oriundas de quatro procedências (Ivaí/PR, Barão de Cotegipe/RS, Quedas do Iguaçu/PR e Cascavel/PR), e cultivadas em três diferentes localidades do estado do Paraná - Brasil (Ivaí/PR, Guarapuava/PR e Rio Azul/PR). Os compostos químicos foram avaliados por espectrofotometria (metilxantinas totais e fenóis totais) e por cromatografia líquida de alta eficiência (cafeína, teobromina, ácido cafeico e ácido clorogênico). Quanto ao local de cultivo, menor produção de metilxantinas ocorreu em progênies cultivadas em Rio Azul/PR (0,574%) < Ivaí/PR (0,678%) < Guarapuava/PR (0,739%). Teores de cafeína (0,426 to 0,695%) apresentaram menores valores em Rio Azul/PR < Ivaí/PR < Guarapuava/PR. Os resultados revelaram diferenças estatísticas nos teores de metilxantinas, cafeína e teobromina de acordo com a procedência. Teores de metilxantinas (0,560 a 0,734%) e cafeína (0,490 a 0,611%) foram menores em Ivaí/PR < Quedas do Iguaçu < Barão de Cotegipe < Cascavel. Teores de teobromina (0,132 a 0,068%) foram inversos aos teores relatados de cafeína. Fenóis totais (7,910 a 9,591%) foram maiores em Guarapuava/PR > Rio Azul/PR > Ivaí/PR, sendo que maiores valores de ácido clorogênico foram verificados nas progênies cultivadas em Rio Azul (0,953%) e Guarapuava (0,911%), e maiores teores de ácido cafeico ocorreram nas progênies cultivadas em Ivaí/PR (0,018%) e Guarapuava/PR (0,020%). Ácido clorogênico apresentou menores teores (0,786%) nas progênies oriundas de Cascavel, quando comparadas às demais procedências (0,861 a 0,915%). Não foram observadas alterações nos teores de fenóis totais e ácido cafeico em relação às procedências.

Palavras-Chave: *Ilex paraguariensis*; erva-mate; metilxantinas; cafeína; teobromina; ácido clorogênico; ácido cafeico; fenóis totais.

Abstract

Methylxanthines and phenolic compounds contents of sixteen mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) progenies from four Brazilian regions (Ivaí/PR, Quedas do Iguaçu/PR, Cascavel/PR and Barão de Cotegipe/RS) and grown in three places within in the state of Paraná (Ivaí/PR, Rio Azul/PR and Guarapuava/PR) were evaluated. Results revealed significant changes in total methylxanthines, caffeine and theobromine contents in progenies, according to their origin. Total methylxanthines (0.560 to 0.734%) and caffeine (0.490 to 0.611%) contents revealed Ivaí < Quedas do Iguaçu < Barão de Cotegipe < Cascavel. Theobromine (0.132 to 0.068%) contents were inversely related to caffeine contents. Chlorogenic acid in the Cascavel progenie was lower (0.786%) than that in the others (0.861 to 0.915%). No change occurred in total phenol and caffeic acid contents between progenies with regard to their origin. In the case of planting site, Rio Azul progenies contained low methylxanthines (0.574%) when compared to progenies from Ivaí (0.678%) and Guarapuava (0.739%). Caffeine (0.426 to 0.695%) contents were in the order: Rio Azul < Ivaí < Guarapuava. Total phenol (7.910 to 9.591%) contents were Ivaí < Rio Azul < Guarapuava whereas high chlorogenic acid contents were detected in Rio Azul (0.953%) and Guarapuava (0.911%) progenies, and high caffeic acid occurred in Ivaí (0.018%) and Guarapuava (0.020%) progenies.

Key-words: *Ilex paraguariensis*; mate; methylxantines; caffeine; theobromine; total phenols; chlorogenic acid; caffeic acid.

1. Introdução

A erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) é explorada comercialmente pela sua capacidade de produzir bebidas tônicas e estimulantes para reduzir a fadiga e suprimir o apetite. Mesmo sendo seu consumo, um hábito característico da população do Cone Sul da América Latina, esta planta é comercializada e exportada para várias partes do mundo, incluindo os EUA e a Europa. Importantes propriedades biológicas têm sido associadas a esta espécie, como atividade antioxidante, diurética, eupéptica e colerética (Gugliucci, 1996; Schinella et al., 2000; Gorzalczany et al., 2001).

O mate ou chimarrão é a bebida obtida das folhas secas da árvore perene *Ilex paraguarensis* St. Hil, planta pertencente à família Aquifoliaceae que cresce entre os paralelos 10° e 30°S, entre as bacias dos Rios Paraná e Paraguai (Vasquez e Moyna, 1986). Análises da composição química do gênero *Ilex*, que inclui cerca de 400 espécies nativas principalmente da Ásia e América do Sul, demonstraram a presença de fenóis e de ácidos fenólicos, metilxantinas, aminoácidos e outros compostos nitrogenados, ácidos graxos, antocianinas, flavonóides, compostos terpênicos, alcanos e álcoois, carboidratos, vitaminas e carotenóides. Dentre estes compostos, os mais conhecidos são as metilxantinas cujos estudos iniciais remontam ao final do século XIX (Alikaridis, 1987).

A principal metilxantina encontrada na erva-mate é a cafeína (0,89 a 1,73 %), seguida da teobromina (0,26 a 0,88 %) e de pequenas quantidades de teofilina (Clifford e Ramirez-Martinez, 1990). Metilxantinas possuem importantes propriedades farmacológicas entre as quais se cita a estimulação do sistema nervoso central, vasoconstrição periférica, relaxamento da musculatura lisa e estimulação miocárdica (Kikatani et al., 1993; Lorist e Tops, 2003).

Acumulam-se tanto intracelularmente como na cera epicuticular das folhas de erva-mate (Athayde, Coelho e Schenkel, 2000) e seus teores têm sido relacionados com a variabilidade genética, a influência de variáveis ambientais, a época de colheita e o tipo de processamento. Além disso, os teores variam com a época do ano, sendo menores nos meses de setembro a dezembro (Da Croce,

2002). Diferenças nos conteúdos de cafeína e teobromina também podem ocorrer em função da variedade. Por exemplo, *I. paraguariensis* var. *paraguariensis* contém em média 0,65% de cafeína e 0,12% de teobromina enquanto *I. paraguariensis* var. *vestita* - variedade de erva-mate pubescente de pequena dispersão geográfica nativa do Brasil – contém 0,003% de cafeína e 0,22% de teobromina (Reginatto et al., 1999; Scherer et al. 2002).

Outro grupo fitoquímico de importância na erva-mate são os compostos fenólicos. Conteúdos significativos desses compostos foram relatados (Alikaridis, 1987), com predomínio de derivados do ácido clorogênico (ACGs). Estes compõem uma família de ésteres mono e diacídicos do ácido quínico. Os resíduos acila mais comuns são os ácidos cafeico (ACQ e di-ACQ), ferúlico (AFQ) e *p*-cumárico (Ap-CoQ).

A erva-mate possui altas concentrações de derivados cafeoil, estando presentes além dos ácidos cafeico e clorogênico, os derivados di-cafeoilquínicos 3,4-diACQ, 3,5-diACQ, 4,5-diACQ (Filip et al., 2001). Extratos de produtos comerciais obtidos com erva-mate verde revelaram elevados teores de ACGs, com predominância de 3-ACQ e 3,5-diACQ (Clifford e Ramirez-Martinez, 1990).

A presença de compostos fenólicos da família dos ACGs tem sido associada à algumas propriedades biológicas e sensoriais da erva-mate, assim como de outras bebidas como o café (*Coffea arabica*) e sucos de várias espécies frutíferas. Propriedades biológicas de interesse, como colerética, antioxidante e hipocolesterolêmica, têm sido relacionadas à presença destes compostos (Ohnishi et al., 1994; Meyer et al., 1998; De Maria e Moreira, 2004).

Levando em consideração a importância econômica e as propriedades biológicas da erva-mate, este trabalho teve por objetivo avaliar os teores de metilxantinas (cafeína e teobromina) e de compostos fenólicos (ácido clorogênico e ácido cafeico) presentes nas folhas de dezesseis progênies oriundas de quatro regiões brasileiras, e cultivadas em três diferentes localidades do estado do Paraná - Brasil. Estas progênies fazem parte de um dos poucos programas de melhoramento genético conduzidos no Brasil.

2. Materiais e Métodos

Condução experimental

Três experimentos, com o mesmo material genético, foram instalados nas localidades de Ivaí (mar/1997), Guarapuava (ago/1997) e Rio Azul (jul/1997) todas no estado do Paraná. Os materiais avaliados eram procedentes de quatro diferentes regiões (Ivaí/Paraná: 25 progênies, Barão de Cotegipe/Rio Grande do Sul: 21 progênies, Quedas do Iguaçu/Paraná: 25 progênies e Cascavel/Paraná: 25 progênies).

O delineamento experimental empregado foi o de blocos ao acaso com oito (Guarapuava/PR e Rio Azul/PR) e 10 repetições (Ivaí/PR), todas com seis plantas por parcela linear. As progênies foram aleatorizadas independentemente das procedências, não se empregando o arranjo hierárquico de progênies dentro da procedência. O espaçamento adotado foi de 3m x 2m. A poda de formação foi efetuada por volta de dois anos de idade; a segunda poda foi efetuada por volta de dois anos após a primeira.

Para as análises químicas, foram selecionadas dezesseis progênies com maior produção de massa foliar, oriundas das quatro procedências mais produtivas. Cerca de 3 kg de folhas e ramos com diâmetros inferiores a 3 mm, foram coletadas e homogeneizadas a partir de seis plantas da parcela (amostra composta). As coletas foram realizadas no inverno (jun/ago) de 2001, em três blocos e as amostras foram enviadas imediatamente ao laboratório para processamento e análise.

As amostras foram submersas em água fervente por 10 segundos. A seguir, foram separadas as folhas verdes, sem manchas e sujidades. As folhas foram secas em estufa com circulação de ar a 45°C, durante 48 horas. Posteriormente, as folhas foram moídas, acondicionadas em embalagens de papel, envoltas em embalagem plástica e armazenadas em geladeira.

Quantificação de metilxantinas e de compostos fenólicos

As determinações de metilxantinas e de fenóis totais foram efetuadas a partir de 1,0 g de cada amostra. Para a determinação de metilxantinas totais, a

extração aquosa foi efetuada após digestão com ácido sulfúrico a 75 °C, seguida de partição com clorofórmio. A quantificação foi realizada em espectrofotômetro a 275 nm, utilizando-se cafeína como padrão (Instituto Adolfo Lutz, 1985). Os compostos fenólicos totais foram determinados após extração aquosa e redução dos fenóis pelo reagente molibdotungstofosfórico (Costa, 1982), em espectrofotômetro a 715 nm, usando ácido pirogálico como padrão.

As quantificações de cafeína, teobromina, ácido clorogênico e ácido cafeico foram realizadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (Filip et al., 2001), 1,5 g da amostra foi macerada com etanol-água (70:30) sendo o volume final completado para 100 ml. O cromatógrafo (Shimadzu Mod. SCL-10A) foi equipado com injetor (SIL-10AF), bomba (LC-10 AT), misturador (FCV-10AL), degaseificador (DGU-14^a) e forno (CTO-10AS). Para a separação cromatográfica utilizou-se a coluna C₁₈ (Supelcosil LC-18 - 4,6 x 250 mm, 5 µm). A fase móvel empregada foi um gradiente de (A): água acidificada com 0,3% de ácido acético e (B): metanol. Gradiente: 15%-20% B em 20 min; 20%-85% B em 5 min e 85% B em 5 min.

Os solventes utilizados foram da marca J. T. Backer e Merck. O fluxo utilizado foi de 1,0 mL/min na temperatura constante de 30°C. A detecção foi conduzida a 265 nm para cafeína e teobromina e 325 nm para os ácidos cafeico e clorogênico num detector ultravioleta UV-Vis (SPD-10A). As amostras foram injetadas em triplicata e as áreas dos picos foram comparadas com padrões de cafeína, teobromina, ácido clorogênico e ácido cafeico (Sigma Chemical Co, USA).

Curvas de calibração foram efetuadas com os padrões após serem diluídos na fase móvel. Após a injeção dos padrões, as áreas dos respectivos picos foram avaliadas. A linearidade foi determinada por regressão e a precisão e a acurácia foram determinadas pelo coeficiente de variação (< 3%). Os coeficientes de correlação obtidos foram $r^2 = 0,9999$ para cafeína, $r^2 = 0,9976$ para teobromina, $r^2 = 0,9997$ para ácido clorogênico e $r^2 = 0,9995$ para o ácido cafeico.

Análise estatística

Os parâmetros estatísticos foram obtidos com o auxílio do programa estatístico SISVAR (Versão 4.3, UFLA, Brasil), utilizando-se “Análise Conjunta em Blocos ao Acaso” dos três experimentos, aplicando-se o teste de agrupamento Scott-Knott a 5 % de significância. As análises foram realizadas em triplicatas e os resultados expressos em porcentagem sobre a matéria seca.

3. Resultados e Discussão

Na Figura 1, é possível observar os cromatogramas obtidos com os padrões analisados a 265 nm (1A) e 325 nm (1B). Os tempos de retenção (min.) para os padrões foram de 7,8 (teobromina), 12,5 (ácido clorogênico), 18,4 (ácido cafeico) e 19,8 (cafeína). A mesma figura demonstra o perfil cromatográfico do extrato etanólico das folhas de erva-mate.

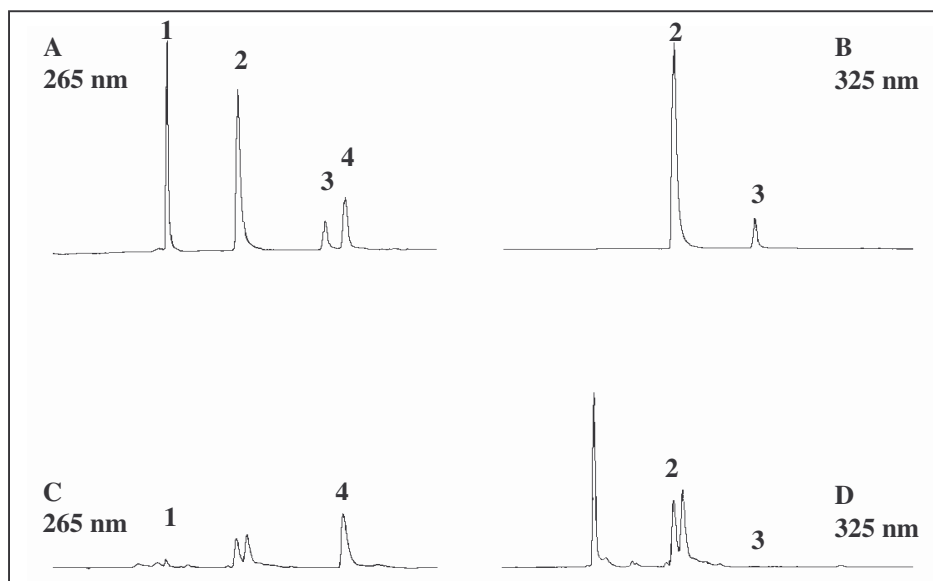


Figura 1. Cromatogramas dos padrões (A, B) e do extrato etanólico (C,D) de erva-mate. Teobromina (1), ácido clorogênico (2), ácido cafeico (3) e cafeína (4). Condições cromatográficas: *Coluna:* Supelcosil LC-18 (4,6 x 250 mm, 5 µm). *Fase Móvel:* Gradiente MeOH:H₂O (AcOH-0,3%). *Fluxo:* 1,0 mL/min. *Temp.:* 30°C e *Deteção:* (A e C) 265 nm e (B e D) 325 nm.

A principal metilxantina presente é a cafeína (Fig. 1C; pico 4; 19,4 min.) seguida de teobromina em menor concentração (Fig. 1C; pico 1; 7,6 min.). O

composto fenólico detectado presente em maior concentração na erva-mate foi o ácido clorogênico (Fig. 1D; pico 2; 12,3 min), enquanto que o menor pico se refere ao ácido cafeico (Fig. 1D; pico 3; 18,6 min). Pode-se constatar que o uso do gradiente permitiu excelente separação e integração dos picos dos quatro padrões.

Metilxantinas totais, cafeína e teobromina foram avaliadas em dezesseis progênes obtidas de quatro procedências, cultivadas em três localidades. Para excluir eventuais discrepâncias relacionadas ao método de extração, dois protocolos foram avaliados. Primeiramente as metilxantinas foram extraídas em meio aquoso após digestão ácida do material vegetal, seguida de separação em clorofórmio (Instituto Adolfo Lutz, 1985). Num segundo método, cafeína e teobromina foram extraídas por maceração em etanol e água (70:30) (Clifford and Ramirez-Martinez, 1990).

Para os valores médios de determinação (N = 144) não foram constatadas diferenças significativas (P > 0,05) nos resultados obtidos quando comparados os valores de metilxantinas obtidos por extração ácida ($0,664 \pm 0,115\%$), com a somatória dos valores médios de cafeína e teobromina obtidos por extração através de maceração hidroalcoólica ($0,657 \pm 0,042\%$), conforme observado na Tabela 1.

Tabela 1. Teores médios de metilxantinas totais, cafeína e teobromina de progênes de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) obtidas por dois métodos de extração. Valores expressos em %.

Extração Ácida	Extração Hidroalcoólica		
Metilxantinas Totais	Cafeína	Teobromina	Total
$0,664 \pm 0,115^{ns}$	$0,561 \pm 0,089$	$0,096 \pm 0,049$	$0,657 \pm 0,042^{ns}$

ns = Diferenças estatisticamente não significativas (P>0,05)

Os valores obtidos nos teores desses compostos estão em concordância com aqueles obtidos por outros autores (Clifford e Ramirez-Martinez, 1990; Vazquez e Moyna, 1986). Variações no teor destes compostos têm sido associadas com variáveis genéticas (Reginatto et al., 1999; Scherer et al., 2002),

ambientais (Da Croce, 2002) e de processamento industrial (Clifford e Ramirez-Martinez, 1990).

A Tabela 2 sumariza os resultados dos teores de metilxantinas totais, cafeína e teobromina nas dezesseis progênes analisadas. Constatam-se alterações significativas nos teores desses compostos entre as dezesseis progênes, reforçando a idéia da diversidade química presente na espécie. Destaca-se o comportamento da progênie 10 que apresenta como principal característica a capacidade de produzir baixo teor de cafeína (0,156%) e conseqüentemente de metilxantinas totais (0,315%).

Outro grupo formado pela maioria das progênes apresenta a capacidade de produzir teores maiores de cafeína ($\geq 0,452\%$) e metilxantinas totais ($\geq 0,552\%$). Com relação à teobromina observa-se a formação de três grupos, o maior contendo 10 progênes ($\leq 0,086\%$), um grupo de 5 progênes ($\geq 0,105\%$) e a progênie 10 com teor médio de 0,288%.

Pode-se observar na Tabela 2, que as progênes com menores teores de cafeína apresentaram maiores teores de teobromina. A relação cafeína/teobromina verificada variou de 3,53 (progênie 03) a 16,27 (progênie 65). Comportamento diferente ocorreu na progênie 10 com relação cafeína/teobromina de 0,54.

Variações nos conteúdos de cafeína e teobromina foram verificadas em progênes de erva-mate cultivadas na região de Misiones-Argentina (Scherer et al., 2002), amostradas a partir de árvores individuais. Foram caracterizadas progênes que combinam baixos ou moderados teores de ambos os compostos, altos teores de cafeína com moderada teobromina e alta cafeína com alta teobromina. Diferenças nos teores de metilxantinas também foram relacionadas com variedades, a *I. paraguariensis* var. *vestita*, de menor dispersão geográfica, apresentou menor teor de cafeína e maior de teobromina em comparação com *I. paraguariensis* var. *paraguariensis* (Reginatto et al., 1999).

A relação inversa entre os teores destes compostos pode evidenciar uma participação conjunta na biossíntese destes compostos. Na biossíntese da cafeína, a teobromina participa como um importante intermediário (Ashihara e Crozier,

2001). Tem sido sugerido que a biossíntese de cafeína, nas folhas de erva-mate, ocorre somente em tecidos novos, sendo as vias biossintéticas semelhantes às daquelas de plantas como o chazeiro e o café (Suzuki et al., 1992).

Tabela 2. Teores médios de metilxantinas totais, cafeína e teobromina de dezesseis progênies de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) cultivadas em três localidades do Paraná. Valores expressos em %.

Metilxantinas Totais	Cafeína	Teobromina
0,315 ^{a1} (10)	0,156 ^{a1} (10)	0,288 ^{a3} (10)
0,552 ^{a2} (03)	0,452 ^{a2} (03)	0,135 ^{a2} (88)
0,615 ^{a2} (88)	0,526 ^{a2} (80)	0,128 ^{a2} (03)
0,618 ^{a2} (05)	0,555 ^{a2} (88)	0,119 ^{a2} (51)
0,623 ^{a2} (80)	0,557 ^{a2} (100)	0,109 ^{a2} (81)
0,658 ^{a2} (100)	0,561 ^{a2} (165)	0,105 ^{a2} (80)
0,661 ^{a2} (51)	0,568 ^{a2} (51)	0,086 ^{a1} (151)
0,675 ^{a2} (65)	0,591 ^{a2} (59)	0,084 ^{a1} (05)
0,683 ^{a2} (165)	0,602 ^{a2} (65)	0,079 ^{a1} (165)
0,690 ^{a2} (81)	0,604 ^{a2} (05)	0,073 ^{a1} (100)
0,703 ^{a2} (59)	0,607 ^{a2} (171)	0,067 ^{a1} (61)
0,714 ^{a2} (155)	0,613 ^{a2} (81)	0,065 ^{a1} (155)
0,747 ^{a2} (171)	0,628 ^{a2} (155)	0,065 ^{a1} (59)
0,755 ^{a2} (01)	0,642 ^{a2} (61)	0,045 ^{a1} (01)
0,790 ^{a2} (151)	0,648 ^{a2} (151)	0,043 ^{a1} (171)
0,815 ^{a2} (61)	0,667 ^{a2} (01)	0,037 ^{a1} (65)

Médias seguidas por mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Scott-Knott ($\alpha=0,05$).

*() Código da progênie

Tem sido amplamente aceito, que a síntese a partir de nucleotídeos da adenina é a rota mais importante (Ashihara, 1993). Sua biossíntese ocorre via xantosina \rightarrow 7-metilxantosina \rightarrow 7-metilxantina \rightarrow teobromina \rightarrow cafeína embora outras vias menos importantes possam ocorrer (Ashihara e Crozier, 2001).

A Tabela 3 sumariza os teores de metilxantinas totais, cafeína e teobromina das quatro procedências e pode-se notar a existência de significância

estatística quando comparadas estas quatro procedências. Progênes oriundas de Ivaí/PR e Quedas do Iguaçu/PR apresentaram menores teores de metilxantinas totais e de cafeína, em relação às progênes de Barão de Cotegipe/RS e Cascavel/PR. Relação inversa foi constatada quanto aos teores de teobromina, progênes de Ivaí/PR e Quedas do Iguaçu/PR apresentaram maiores teores deste composto em comparação com progênes de Barão de Cotegipe/RS e de Cascavel/PR.

Diferenças significativas entre árvores individuais foram encontradas em progênes de erva-mate (Scherer et al., 2002). Os resultados apresentados neste trabalho suportam a mesma conclusão, apesar das amostras não serem constituídas de árvores individuais, mas sim de parcela composta de seis árvores. As diferenças existentes em cada uma das quatro procedências, no tocante aos teores de metilxantinas totais, cafeína e teobromina, reforçam a existência de famílias com características semelhantes e dependentes da origem da amostra.

Tabela 3. Teores médios de metilxantinas totais, cafeína e teobromina de progênes de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) oriundas de quatro procedências. Valores expressos em %.

Procedência	Metilxantinas Totais	Cafeína	Teobromina
Ivaí/PR	0,560 ^{a1}	0,490 ^{a1}	0,132 ^{a2}
Quedas do Iguaçu/PR	0,647 ^{a1}	0,543 ^{a1}	0,110 ^{a2}
Barão de Cotegipe/RS	0,714 ^{a2}	0,601 ^{a2}	0,072 ^{a1}
Cascavel/PR	0,734 ^{a2}	0,611 ^{a2}	0,068 ^{a1}

Médias seguidas por mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Scott-Knott ($\alpha= 0,05$).

Os resultados dos teores de metilxantinas totais, cafeína e teobromina em relação à localidade, podem ser vistos na Tabela 4. Progênes de erva-mate cultivadas em Rio Azul/PR apresentaram menor teor dos compostos avaliados quando comparadas com Ivaí/PR e Guarapuava/PR. Os teores de metilxantinas totais e de cafeína diferiram significativamente nas três localidades de cultivo,

porém, os teores de teobromina não variaram significativamente entre as três diferentes localidades, apesar de manterem o mesmo padrão. Variações sazonais no teor destes compostos em erva-mate foram reportadas (Da Croce, 2002), práticas agrônômicas (Esmelindro et al., 2004) também foram associadas com alterações nas vias metabólicas secundárias para produção de metilxantinas. Fatores ambientais podem influenciar significativamente as vias metabólicas secundárias relacionadas à produção de compostos metilxantínicos (Ashihara e Crozier, 2001).

Tabela 4. Teores médios de metilxantinas totais, cafeína e teobromina de progênies de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) cultivadas em três localidades do Paraná. Valores expressos em %.

Localidade	Metilxantinas Totais	Cafeína	Teobromina
Rio Azul/PR	0,574 ^{a1}	0,426 ^{a1}	0,085 ^{a1}
Ivaí/PR	0,678 ^{a2}	0,562 ^{a2}	0,094 ^{a1}
Guarapuava/PR	0,742 ^{a2}	0,695 ^{a3}	0,108 ^{a1}

Médias seguidas por mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Scott-Knott ($\alpha = 0,05$).

As três localidades apresentam o mesmo tipo climático, Cfb – subtropical úmido mesotérmico (IAPAR, 2000). Por apresentarem características climáticas semelhantes, é plausível que o fator solo esteja influenciando os teores destes compostos. Existem poucos estudos sobre as relações entre as características do solo (fertilidade, por exemplo) e a composição química da erva-mate. Metilxantinas, assim como outros metabólitos nitrogenados dependem de nutrientes e de disponibilidade de energia para a sua síntese (Ashihara e Crozier, 2001).

No chá preto (*Camellia sinensis*), foi relatada correlação positiva entre polifenóis, cafeína e compostos voláteis, os quais estão relacionados ao aroma e ao sabor, com elevação dos níveis de adubação de nitrogênio e potássio (Venkatesan e Ganapathy, 2004). A deficiência de potássio e molibdênio

incrementou o conteúdo de cafeína em folhas de café (*Coffea arabica*), enquanto que deficiência de nitrogênio e fósforo causou decréscimo (Mazzafera, 1999).

Os teores de compostos fenólicos totais, ácido clorogênico e ácido cafeico das quatro procedências de erva-mate estão sumarizados na Tabela 5, e mostraram-se próximos àqueles descritos por Filip et al. (2001). Os teores de ácido clorogênico foram menores que os citados no mesmo trabalho. O ácido clorogênico, quimicamente denominado ácido 5-cafeoilquinico, e o ácido cafeico não são os compostos fenólicos predominantes na erva-mate (Clifford e Ramirez-Martinez, 1990; Filip et al., 2001). Tanto nas folhas como nos produtos comerciais predominam derivados di-cafeoilquínicos como o 3,4-DCQ, 3,5-DCQ e 4,5-DCQ. Não foram constatadas diferenças significativas nos teores de fenóis totais e ácido cafeico, sendo que apenas o ácido clorogênico, de progênies oriundas de Cascavel/PR, apresentaram teores menores que as outras procedências, com valores estatisticamente significativos.

Tabela 5. Teores médios de compostos fenólicos totais, ácido clorogênico e ácido cafeico de progênies de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) oriundas de quatro procedências. Valores expressos em %.

Procedência	Fenóis Totais	Ácido Clorogênico	Ácido Cafeico
Ivaí/PR	8,979 ^{a1}	0,915 ^{a2}	0,014 ^{a1}
Barão de Cotegipe/RS	8,829 ^{a1}	0,932 ^{a2}	0,016 ^{a1}
Quedas do Iguaçu/PR	8,445 ^{a1}	0,861 ^{a2}	0,020 ^{a1}
Cascavel/PR	8,739 ^{a1}	0,786 ^{a1}	0,015 ^{a1}

Médias seguidas por mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Scott-Knott ($\alpha = 0,05$).

A ausência de diferenças estatísticas, quando se compara os teores de compostos fenólicos entre as quatro procedências, reforça a idéia da importância dos fatores ambientais sobrepondo à influência genética. Os papéis que os ACGs desempenham na adaptação das plantas de erva-mate ao ambiente, suas implicações na qualidade de produtos comerciais e nas atividades biológicas devem ser melhor compreendidos em estudos posteriores.

Os teores de fenóis totais, ácidos clorogênico e cafeico das progênies de erva-mate estão apresentados na Tabela 6, quando considerada a localidade de cultivo. Diferenças significativas foram constatadas entre os teores de fenóis totais (Ivaí/PR < Rio Azul/PR < Guarapuava/PR). Ácido clorogênico apresentou maior produção nas progênies cultivadas em Rio Azul/PR e Guarapuava/PR e ácido cafeico apresentou maior produção em progênies cultivadas em Ivaí/PR e Guarapuava/PR.

Tabela 6. Teores médios de compostos fenólicos totais, ácido clorogênico e ácido cafeico de progênies de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) cultivadas em três localidades do Paraná. Valores expressos em %.

Localidade	Fenóis Totais	Ácido Clorogênico	Ácido Cafeico
Ivaí/PR	7,910 ^{a1}	0,756 ^{a1}	0,018 ^{a2}
Rio Azul/PR	8,743 ^{a2}	0,953 ^{a2}	0,010 ^{a1}
Guarapuava/PR	9,591 ^{a3}	0,911 ^{a2}	0,020 ^{a2}

Médias seguidas por mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Scott-Knott ($\alpha = 0,05$).

Faz-se necessário enfatizar, que ACGs são produtos do metabolismo dos fenilpropanóides e a presença destes está intimamente relacionada às respostas do vegetal às condições ambientais de estresse (Campa et al., 2003). Acumulação de fenilpropanóides em plantas ou suspensões de culturas de células vegetais, foram relacionadas com ataque de patógenos, deficiência de fósforo e tratamentos com pronase e peptidase (Camacho-Cristóbal et al., 2002). Têm sido relatados incrementos nos teores de ACGs nas folhas de tabaco, cultivadas sob deficiência de boro (Camacho Cristobal et al., 2004). À semelhança do que foi demonstrado para metilxantinas, é possível crer que o fator solo influencie também as diferenças encontradas nos teores de fenóis totais nas localidades de cultivo analisadas.

A quantificação de compostos fenólicos na erva-mate é recente, carece de informações sistemáticas e têm despertado atenção graças às atividades biológicas associada a estes compostos (Schinella et al., 2000; Gugliucci, 1996).

A importância destes compostos na qualidade das bebidas estimulantes já foi estudada no café (Bertrand e Noirot, 2003; Campa et al., 2003).

As progênies selecionadas neste trabalho estão incluídas num dos poucos programas de melhoramento da espécie, conduzidos no Brasil. O conhecimento dos teores dos compostos químicos avaliados neste trabalho, nas diferentes progênies, poderá ser útil no desenvolvimento de material genético com características químicas definidas. Outras espécies estimulantes como *Camelia*, *Coffea* e *Theobroma* já obtiveram avanços significativos nesta área.

4. Conclusões

Os métodos de extração de metilxantinas, baseados na extração ácida e na maceração hidroalcoólica na erva-mate, não diferiram estatisticamente na obtenção dos valores médios.

Diferenças significativas nos teores de metilxantinas, cafeína e de teobromina foram constatadas nas progênies de erva-mate, com relação à localidade de cultivo e à procedência.

Diferenças significativas nos teores de fenóis totais, ácido clorogênico e ácido cafeico foram observadas nas progênies, em relação à localidade de cultivo.

5. Referências Bibliográficas

Alikaridis, F. Natural constituents of *Ilex* species. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 20, p. 121-144, 1987.

Ashihara, H. Purine metabolism and the biosynthesis of caffeine in maté leaves. *Phytochemistry*, v. 33, p. 1427-1430, 1993.

Ashihara, H. & Crozier, A. Caffeine: a well known but little mentioned compound in plant science. *Trends in Plant Science*, v. 6, p. 407-413, 2001.

- Athayde, M.L.; Coelho, G.C.; Schenkel, E.P. Caffeine and theobromine in epicuticular wax of *Ilex paraguariensis* A. St. Hil. *Phytochemistry*, v. 55, p. 853-857, 2000.
- Bertrand, C. & Noirot, M., Chlorogenic acid content swap during fruit maturation in *Coffea pseudozanguebariae*. Qualitative comparison with leaves. *Plant Science (Oxford)*, v. 165, p. 1355-1361, 2003.
- Camacho-Cristóbal, J.J.; Anzellotti, D.; González-Fontes, A. Changes in phenolic metabolism of tobacco plants during short-term boron deficiency. *Plant Physiology and Biochemistry*, v. 40, p. 997–1002, 2002.
- Camacho Cristobal, J.J.; Lunar, L.; Lafont, F.; Baumert, A.; Gonzalez Fontes, A. Boron deficiency causes accumulation of chlorogenic acid and caffeoyl polyamine conjugates in tobacco leaves. *Journal of Plant Physiology*, v. 161, p. 879-881, 2004.
- Campa, C.; Noirot, M.; Bourgeois, M.; Pervent, M.; Ky, C.L.; Chrestin, H.; Hamon, S.; de Kochko, A. Genetic mapping of a caffeoyl-coenzyme A 3-O-methyltransferase gene in coffee trees. Impact on chlorogenic acid content. *Theoretical and Applied Genetics*, v. 107, p. 751-756, 2003.
- Clifford, M.N. & Ramirez-Martinez, J.R. Chlorogenic acids and purine alkaloids contents of mate (*Ilex paraguariensis*) leaf and beverage. *Food Chemistry*, v. 35, p. 13-21, 1990.
- Costa, A.F. *Farmacognosia*. II ed. Fundação Calouste Gulbenkian, pp. 652-659. Lisboa, 1982.
- Da Croce, D.M. The physical and chemical characteristics of tea (*Ilex paraguariensis* St Hil) in Santa Catarina state. *Ciencia Florestal*, v. 12, p. 107-113, 2002.
- De Maria, C.A.B. & Moreira, R.F.A. Analytical methods for chlorogenic acid. *Química Nova*, v. 27, p. 586-592, 2004.
- Esmelindro, A.A.; Girardi, J.S.; Mossi, A.; Jacques, R.A.; Dariva, C. Influence of agronomic variables on the composition of mate tea leaves (*Ilex paraguariensis*) extracts obtained from CO₂ extraction at 30°C and 175 bar. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 52, p. 1990-1995, 2004.

- Filip, R.; Lopez, P.; Giberti, G.; Coussio, J.; Ferraro G. Phenolic compounds in seven South American *Ilex* species. *Fitoterapia*, v. 72, p. 774-778, 2001.
- Gorzalczany, S.; Filip, R.; Alonso, M.R.; Miño, J.; Ferraro, G.E.; Acevedo, C. Choleric effect and intestinal propulsion of 'mate' (*Ilex paraguariensis*) and its substitutes or adulterants. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 75, p. 291-294, 2001.
- 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.
- IAPAR. Cartas Climáticas do Estado do Paraná. Acessado em 17/ago/2006: http://www.iapar.br/Sma/ Cartas_Climaticas / Classificacao_Climatica.htm. 2000.
- Instituto Adolfo Lutz. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz – Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos - O Instituto, v. 1, p. 190-192. São Paulo/SP, 1985.
- Kikatani, T.; Watanabe, Y.; Shibuya, T. Different effects of methylxanthines on central serotonergic postsynaptic neurons in a mouse behavioral model. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, v. 44, p. 457-461, 1993.
- Lorist, M.M. & Tops, M. Caffeine, fatigue and cognition. *Brain and Cognition*, v. 53, p. 82-94, 2003.
- Mazzafera, P. Mineral nutrition and caffeine content in coffee leaves. *Bragantia - Campinas*, v. 58, p. 387-391, 1999.
- Meyer, A. S.; Heinonen, M.; Frankel, E. N. Antioxidant interactions of catechin, cyanidin, caffeic acid, quercetin, and ellagic acid on human LDL oxidation. *Food Chemistry*, v. 61, p. 71-75, 1998.
- Ohnishi, M.; Morishita, H.; Iwahashi, H.; Toda S.; Shirataki, Y.; Kimura, M.; Kido R. Inhibitory effects of chlorogenic acids on linoleic acid peroxidation and haemolysis. *Phytochemistry*, v. 36, p. 579-583, 1994.
- 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 Chemistry Society, v.10, p. 443-446, 1999.
- Scherer, R.; Urfer, P.; Mayol, M.R.; Belingheri, L.D.; Marx, F.; Janssens, M.J.J. Inheritance studies of caffeine and theobromine content of Mate (*Ilex paraguariensis*) in Misiones, Argentina. Euphytica, v. 126, p. 203-210, 2002.
- Schinella, G.R.; Troiani, G.; Da´vila, V.; Buschiazzo, P.M. de; Tournier, H.A. Antioxidant effects of an aqueous extract of *Ilex paraguariensis*. Biochemical and Biophysical Research Communications, v. 269, p. 357–360, 2000.
- Suzuki, T.; Ashihara, H.; Waller, G.R. Purine and purine alkaloid metabolism in *Camellia* and *Coffea* plants. Phytochemistry, v. 31, p. 2575-2584, 1992.
- Vazquez, A. & Moyna, P. Studies on mate drinking. Journal of Ethnopharmacology, v. 18, p. 267-272, 1986.
- Venkatesan, S. & Ganapathy, M.N.K. Impact of nitrogen and potassium fertiliser application on quality of CTC teas. Food Chemistry, v. 84, p. 325-328, 2004.

CAPÍTULO III

Parâmetros genéticos dos teores de metilxantinas e compostos fenólicos em progênies de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) cultivadas em Ivaí/PR - Brasil.

Resumo

A erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) é cultivada comercialmente nos países do Cone Sul da América Latina, pela capacidade de produção de bebidas tônicas e estimulantes. Dentre os compostos químicos de interesse, destacam-se à presença de metilxantinas (cafeína, teobromina) e compostos fenólicos derivados do ácido clorogênico. A determinação dos parâmetros genéticos que regulam o controle genético destes compostos tem importância nos programas de melhoramento da erva-mate. Neste trabalho procedeu-se à determinação dos teores de cafeína, teobromina, ácido clorogênico e ácido cafeico por HPLC em cinquenta e uma progênies de erva-mate, oriundas de cinco procedências (Ivaí/PR, Barão de Cotegipe/RS, Quedas do Iguaçu/PR, Pinhão/PR e Cascavel/PR), cultivadas na região de Ivaí/PR - Brasil. Foram estimados os parâmetros genéticos através do software SELEGEN REML/BLUP. Ocorreram diferenças estatísticas nos teores de cafeína (0,248 a 1,663%) e de teobromina (0,106 a 0,807%). Diferenças significativas ocorreram entre as cinco procedências, com maior produção de cafeína nas progênies de Cascavel/PR > Quedas do Iguaçu/PR > Barão de Cotegipe/RS > Ivaí/PR > Pinhão/PR e maior teor de teobromina nas progênies de Pinhão/PR > Ivaí/PR > Cascavel/PR > Quedas do Iguaçu/PR > Barão de Cotegipe/RS. Foram encontrados valores de alta magnitude de herdabilidade e do coeficiente de variação genética aditiva de indivíduos para os teores de cafeína e de teobromina. Para ácidos fenólicos, os resultados obtidos mostraram diferenças entre progênies em relação ao teor de ácido clorogênico (1,365 a 2,281%) e ácido cafeico (0,027 a 0,037%), mas não para procedências. Quanto aos parâmetros genéticos, os valores estimados de herdabilidade e do coeficiente de variação genética aditiva de indivíduos encontrados, foram de média a baixa magnitude para ácido clorogênico e ácido cafeico.

Palavras-Chave: *Ilex paraguariensis*; erva-mate; fenóis totais; metilxantinas; parâmetros genéticos.

Abstract

Mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) is commercially cultivated in countries from southern cone of Latin America. Some biological properties are related with the presence of the methylxanthines (caffeine and theobromine) and phenolic compounds (chlorogenic and caffeic acids). The contents of caffeine, theobromine, chlorogenic and caffeic acids were determined in 51 progenies of mate, from five distinct origins (Ivaí/PR, Barão de Cotegipe/RS, Quedas do Iguaçu/PR, Pinhão/PR and Cascavel/PR), cultivated in the region of Ivaí/PR - Brazil. The chemical compounds were evaluated by High Performance Liquid Chromatography (HPLC). The results revealed statistical differences for caffeine and theobromine contents, being the minimum and maximum values found 0.248-1.663% and 0.106-0.807% respectively. Significant differences of these compounds were evidenced in the progenies of mate, with regard to the origin. Elevated values of heritability and of the coefficient of additive genetic variance were found. The results obtained shown two different groups of progenies in relation to chlorogenic acid content, where the data varied from 1.365 to 2.281% and from 0.027 to 0.037% for caffeic acid. By comparing the origins, no statistical difference has been observed for the two compounds. With respect to the genetic parameters, the heritability found was of 0.118 ± 0.111 for chlorogenic acid and 0.030 ± 0.056 for caffeic acid.

Key-words: *Ilex paraguariensis*; mate; total phenols; chlorogenic acid; caffeic acid; caffeine; theobromine.

1. Introdução

A erva-mate (*Ilex paraguariensis* St Hil.), pertencente à família *Aquifoliaceae*, ocorre naturalmente na Argentina, Brasil e Paraguai. Cerca de 80% da área de ocorrência natural, pertence ao Brasil, distribuindo-se entre os estados do Mato Grosso do Sul, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (Maccari Junior et al., 2000). Nesta região, a espécie apresenta considerável importância econômica e social.

Propriedades biológicas têm sido associadas a esta espécie como atividades antioxidante (Schinella et al., 2000; Gugliucci, 1996), eupéptica e colerética (Gorzalczany et al., 2001). Análises da composição química do gênero *Ilex*, que inclui cerca de 400 espécies nativas principalmente da Ásia e América do Sul, demonstraram a presença de fenóis e ácidos fenólicos, metilxantinas, aminoácidos e outros compostos nitrogenados, ácidos graxos, antocianinas, flavonóides, compostos terpênicos, alcanos e álcoois, carboidratos, vitaminas e carotenóides.

Mesmo se tratando de espécie economicamente importante, o melhoramento genético da erva-mate é relativamente recente, tendo iniciado nos anos 90 no Brasil pela EPAGRI, envolvendo a seleção de procedências e de indivíduos dentro de procedências (Da Croce et al., 1999) e pela EMBRAPA (Sturion e Resende, 1997). Estes programas têm enfatizado características silviculturais como adaptação, produção de massa verde, resistência a pragas e doenças, desfolhamento e tipo de ramificação ou arquitetura, como critérios passíveis de melhoramento (Sturion et al., 2003).

Atualmente, busca-se incluir no programa de melhoramento, desenvolvido pela EMBRAPA, características relacionadas à qualidade dos produtos derivados da erva-mate. Dentre elas, o teor de compostos químicos apresenta relevância por influenciar diretamente as características dos produtos comerciais e seus efeitos biológicos.

Dentre os principais grupos de interesse na composição química da erva-mate, pela concentração em que estão presentes no extrato e pelas atividades

biológicas que desempenham, estão as metilxantinas e os compostos fenólicos. A principal metilxantina encontrada na erva-mate é a cafeína (0,89 a 1,73%), seguida da teobromina (0,26 a 0,88%) e de pequenas quantidades de teofilina (Clifford e Ramirez-Martinez, 1990; Maccari Junior, 2000). A biossíntese de cafeína, nas folhas de erva-mate, ocorre somente em tecidos novos, sendo as vias biossintéticas semelhantes àsquelas de plantas como o chazeiro e o café (Suzuki, Ashihara e Waller, 1992).

Além disso, tem sido amplamente aceito que a síntese a partir de nucleotídeos da adenina é a rota mais importante (Ashihara, 1993). A biossíntese ocorre via xantosina → 7-metilxantosina → 7-metilxantina → teobromina → cafeína embora outras vias menos importantes possam ocorrer (Ashihara e Crozier, 2001). As metilxantinas acumulam-se tanto intra-celularmente quanto na cera epicuticular das folhas de erva-mate (Athayde, Coelho e Schenkel, 2000) e seus teores têm sido relacionados com a variabilidade genética, a influência de variáveis ambientais, a época de colheita e o tipo de processamento.

Os teores de cafeína variam com a época do ano, sendo menores nos meses de setembro a dezembro (Da Croce, 2002). Diferenças nos conteúdos de cafeína e teobromina podem ocorrer em função da variedade. *I. paraguariensis* var. *paraguariensis* contém em média 0,65% de cafeína e 0,12% de teobromina enquanto *I. paraguariensis* var. *vestita* - variedade de erva-mate pubescente de pequena dispersão geográfica nativa do Brasil - contém 0,003% de cafeína e 0,22% de teobromina (Reginatto et al., 1999).

Conteúdos significativos de compostos fenólicos foram relatados em erva-mate (Alikaridis, 1987), com predomínio de derivados do ácido clorogênico (ACGs). Estes compõem uma família de ésteres mono e diacílicos do ácido quínico. Os resíduos acila mais comuns são o ácido cafeico (ACQ e di-ACQ), ácido ferúlico (AFQ) e ácido *p*-cumárico (Ap-CoQ). A erva-mate possui altas concentrações de derivados cafeoil, estando presentes além do ácido cafeico e do ácido clorogênico, três derivados di-cafeoilquínicos (Filip et al., 2001). Extratos de produtos comerciais obtidos com erva-mate verde revelaram elevado teor de ACGs, com predominância de 3-ACQ e 3,5-di-ACQ (Clifford e Ramirez-

Martinez, 1990). A presença de compostos fenólicos da família dos ACGs tem sido associada às propriedades biológicas e sensoriais da erva-mate, como as atividades colerética, antioxidante e hipocolesterolêmica (De Maria e Moreira, 2004).

Em relação ao melhoramento vegetal da erva-mate, as técnicas de avaliação genética devem envolver simultaneamente a predição de valores genéticos e a estimação de componentes de variância, sob modelos estatísticos em nível de indivíduos (Resende, 2002a). As estimativas dos parâmetros genéticos em espécies arbóreas são importantes para se obter informações sobre o tipo de ação dos genes em caracteres quantitativos, orientar sobre o esquema mais adequado de seleção a ser adotado e a estimativa do progresso esperado com a seleção (Robinson & Cockerham, 1965; Vencovsky, 1969). Segundo Kageyama (1980), tais estimativas são de particular interesse para o melhoramento de espécies florestais devido à grande responsabilidade da seleção, à dificuldade de realizar a mesma em curto prazo e ao desconhecimento da resposta à seleção praticada para as várias características de uma árvore.

Para determinar parâmetros de interesse ao melhoramento se faz necessário conhecer, primeiramente, a variância total e os seus desdobramentos. Valores estes que permitem o conhecimento da estrutura genética do material vegetal em estudo. As diferenças genéticas existentes entre os indivíduos podem ser exploradas para o melhoramento de uma característica. A variância genética aditiva é o componente mais importante da variância, pois é a principal causa de semelhança entre parentes, e determinante das propriedades genéticas da população e da resposta da população à seleção.

Na erva-mate, a seleção propriamente dita, pode se basear nos valores genéticos aditivos, quando o objetivo é a multiplicação via propagação sexuada dos indivíduos selecionados (Sturion et al., 2003). O controle genético de uma determinada característica pode ser avaliado pela herdabilidade, que corresponde à proporção da variabilidade total que é de natureza genética, ou ao quociente entre a variância genética e a variância total (Falconer, 1987). A herdabilidade no

sentido restrito é importante para a estratégia de propagação sexuada, e permite estimar as possibilidades de ganho para determinada característica.

A determinação de parâmetros genéticos de compostos químicos ganha importância nas espécies vegetais cujos produtos explorados baseiam sua qualidade na presença destes compostos. Neste sentido, espécies estimulantes amplamente comercializadas como café (*Coffea arabica* e *C. canephora*) e chá (*Camellia sinensis*) apresentam estudos da influência genética sobre estes parâmetros químicos. A herdabilidade no sentido restrito (h^2_{ns}) foi estimada como alta para conteúdo de cafeína e intermediária para ácido clorogênico em *Coffea canephora* (Montagnon et al., 1998).

Além destes, outros compostos importantes na influência sobre a qualidade de produtos comerciais obtidos desta espécie foram avaliados, como material graxo, sacarose e trigonelina. Sabe-se que estes compostos desempenham importante papel nas características sensoriais de bebidas obtidas a partir de espécies de *Coffea*. As relações existentes na herança do conteúdo de ácido clorogênico num cruzamento interespecífico de *Coffea pseudozanguebariae* e *Coffea liberica* foi avaliado por Ky et al. (1999), bem como suas conseqüências para a melhoria da qualidade de bebidas e para resistência às doenças.

No caso da erva-mate, o melhoramento tem centrado esforços na produção de biomassa foliar. Neste sentido, Sturion et al. (2003), utilizando o mesmo teste combinado de procedência e progênie de meios-irmãos cultivado em Ivaí/PR, utilizado na elaboração deste trabalho, concluiu que as procedências de Barão de Cotegipe/RS, Quedas do Iguaçu/PR, Cascavel/PR e Ivaí/PR, foram as mais produtivas.

Em outro trabalho, desenvolvido no mesmo teste de procedência e progênie, Sturion et al. (2004) determinaram valores de herdabilidade das médias das famílias para teor de taninos, polifenóis e cafeína. Os valores de herdabilidade das médias de famílias foram de média a alta magnitude, indicando boas possibilidades de ganho genético por meio de seleção de progênies. Para erva-mate também foram realizadas análises de metilxantinas em progênies

cultivadas em Misiones – Argentina (Scherer et al. 2002) e do teor de saponinas (Scherer et al. 2003). De acordo com os valores de herdabilidade conseguidos nestes estudos, modificações obtidas nos conteúdos de cafeína e saponinas no material genético estudado poderiam ser facilmente conseguidas por meio de cruzamentos direcionados.

Considerando os aspectos relacionados à composição química e às estratégias de melhoramento da erva-mate, este trabalho teve como objetivo avaliar os teores de metilxantinas e compostos fenólicos presentes nas folhas de cinquenta e uma progênes, provenientes de cinco regiões brasileiras, cultivadas em Ivaí/PR - Brasil. Além disso, buscou-se estimar os parâmetros genéticos dos teores destes compostos químicos, como parte de uma estratégia de melhoramento da espécie levando em consideração os aspectos qualitativos.

2. Materiais e Métodos

Condução experimental

As amostras analisadas correspondem ao material genético proveniente de cinco procedências de erva-mate, plantadas em março de 1997 na região de Ivaí/PR, dentro de um teste combinado de procedência e progênie de meios-irmãos (Tabela 1). As procedências foram selecionadas entre as mais produtivas para massa foliar.

O experimento combinado de procedência e progênie está localizado no município de Ivaí/PR, sob a influência do tipo climático Cfb - clima subtropical úmido mesotérmico. A região apresenta verões quentes, e geadas pouco frequentes, com tendência de concentração das chuvas nos meses de verão, e sem estação seca definida. A média das temperaturas dos meses mais quentes é superior a 22°C e a dos meses mais frios é inferior a 18°C. Temperatura média anual entre 17°C e 18°C, precipitação média anual em torno dos 1.500 mm e excedente hídrico variando de 500 a 800 mm (IAPAR, 2000).

O teste está instalado em solo da classe latossolo bruno distrófico, textura muito argilosa, fase relevo suave ondulado, segundo EMBRAPA (1999).

Estes solos caracterizam-se por serem profundos e acentuadamente drenados, porosos, muito argilosos (72% de argila) e de coloração bruno avermelhada-escuro. Quimicamente, são ácidos com saturação de bases baixa e saturação com alumínio elevada. Ocorrem em relevo suave ondulado, com declives em torno de 4% e em altitudes variando de 650 a 750 metros, originários de rochas sedimentares do tipo argilito.

Tabela 1. Localização geográfica das procedências e codificação de cinquenta e uma progênies de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) selecionadas para análise de parâmetros genéticos dos teores de metilxantinas e compostos fenólicos.

Procedências	Código das Progênies	Coordenadas		
		Lat. (S)	Long. (O)	Alt. (m)
Ivaí/PR	1; 3; 4; 5; 7; 8;	25°01'	50°48'	600
	10; 11; 15; 21; 25.			
Barão de Cotegipe/RS	51; 53; 57; 58; 59;	27°38'	52°23'	530
	61; 65; 68; 69; 70.			
Quedas do Iguaçu/PR	80; 81; 84; 86; 87;	25°25'	52°55'	590
	88; 91; 92; 93; 100.			
Pinhão/PR	101; 102; 104;	25°41'	51°40'	1.050
	105; 106; 107;			
Cascavel/PR	110; 121; 122; 125.	24°57'	53°27'	750
	151; 152; 155;			
	157; 159; 162;			
	163; 164; 165; 171.			

O delineamento experimental empregado foi o de blocos ao acaso, com dez repetições de parcelas lineares e seis plantas por parcela. As progênies foram aleatorizadas independentemente das procedências, ou seja, não se adotou o arranjo hierárquico de progênies dentro de procedência. O espaçamento adotado foi de 3 m x 2 m. A poda de formação foi efetuada por volta de dois anos de idade (jul/1999). Foram executadas duas podas de produção em jul/2001 e

ago/2003. As podas para obtenção das amostras foram efetuadas com folhas de um ano (ago/2004), um ano e meio (nov/2004) e dois anos (jun/2005) respectivamente. Para as análises foram selecionadas 10 progênies (11 progênies em Ivaí/PR) com maior produção de massa foliar, oriundas das procedências mais produtivas. Cerca de 100 g de folhas foram coletadas do terço mediano da planta e enviadas para processamento e análise.

Após a coleta, cada amostra foi submersa em água fervente por 10 segundos. A seguir, foram retiradas as sujidades e separadas as folhas verdes e sem manchas. As folhas foram secas em estufa com circulação de ar a 45°C por 48 horas. Posteriormente, as folhas foram moídas, acondicionadas em embalagens de papel, envoltas em embalagem plástica e armazenadas em geladeira.

Quantificação de compostos químicos

Amostras de 1,0g foram maceradas com metanol-água (70:30), sendo o volume final completado para 50 ml. A quantificação dos ácidos clorogênico e cafeico foi efetuada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (Filip et al., 2001). O cromatógrafo (Shimadzu Mod. SCL-10A) foi equipado com injetor (SIL-10AF), bomba (LC-10 AT), misturador (FCV-10AL), degaseificador (DGU-14A) e forno (CTO-10AS). Para a separação cromatográfica utilizou-se coluna C18 (Supelcosil LC-18 - 4,6 x 250 mm, 5 µm). A fase móvel empregada foi um gradiente de (A): água acidificada com 0,3% de ácido acético e (B): metanol. Gradiente: 15% B para 20% B, 20 min; 20% B para 85% B, 5 min; 85% B 5 min.

Os solventes utilizados foram da marca J. T. Backer e Merck. O fluxo utilizado foi de 1,0 mL/min na temperatura constante de 30°C. A detecção foi conduzida a 265 nm para cafeína e teobromina, e 325 nm para ácido clorogênico e cafeico, num detector ultravioleta UV-Vis (SPD-10A). As amostras foram injetadas em duplicata e as áreas dos picos foram comparadas com padrões de cafeína, teobromina, ácido clorogênico e ácido cafeico (Sigma Chemical Co, USA).

Curvas de calibração foram obtidas com os citados padrões após serem diluídos na fase móvel. Após a injeção dos padrões as áreas dos respectivos picos foram avaliadas. A linearidade foi determinada por regressão e a precisão e acurácia foram determinadas pelo coeficiente de variação ($CV < 3\%$). Os coeficientes de correlação obtidos foram $r^2 = 0,9999$ para cafeína, $r^2 = 0,9976$ para teobromina, $r^2 = 0,9997$ para ácido clorogênico e $r^2 = 0,9995$ para o ácido cafeico.

Análise estatística

Todas as análises foram realizadas em duplicata e os resultados expressos em porcentagem sobre a matéria seca. Os parâmetros estatísticos foram obtidos com o auxílio do programa estatístico SISVAR versão 4.3, utilizando-se “Análise Conjunta em Blocos ao Acaso”, aplicando-se o teste de agrupamento Scott-Knott a 5 % de significância.

Análise genética quantitativa

As estimativas dos parâmetros genéticos e fenotípicos foram efetuadas através do programa genético-estatístico SELEGEN-REML/BLUP desenvolvido por Resende (2002b). Utilizou-se o Modelo 5 do referido software que inclui experimentos realizados em blocos ao acaso, progênies de meios-irmãos, várias plantas por parcela, várias populações.

3. Resultados e Discussão

Os resultados dos teores médios de cafeína e teobromina das cinquenta e uma progênies analisadas estão mostrados na Tabela 2. Os valores representam a média da determinação de cada progênie nas três avaliações. Assim, pode-se dizer que os valores mínimos e máximos encontrados foram de 0,248-1,663% de cafeína e 0,106-0,807% de teobromina. A progênie 106 apresentou a menor concentração média de cafeína enquanto a progênie 11 demonstrou maior concentração deste composto. Para teobromina, a progênie 84 apresentou menor concentração e a progênie 121 apresentou o maior valor para teor deste

composto. A análise da variância de metilxantinas resultou em oito grupamentos distintos para cafeína, e sete grupamentos para teobromina, quando se comparou as cinquenta e uma progênes de erva-mate pelo teste de Scott-Knott.

Tabela 2. Teores médios de cafeína e teobromina de cinquenta e uma progênes de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) cultivadas em Ivaí/PR. Valores expressos em %.

Progênie	Cafeína	Teobromina	Progênie	Cafeína	Teobromina
106	0,248 ^{a1}	0,764 ^{a7}	125	1,187 ^{a5}	0,178 ^{a1}
101	0,280 ^{a1}	0,548 ^{a5}	163	1,201 ^{a5}	0,285 ^{a3}
8	0,373 ^{a2}	0,496 ^{a5}	81	1,243 ^{a6}	0,230 ^{a2}
105	0,398 ^{a2}	0,588 ^{a5}	100	1,270 ^{a6}	0,291 ^{a3}
25	0,406 ^{a2}	0,373 ^{a3}	59	1,275 ^{a6}	0,198 ^{a1}
102	0,476 ^{a2}	0,679 ^{a6}	157	1,283 ^{a6}	0,148 ^{a1}
121	0,477 ^{a2}	0,807 ^{a7}	164	1,289 ^{a6}	0,204 ^{a1}
15	0,490 ^{a2}	0,571 ^{a5}	165	1,309 ^{a6}	0,313 ^{a3}
110	0,679 ^{a3}	0,388 ^{a4}	162	1,317 ^{a6}	0,178 ^{a1}
107	0,697 ^{a3}	0,512 ^{a5}	84	1,330 ^{a6}	0,106 ^{a1}
10	0,745 ^{a3}	0,453 ^{a4}	87	1,332 ^{a6}	0,174 ^{a1}
104	0,793 ^{a3}	0,515 ^{a5}	53	1,333 ^{a6}	0,233 ^{a2}
57	0,952 ^{a4}	0,198 ^{a1}	86	1,341 ^{a6}	0,190 ^{a1}
4	0,967 ^{a4}	0,396 ^{a4}	88	1,346 ^{a6}	0,292 ^{a3}
5	0,989 ^{a4}	0,215 ^{a1}	122	1,351 ^{a6}	0,161 ^{a1}
68	1,033 ^{a4}	0,202 ^{a1}	61	1,355 ^{a6}	0,192 ^{a1}
51	1,037 ^{a4}	0,168 ^{a1}	93	1,355 ^{a6}	0,229 ^{a2}
21	1,041 ^{a4}	0,318 ^{a3}	171	1,371 ^{a6}	0,252 ^{a2}
152	1,068 ^{a4}	0,243 ^{a2}	155	1,371 ^{a6}	0,212 ^{a1}
7	1,074 ^{a4}	0,402 ^{a4}	58	1,419 ^{a7}	0,174 ^{a1}
3	1,097 ^{a5}	0,257 ^{a2}	159	1,454 ^{a7}	0,178 ^{a1}
91	1,123 ^{a5}	0,198 ^{a1}	92	1,467 ^{a7}	0,147 ^{a1}
65	1,130 ^{a5}	0,133 ^{a1}	151	1,467 ^{a7}	0,200 ^{a1}
69	1,139 ^{a5}	0,118 ^{a1}	70	1,468 ^{a7}	0,255 ^{a2}
1	1,174 ^{a5}	0,163 ^{a1}	11	1,663 ^{a8}	0,184 ^{a1}
80	1,175 ^{a5}	0,238 ^{a2}	m ± dp	1,076 ± 0,521	0,297 ± 0,243

Médias seguidas por mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Scott-Knott ($\alpha = 0,05$).

Ao defrontarem-se os teores destes dois compostos observou-se uma correlação inversa para os teores médios de cafeína e teobromina (Figura 1). Para estas duas variáveis o coeficiente de correlação determinado foi de -0,841.

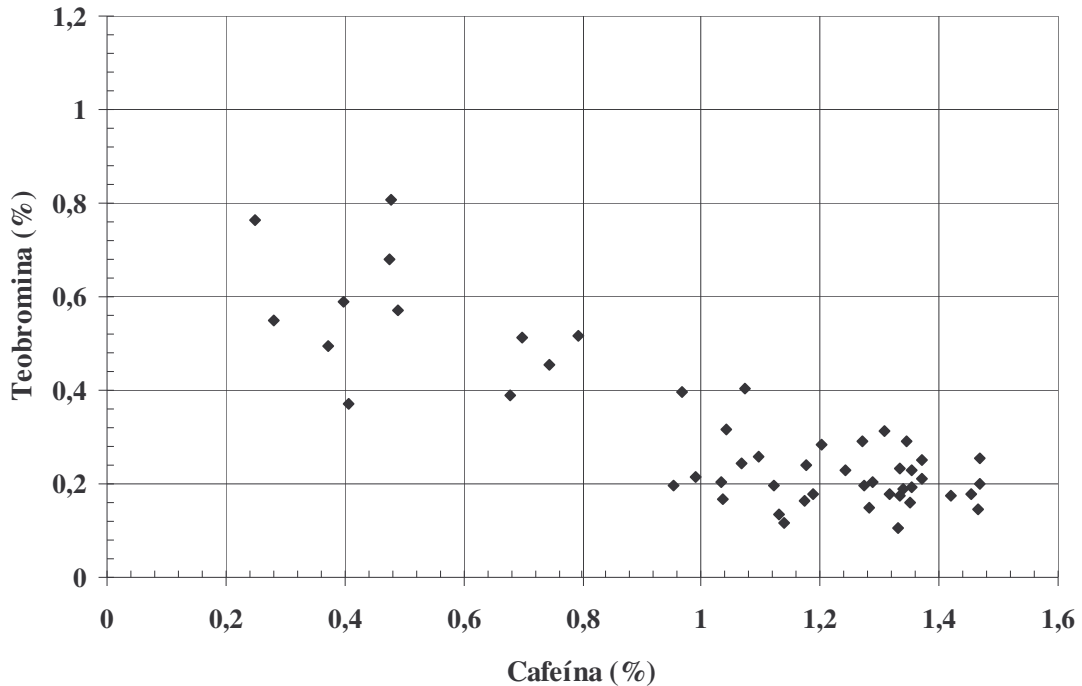


Figura 1. Correlação entre teores médios de teobromina e cafeína de cinquenta e uma progênes de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) cultivadas em Ivaí/PR.

Desta forma, pode-se dizer que para os teores encontrados para cafeína e teobromina nas progênes analisadas apresentam uma proporcionalidade inversa. Ou seja, com o aumento da concentração de cafeína nestas progênes, observa-se uma queda do teor de teobromina.

As análises dos teores de cafeína e teobromina em todas as progênes cultivadas em Ivaí/PR revelaram variabilidade que pode ser explorada nos programas de melhoramento genético da espécie. A presença de cafeína e teobromina como compostos responsáveis pelos efeitos estimulante e tônico da erva-mate demonstra que o teor destes compostos é um parâmetro fundamental para a seleção de progênes cultivadas para o desenvolvimento de produtos alternativos a partir da erva-mate. Progênes com valores extremos de cafeína e

teobromina podem ser utilizadas no programa de melhoramento para a obtenção de material com composição química pré-definida.

Observa-se também diferença significativa entre os teores de cafeína e teobromina nas cinco procedências analisadas. Os resultados obtidos estão demonstrados na Tabela 3, de onde se pode constatar que a procedência de Pinhão/PR apresentou menor teor de cafeína e maior de teobromina em relação às demais procedências. A procedência de Ivaí/PR diferiu estatisticamente das demais, apresentando teores intermediários de cafeína e teobromina.

Tabela 3. Teores de médios de cafeína e teobromina de progênies de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) oriundas de cinco procedências Valores expressos em %.

Procedências	Cafeína	Teobromina
Pinhão/PR	0,659 ^{a1}	0,514 ^{a4}
Ivaí/PR	0,911 ^{a2}	0,348 ^{a3}
Barão de Cotegipe/RS	1,214 ^{a3}	0,187 ^{a1}
Quedas do Iguaçu/PR	1,298 ^{a4}	0,209 ^{a2}
Cascavel/PR	1,313 ^{a4}	0,221 ^{a2}

Médias seguidas por mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Scott-Knott ($\alpha = 0,05$).

A procedência de Barão de Cotegipe/RS também apresentou teores elevados de cafeína e menores de teobromina, em relação às outras quatro procedências. Progênies de Cascavel/PR e Quedas do Iguaçu/PR apresentaram maiores teores de cafeína e teores intermediários de teobromina.

O desdobramento da variação total e a estimativa dos seus componentes, obtidos em um teste de progênie, possibilitam o conhecimento da estrutura genética do material em estudo, a contribuição da variação genética na variação total de cada característica, bem como o progresso na seleção em determinado método de melhoramento (Fonseca, 1979). Na variação de um caráter, os seguintes componentes podem ser considerados essenciais: *a*) diferenças ambientais dentro da parcela; *b*) diferenças genéticas entre plantas dentro de parcelas; *c*) diferenças ambientais entre parcelas e *d*) diferenças genéticas entre

progênies. Desses componentes, somente os relativos às diferenças genéticas podem ser favoráveis ao melhoramento. No conjunto, compõem a variação genética total do material (Vencovsky, 1978; Vencovsky & Barriga, 1992). A variância genética aditiva (V_a) é um dos mais importantes componentes da variância a serem determinados, e demonstra o potencial da população para o melhoramento da característica avaliada por propagação sexuada.

Os coeficientes de variação genética, fenotípica e experimental para as metilxantinas estão na Tabela 4. Os valores dos coeficientes de determinação dos efeitos de parcela (c^2_{parc}) foram baixos para cafeína. Os valores estiveram próximos ou abaixo de 10%, indicando que as variações ambientais entre as parcelas, principalmente no que se refere às características do solo, apresentaram pouca influência na composição da variabilidade total. Para teobromina houve uma maior manifestação das diferenças ambientais entre parcelas nos valores encontrados.

Tabela 4. Coeficientes de variação dos teores de cafeína e teobromina em progênies de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) cultivadas em Ivaí/PR.

Composto	Idade Foliar	c^2_{parc}	c^2_{proc}	CVgi	CVgp	CVe
Cafeína	12 meses	0,0909	0,2812	38,91	29,03	23,11
	18 meses	0,0454	0,3093	29,61	19,44	15,11
	24 meses	0,1305	0,2359	25,82	23,35	20,59
Teobromina	12 meses	0,1425	0,3712	68,05	46,77	47,03
	18 meses	0,0102	0,2381	37,33	18,66	15,38
	24 meses	0,2528	0,2020	41,18	31,30	40,03

c^2_{parc} = Coeficiente de Determinação dos Efeitos da Parcela; c^2_{proc} = Coeficiente de Determinação dos Efeitos da Procedência; CVgi = Coeficiente de Variação Genética Aditiva de Indivíduos; CVgp = Coeficiente de Variação Genética Aditiva de Progênies; CVe = Coeficiente de Variação Experimental.

O Coeficiente de Variação Genética Aditiva de Indivíduos (CVgi), expressa em porcentagem, a quantidade de variação genética existente para os teores dos compostos avaliados. Para cafeína os valores de CVgi permaneceram entre 25,82 e 38,91%, enquanto que para teobromina obteve-se valores de 37,33

a 68,05%, indicando que há boas possibilidades de ganho no melhoramento destas características. O coeficiente de variação genética Aditiva de Progênes (CVgp), por sua vez, expressa em porcentagem da média geral, a quantidade de variação genética existente entre as progênes.

Na Tabela 5 mostram-se os valores relacionados ao coeficiente de herdabilidade estimado para cafeína e teobromina. A herdabilidade corresponde à proporção da variabilidade total, que é de natureza genética. Nas espécies onde o melhoramento é efetuado a partir de propagação sexuada, o interesse é estimar a herdabilidade no sentido restrito (Sturion, 1993). Esta é obtida a partir da relação entre a variância genética aditiva e a variância fenotípica. Valores elevados de herdabilidade indicam que o controle genético é alto e que mudanças no ambiente influem pouco no fenótipo.

Para cafeína e teobromina as estimativas dos coeficientes de herdabilidade, no sentido restrito, foram de alta magnitude com pequeno desvio padrão, que se refere à precisão com que tais estimativas foram obtidas. Quanto menor o desvio padrão maior a confiabilidade dos valores obtidos; isto quer dizer que o valor real da herdabilidade está contido dentro de um menor intervalo de variação. Nos casos de alta herdabilidade, a variação genética representa a maior parte da variação fenotípica em relação à variação ambiental.

Tabela 5. Estimativas do coeficiente de herdabilidade no sentido restrito dos teores de cafeína e teobromina em progênes de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) cultivadas em Ivaí/PR.

Composto	h^2_a = herdabilidade individual		
	12 meses	18 meses	24 meses
Cafeína	0,65 ± 0,21	0,60 ± 0,22	0,55 ± 0,18
Teobromina	0,55 ± 0,20	0,64 ± 0,26	0,50 ± 0,18

Os valores elevados de herdabilidade para cafeína e para teobromina, demonstram que estas características apresentam alto controle genético nas condições avaliadas.

Valores elevados de herdabilidade para teor de cafeína também foram encontrados em progênies de erva-mate na região de Misiones/AR (Scherer, 2002). Os valores encontrados para a cafeína e teobromina, sugerem que esforços para a seleção de indivíduos, baseados nestas características são bastante promissores na erva-mate. Em outras espécies estimulantes também foram constatados valores elevados para herdabilidade no sentido restrito (Montagnon et al., 1998).

Tabela 6. Ordenamento de indivíduos a partir do valor genético predito do teor de teobromina para seleção de progênies de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) cultivadas em Ivaí/PR.

Ordem	Bloco	Família	Proc.	Árvore	f	a	$\mu+a$	Ganho	Nova Média
1	5	106	5	3	1,518	1,523	1,880	1,523	1,880
2	1	101	5	5	1,541	1,395	1,751	1,459	1,815
3	1	121	5	3	1,562	1,331	1,687	1,416	1,773
4	2	107	5	1	1,144	1,095	1,452	1,336	1,692
5	8	105	5	4	1,132	0,950	1,306	1,259	1,615
6	4	102	5	1	1,095	0,937	1,294	1,205	1,562
7	3	15	1	1	1,214	0,934	1,291	1,166	1,523
8	3	106	5	1	1,231	0,931	1,288	1,137	1,494
9	7	102	5	1	1,118	0,923	1,279	1,113	1,470
10	2	10	1	1	0,991	0,896	1,252	1,091	1,448
11	7	15	1	3	1,110	0,879	1,235	1,072	1,429
12	3	106	5	5	1,187	0,865	1,222	1,055	1,411
13	3	121	5	3	1,033	0,847	1,203	1,039	1,395
14	5	21	1	2	0,959	0,822	1,178	1,023	1,380
15	5	110	5	4	0,968	0,812	1,169	1,009	1,366
16	3	102	5	3	1,039	0,800	1,156	0,996	1,353
17	1	110	5	3	0,957	0,780	1,137	0,984	1,340
18	4	104	5	1	1,100	0,775	1,132	0,972	1,328
19	4	121	5	5	1,068	0,770	1,126	0,961	1,318
20	2	102	5	3	0,855	0,768	1,125	0,952	1,308

f = valor fenotípico individual, ou medição de campo (expresso em %.); a = efeito genético aditivo predito; $\mu + a$ = valor genético aditivo predito; Nova Média = valores expresso em %.

A seleção entre e dentro de progênies de meios-irmãos constitui-se num método de seleção intrapopulacional. Quando a recombinação dos melhores indivíduos é realizada, após a eliminação das plantas inferiores, o lote de

recombinação é denominado de Pomar de Sementes por Mudas. Na Tabela 6 encontra-se o ordenamento dos vinte indivíduos com maior teor de teobromina.

Levando em consideração estas informações, é possível obter o ordenamento, a partir do valor genético dos indivíduos com melhores resultados, com o objetivo de maximizar o teor dos compostos analisados. O ganho genético com a seleção, em porcentagem sobre a média da característica selecionada, é função da intensidade de seleção, do coeficiente de variação fenotípica e da herdabilidade.

Tabela 7. Ordenamento de indivíduos a partir do valor genético predito do teor de cafeína para seleção de progênies de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) cultivadas em Ivaí/PR.

Ordem	Bloco	Familia	Proc.	Árvore	f	a	$\mu+a$	Ganho	Nova Média
1	9	11	1	6	3,156	2,300	3,344	2,300	3,344
2	3	171	7	3	2,561	2,040	3,084	2,170	3,214
3	7	25	1	1	2,258	1,821	2,865	2,054	3,098
4	7	3	1	4	2,085	1,507	2,551	1,917	2,961
5	2	1	1	4	2,110	1,473	2,517	1,828	2,872
6	1	159	7	1	1,997	1,422	2,466	1,760	2,804
7	1	5	1	1	1,738	1,412	2,456	1,711	2,755
8	6	110	5	1	1,898	1,389	2,433	1,670	2,714
9	1	53	3	6	1,978	1,346	2,390	1,634	2,678
10	9	61	3	5	2,152	1,309	2,353	1,602	2,646
11	7	88	4	3	2,059	1,299	2,343	1,574	2,618
12	1	88	4	3	1,694	1,266	2,310	1,549	2,593
13	5	61	3	6	2,132	1,265	2,309	1,527	2,571
14	1	171	7	6	1,849	1,261	2,305	1,508	2,552
15	1	87	4	4	1,749	1,226	2,270	1,489	2,533
16	7	57	3	1	2,103	1,218	2,262	1,472	2,516
17	5	91	4	1	2,084	1,216	2,260	1,457	2,501
18	7	11	1	6	2,246	1,213	2,257	1,443	2,487
19	1	65	3	3	1,656	1,206	2,250	1,431	2,475
20	4	11	1	1	2,148	1,196	2,240	1,419	2,463

f = valor fenotípico individual, ou medição de campo (expresso em %.); a = efeito genético aditivo predito; $\mu + a$ = valor genético aditivo predito; Nova Média = valores expresso em %.

A utilização de indivíduos com maiores valores genéticos no programa de melhoramento da espécie, poderá propiciar ganhos significativos para os

teores de cafeína e teobromina como pode ser observado na Tabela 6, para teobromina e na Tabela 7, para cafeína.

A média geral de todos os indivíduos analisados para o teor de teobromina é de 0,297%. Com a seleção dos vinte indivíduos constantes da Tabela 6 e sua recombinação, a média do teor de teobromina esperada na nova população é de 1,308%. Para o teor de cafeína, a média entre todos os indivíduos avaliados é de 1,076%. Com a seleção e recombinação das vinte árvores constantes da Tabela 7, a nova média esperada é de 2,463%.

Na Tabela 8, estão sumarizados os teores médios de ácido clorogênico e ácido cafeico de todas as progênies de erva-mate cultivadas em Ivaí/PR. O menor teor de ácido clorogênico foi detectado na progênie 4, com valor médio de 1,365%, enquanto se alcançou o maior teor na progênie 102, com 2,281% do composto. Para o ácido cafeico foram observados teores que variaram de 0,027% a 0,037% nas progênies. Neste caso, pode-se dizer que existe uma variação estatisticamente significativa para o teor de ácido clorogênico e ácido cafeico. Para o teor de ácido clorogênico observou-se a formação de dois grupos distintos pelo teste de agrupamento de Scott-Knott. Para o ácido cafeico observou-se a formação de três grupos distintos.

Os teores de ácido clorogênico observados neste trabalho mostraram-se próximos daqueles descritos por Filip et al. (2001). Entretanto, os valores encontrados para ácido cafeico estão acima dos teores expostos pelos mesmos autores. Tanto o ácido clorogênico quanto o ácido cafeico são compostos presentes em menores concentrações na erva-mate (Clifford e Ramirez-Martinez, 1990; Filip et al., 2001). Nesta espécie predominam derivados di-cafeoilquínicos como o 3,4-DCQ, 3,5-DCQ e 4,5-DCQ.

Observa-se uma menor variabilidade no teor dos dois ácidos fenólicos do que para as metilxantinas, como discutido anteriormente. A quantificação sistemática de compostos fenólicos na erva-mate é recente, contribuindo para esta carência, as dificuldades analíticas e a falta de padrões comerciais de derivados ACGs presentes em maiores concentrações na erva-mate. A presença

de compostos fenólicos tem despertado atenção graças às atividades biológicas a eles associadas (Gugliucci, 1996; Schinella et al., 2000).

Tabela 8. Teores médios de ácido clorogênico e ácido cafeico de cinquenta e uma progênies de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) cultivadas em Ivaí/PR. Valores expressos em %.

Progênies	Ácido Clorogênico	Ácido Cafeico	Progênies	Ácido Clorogênico	Ácido Cafeico
4	1,365 ^{a1}	0,030 ^{a1}	104	1,809 ^{a2}	0,032 ^{a2}
59	1,370 ^{a1}	0,027 ^{a1}	21	1,809 ^{a2}	0,029 ^{a1}
3	1,536 ^{a1}	0,028 ^{a1}	93	1,816 ^{a2}	0,029 ^{a1}
157	1,539 ^{a1}	0,028 ^{a1}	162	1,825 ^{a2}	0,029 ^{a1}
1	1,567 ^{a1}	0,037 ^{a3}	121	1,828 ^{a2}	0,027 ^{a1}
68	1,584 ^{a1}	0,030 ^{a1}	15	1,837 ^{a2}	0,027 ^{a1}
91	1,585 ^{a1}	0,032 ^{a1}	58	1,862 ^{a2}	0,037 ^{a3}
25	1,587 ^{a1}	0,028 ^{a1}	155	1,864 ^{a2}	0,032 ^{a2}
165	1,613 ^{a1}	0,032 ^{a2}	80	1,870 ^{a2}	0,032 ^{a2}
122	1,613 ^{a1}	0,030 ^{a1}	164	1,876 ^{a2}	0,031 ^{a1}
88	1,626 ^{a1}	0,031 ^{a1}	87	1,903 ^{a2}	0,032 ^{a2}
69	1,631 ^{a1}	0,034 ^{a2}	163	1,914 ^{a2}	0,030 ^{a1}
61	1,650 ^{a1}	0,036 ^{a3}	110	1,918 ^{a2}	0,028 ^{a1}
151	1,656 ^{a1}	0,030 ^{a1}	101	1,934 ^{a2}	0,030 ^{a1}
100	1,666 ^{a1}	0,032 ^{a2}	8	1,936 ^{a2}	0,032 ^{a2}
70	1,691 ^{a1}	0,032 ^{a2}	84	1,941 ^{a2}	0,037 ^{a3}
106	1,692 ^{a1}	0,029 ^{a1}	152	1,943 ^{a2}	0,030 ^{a1}
92	1,722 ^{a1}	0,029 ^{a1}	107	1,946 ^{a2}	0,029 ^{a1}
11	1,735 ^{a1}	0,036 ^{a3}	51	1,962 ^{a2}	0,034 ^{a2}
159	1,737 ^{a1}	0,028 ^{a1}	81	2,003 ^{a2}	0,032 ^{a2}
86	1,746 ^{a1}	0,032 ^{a2}	5	2,036 ^{a2}	0,028 ^{a1}
10	1,765 ^{a1}	0,028 ^{a1}	57	2,036 ^{a2}	0,030 ^{a1}
125	1,775 ^{a2}	0,037 ^{a3}	65	2,047 ^{a2}	0,030 ^{a1}
7	1,793 ^{a2}	0,031 ^{a1}	105	2,253 ^{a2}	0,029 ^{a1}
171	1,793 ^{a2}	0,033 ^{a2}	102	2,281 ^{a2}	0,029 ^{a1}
53	1,802 ^{a2}	0,029 ^{a1}			
			Média ± d.p.	1,790 ± 0,84	0,031 ± 0,028

Médias seguidas por mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Scott-Knott ($\alpha = 0,05$).

Os teores dos ácidos clorogênico e cafeico das cinco procedências de erva-mate, estão sumarizados na Tabela 9. O teor de ácido clorogênico da

procedência de Pinhão/PR apresentou valores maiores que aqueles de outras procedências.

Tabela 9. Teores médios de ácido clorogênico e ácido cafeico de progênes de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) oriundas de cinco procedências. Valores expressos em %.

Procedências	Ácido Clorogênico		Ácido Cafeico	
Ivaí/PR	1,724	a ¹	0,0304	a ¹
Barão de Cotegipe/RS	1,764	a ¹	0,0319	a ²
Cascavel/PR	1,776	a ¹	0,0303	a ¹
Quedas do Iguaçu/PR	1,788	a ¹	0,0318	a ²
Pinhão/PR	1,905	a ²	0,0300	a ¹

Médias seguidas por mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Scott-Knott ($\alpha = 0,05$).

Os coeficientes de variação genética, fenotípica e experimental para os compostos fenólicos avaliados, estão descritos na Tabela 10. Os valores dos coeficientes de determinação dos efeitos de parcela (c^2_{parc}) foram de média a alta magnitude para o ácido clorogênico e o ácido cafeico. Estes valores indicam que grande parte da variabilidade existente para estes compostos se deveu à variação ambiental entre parcelas.

Tabela 10. Coeficientes de variação dos teores de ácido clorogênico e ácido cafeico em progênes de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) cultivadas em Ivaí/PR.

Composto	Idade Foliar	c^2_{parc}	c^2_{proc}	CV _{gi}	CV _{gp}	CV _e
Ácido Clorogênico	12 meses	0,5208	0,0012	11,55	5,77	27,39
	18 meses	0,5146	0,0004	15,07	7,54	25,66
	24 meses	0,3764	0,0044	16,07	8,03	17,54
Ácido Cafeico	12 meses	0,3082	0,0005	2,18	1,09	3,03
	18 meses	0,4014	0,0003	32,38	16,19	43,25
	24 meses	0,5969	0,0057	19,64	9,82	75,58

c^2_{parc} = Coeficiente de Determinação dos Efeitos da Parcela; c^2_{proc} = Coeficiente de Determinação dos Efeitos da Procedência; CV_{gi} = Coeficiente de Variação Genética Aditiva de Indivíduos; CV_{gp} = Coeficiente de Variação Genética Aditiva de Progênes; CV_e = Coeficiente de Variação Experimental.

O Coeficiente de Variação Genética Aditiva de Indivíduos (CVgi) apresentou valores inferior aos de metilxantinas, permanecendo próximo de 15% para ácido clorogênico, e próximo de 30% para o ácido cafeico. O Coeficiente de Variação Genética Aditiva de Progênes (CVgp) também apresentou valores inferiores aos obtidos para metilxantinas.

Na Tabela 11, estão descritas as estimativas de herdabilidade individual encontradas para os compostos fenólicos. A partir dos resultados obtidos nesta tabela, observou-se que tanto o ácido clorogênico, quanto o ácido cafeico apresentaram valores de média a baixa magnitude para o coeficiente de herdabilidade.

Tabela 11. Estimativas do coeficiente de herdabilidade no sentido restrito dos teores de ácido clorogênico e ácido cafeico em progênes de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) cultivadas em Ivaí/PR.

Composto	h^2a = herdabilidade individual		
	12 meses	18 meses	24 meses
Ácido Clorogênico	0,11 ± 0,10	0,20 ± 0,14	0,39 ± 0,20
Ácido Cafeico	0,21 ± 0,15	0,27 ± 0,17	0,04 ± 0,07

Estimativas do coeficiente de herdabilidade no sentido restrito para o ácido clorogênico foram obtidas por Montagnon et al. (1998) para *Coffea canephora* com valores de mesma magnitude aos encontrados neste trabalho. Os autores destacam a necessidade de maiores esforços para o melhoramento desta e de outras características relacionadas à concentração deste composto. Os autores também avaliaram correlações existentes entre o teor destes compostos e características fenotípicas, tema que não foi abordado no estudo atual.

O ordenamento dos indivíduos, a partir do seu valor genético para teores dos ácidos clorogênico e cafeico, também foram obtidos a partir da análise dos parâmetros genéticos das cinquenta e uma progênes de erva-mate. Os resultados podem ser observados na Tabela 12, para o ácido clorogênico, e Tabela 13, para

o ácido cafeico. Para o teor de ácido clorogênico, a média entre todos os indivíduos avaliados é de 1,790%. Com a seleção e recombinação das vinte árvores constantes da Tabela 12, a nova média esperada é de 1,961%. Para o teor de ácido cafeico, a média entre todos os indivíduos avaliados é de 0,031%. Com a seleção e recombinação das vinte árvores constantes da Tabela 13, a nova média esperada é de 0,034%.

Tabela 12. Ordenamento de indivíduos a partir do valor genético predito do teor de ácido clorogênico para seleção de progênies de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) cultivadas em Ivaí/PR.

Ordem	Bloco	Familia	Proc.	Árvore	f	a	$\mu+a$	Ganho	Nova Média
1	7	102	5	1	3,134	0,211	2,011	0,211	2,011
2	6	105	5	4	3,977	0,195	1,995	0,203	2,003
3	4	105	5	1	3,789	0,193	1,992	0,200	1,999
4	2	102	5	3	2,204	0,185	1,985	0,196	1,996
5	8	105	5	4	2,575	0,184	1,983	0,194	1,993
6	4	102	5	1	3,802	0,178	1,978	0,191	1,991
7	8	102	5	2	2,323	0,164	1,963	0,187	1,987
8	6	102	5	3	2,670	0,161	1,961	0,184	1,983
9	5	102	5	6	3,502	0,159	1,958	0,181	1,981
10	9	102	5	6	2,853	0,159	1,958	0,179	1,978
11	7	65	3	2	3,467	0,158	1,958	0,177	1,976
12	4	102	5	3	3,639	0,158	1,957	0,175	1,975
13	9	102	5	1	2,824	0,155	1,954	0,174	1,973
14	5	105	5	1	3,471	0,144	1,944	0,172	1,971
15	5	5	1	3	3,586	0,144	1,943	0,170	1,969
16	5	15	1	5	3,952	0,141	1,941	0,168	1,968
17	2	105	5	1	1,737	0,135	1,935	0,166	1,966
18	1	105	5	1	1,613	0,135	1,934	0,164	1,964
19	6	8	1	6	3,670	0,134	1,934	0,163	1,962
20	9	105	5	5	2,180	0,131	1,931	0,161	1,961

f = valor fenotípico individual, ou medição de campo (expresso em %.); a = efeito genético aditivo predito; $\mu + a$ = valor genético aditivo predito; Nova Média = valores expresso em %.

As progênies selecionadas neste trabalho estão incluídas em um dos poucos programas de melhoramento da espécie, conduzidos no Brasil. O conhecimento dos teores dos compostos químicos avaliados neste trabalho, nas

diferentes progênies, poderá ser útil no desenvolvimento de material genético com características químicas definidas, tanto no que se refere ao teor de metilxantinas, como dos compostos fenólicos analisados.

Tabela 13. Ordenamento de indivíduos a partir do valor genético predito do teor de ácido cafeico para seleção de progênies de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) cultivadas em Ivaí/PR.

Ordem	Bloco	Familia	Proc.	Árvore	f	a	$\mu+a$	Ganho	Nova Média
1	8	84	4	3	0,088	0,010	0,039	0,010	0,039
2	8	1	1	2	0,080	0,007	0,036	0,009	0,038
3	6	61	3	5	0,068	0,007	0,036	0,008	0,037
4	5	104	5	4	0,065	0,007	0,036	0,008	0,037
5	8	51	3	5	0,078	0,007	0,036	0,008	0,037
6	8	58	3	6	0,077	0,006	0,035	0,007	0,036
7	6	11	1	1	0,057	0,006	0,035	0,007	0,036
8	8	125	5	6	0,064	0,005	0,034	0,007	0,036
9	9	11	1	6	0,033	0,005	0,034	0,007	0,036
10	7	86	4	6	0,049	0,004	0,033	0,006	0,035
11	8	152	7	6	0,042	0,004	0,033	0,006	0,035
12	9	7	1	4	0,036	0,003	0,032	0,006	0,035
13	8	8	1	4	0,034	0,003	0,032	0,006	0,035
14	8	58	3	4	0,062	0,003	0,032	0,006	0,035
15	4	1	1	6	0,020	0,003	0,032	0,005	0,034
16	7	88	4	3	0,031	0,003	0,032	0,005	0,034
17	9	122	5	6	0,039	0,003	0,032	0,005	0,034
18	6	155	7	4	0,033	0,003	0,032	0,005	0,034
19	5	84	4	2	0,028	0,003	0,032	0,005	0,034
20	1	1	1	4	0,079	0,003	0,032	0,005	0,034

f = valor fenotípico individual, ou medição de campo (expresso em %.); a = efeito genético aditivo predito; $\mu + a$ = valor genético aditivo predito; Nova Média = valores expresso em %.

A partir dos resultados obtidos na análise da variabilidade e herdabilidade para metilxantinas (cafeína e teobromina) e compostos fenólicos (ácidos clorogênico e cafeico), é possível inferir, que ganhos apreciáveis para os teores de cafeína e de teobromina são possíveis de se obter, enquanto que o melhoramento direcionado para teores de ácido clorogênico e cafeico por sementes, para essa população estudada, torna-se pouco provável.

Na avaliação de compostos químicos de erva-mate destaca-se a quantificação de metilxantinas, compostos fenólicos e saponinas. O índice de saponinas apresentou valores de herdabilidade de alta magnitude em trabalho desenvolvido por Scherer et al. (2003), ($h_{2ns} = 0,59$ e $h_{2bs} = 0,86$) a partir de progênies cultivadas na Argentina. Os valores foram comparáveis aos da cafeína, encontrados pelos mesmos autores (Scherer et al. 2002). Estes resultados indicam a possibilidade de se elaborar estratégias de seleção, com o intuito de modificar o teor de saponinas em erva-mate da mesma forma que para cafeína e teobromina.

Trabalhos anteriores, que buscaram caracterizar a variabilidade de populações nativas de erva-mate, confirmam que a maior variabilidade genética encontra-se dentro das populações. Esta maior variabilidade intrapopulacional pode estar relacionada à característica reprodutiva da espécie (alógama), que permite intenso fluxo gênico entre populações (Wendt et al. 2003). Cansian et al. (2003) também determinaram que as variâncias intrapopulacionais foram maiores que as variâncias interpopulacionais na erva-mate.

Sturion et al. (2003) concluíram, a partir do teste de procedência e progênies instalado no município de Ivaí/PR, que ganhos genéticos de alta magnitude podem ser obtidos com a seleção de indivíduos com base em valores genéticos para peso de biomassa foliar. Para os teores de cafeína e de teobromina, ganhos consideráveis podem ser obtidos pela seleção de árvores no teste combinado de procedência e progênie e a sua transformação em pomar de sementes por mudas. Outra estratégia seria a clonagem dos melhores indivíduos e sua recombinação em um pomar de sementes clonal.

4. Conclusões

Houve diferenças significativas nos teores de cafeína e teobromina nas cinquenta e uma progênies de erva-mate e também nas cinco procedências analisadas;

Ocorreram diferenças significativas nos teores de ácido clorogênico nas progênies analisadas. Entretanto, as cinco procedências não demonstraram variação significativa nos teores de ácido clorogênico e ácido cafeico;

As estimativas de herdabilidade individual no sentido restrito no bloco e do coeficiente de variação genética aditiva foram elevadas para a cafeína e a teobromina, e de média a baixa magnitude para os ácidos clorogênico e cafeico;

No caso dos teores de cafeína e de teobromina, ganhos consideráveis podem ser obtidos pela seleção de árvores no teste combinado de procedência e progênie e a sua transformação em pomar de sementes por mudas. Outra estratégia seria a clonagem dos melhores indivíduos, recombinação-os em um pomar de sementes clonal.

5. Referências Bibliográficas

- Alikaridis, F. Natural constituents of *Ilex* species. *Journal of Ethnopharmacology*, v.20, p. 121-144, 1987.
- Ashihara, H. Purine metabolism and the biosynthesis of caffeine in mate leaves. *Phytochemistry*, v. 33, p. 1427-1430, 1993.
- Ashihara, H.; Crozier, A. Caffeine: a well known but little mentioned compound in plant science. *Trends in Plant Science* v. 6, p. 407-413, 2001.
- Athayde, M.L.; Coelho, G.C.; Schenkel, E.P. Caffeine and theobromine in epicuticular wax of *Ilex paraguariensis* A. St. Hil. *Phytochemistry*, v. 55, p. 853-857, 2000.
- Cansian, R.L.; Mossi, A.J.; Leontiev-Orlov, O.; Cechet, M.L.; Carvalho, A.Z.; Echeverrigaray, S. Diversidade genética de *Ilex paraguariensis* (St. Hil.) na área de distribuição da espécie no Brasil. In: Congresso Sul Americano da Erva-Mate, 3. Chapecó/SC: EPAGRI, 16-19, nov. 2003. Anais... 3.8.
- Clifford, M.N.; Ramirez-Martinez, J.R. Chlorogenic acids and purine alkaloids contents of mate (*Ilex paraguariensis*) leaf and beverage. *Food Chemistry*, v. 35, p. 13-21, 1990.
- Da Croce, D.M.; Higa, A.R.; Floss, P.A.. Escolha de fonte de sementes de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) para Santa Catarina. Florianópolis: EPAGRI, 1999. 81 p. EPAGRI, Boletim Técnico, 1999.
- Da Croce, D.M. The physical and chemical characteristics of tea (*Ilex paraguariensis* St Hil) in Santa Catarina state. *Ciência Florestal*, v. 12, p. 107-113, 2002.
- De Maria, C.A.B. & Moreira, R.F.A. Analytical methods for chlorogenic acid. *Química Nova*, v.27, p. 586-592, 2004.
- EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos (Rio de Janeiro, RJ). Sistema brasileiro de classificação de solos. Brasília: Embrapa. Produção de Informação; Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 412p, 1999.
- Falconer, D.S. Introdução à genética quantitativa. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 1987. 279 p.

- Filip, R.; López, P.; Giberti, G.; Coussio, J.; Ferraro, G. Phenolic compounds in seven South American *Ilex* species. *Fitoterapia*, v.72, p. 774-778, 2001.
- Fonseca, S.M. Estimacão e interpretao dos componentes da variao total em experimentos de melhoramento florestal. In: Curso Prticas Experimentais em Silvicultura (1979: Piracicaba). Piracicaba: IPEF, p.H1-H20, 1979.
- Gorzalczany, S., Filip, R., Alonso, M.R., Mio, J., Ferraro, G.E., Acevedo, C. Choleric effect and intestinal propulsion of ‘mate’ (*Ilex paraguariensis*) and its substitutes or adulterants. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 75, p. 291–294, 2001.
- 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.
- IAPAR. Cartas Climáticas do Estado do Paraná. Acessado em 17/ago/2006: http://www.iapar.br/Sma/ Cartas_Climaticas / Classificacao_Climatica.htm. 2000.
- Ky, C.L.; Louarn, J.; Guyot, B.; Charrier, A.; Hamon, S.; Noirot, M. Relations between and inheritance of chlorogenic acid contents in an interspecific cross between *Coffea pseudozanguebariae* and *Coffea liberica* var ‘dewevrei’. *Theoretical and Applied Genetics*, v. 98, p. 628-637, 1999.
- Maccari Junior, A., et al. Produtos alternativos e desenvolvimento da tecnologia industrial na cadeia produtiva da erva-mate. Curitiba: Câmara Setorial da Cadeia Produtiva da Erva-Mate do Paraná/MCT/CNPq/Projeto PADCT Erva-mate, n.1, 160p. 2000.
- Montagnon, C.; Guyot, B.; Cilas, C.; Leroy, T. Genetic parameters of several biochemical compounds from green coffee, *Coffea canephora*. *Plant Breeding*, v. 117, p. 576-578, 1998.
- 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 Chemistry Society*, v. 10, p. 443-446, 1999.

- Resende, M.D.V. Genética biométrica e estatística no melhoramento de plantas perenes. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 975 p, 2002a.
- Resende, M.D.V. Software SELEGEN - REML/BLUP. Colombo: Embrapa Florestas. (Embrapa Florestas - Documento, 77), 67 p, 2002b.
- Robinson, H.F. & Cockerham, C.C. Estimación y significado de los parâmetros genéticos. Fitotecnica Latino Americana, v.2, p.23-38, 1965.
- Scherer, R.; Urfer, P.; Mayol, M.R.; Belingheri, L.D.; Marx, F.; Janssens, M.J.J. Inheritance studies of caffeine and theobromine content of Mate (*Ilex paraguariensis*) in Misiones, Argentina. Euphytica, v. 126, p. 203-210, 2002.
- Scherer, R.; Urfer, P.; Mayol, M.R.; Marx ,F.; Schneider, E.; Janssens, M.J.J. Estudios de heredabilidad del contenido de saponinas de la yerba mate (*Ilex paraguariensis*) en Misiones, Argentina. In: Congresso Sul Americano da Erva-Mate, 3. Chapecó/SC: EPAGRI, 16-19, nov. 2003. Anais... 3.16.
- Schinella, G.R.; Troiani, G.; Da´vila, V.; Buschiazzo, P.M. de; Tournier, H.A. Antioxidant effects of an aqueous extract of *Ilex paraguariensis*. Biochemical and Biophysical Research Communications, v. 269, p. 357-360, 2000.
- Sturion, J.A.; Resende M.D.V. de; Neiverth, D.D.; Oliszeski, A. Avaliação genética em teste de progênie de erva-mate por meio do software SELEGEN – REML/BLUP. In: Congresso Sul Americano da Erva-Mate, 3. Chapecó/SC: EPAGRI, 16-19, nov. 2003. Anais... 3.10.
- Sturion, J.A. Variação genética de características de crescimento e de qualidade da madeira em progênies de *Eucalyptus viminalis* Labill. Curitiba/PR. (Tese de Doutorado). Setor de Ciências Agrárias, UFPR, 112 p, 1993.
- Sturion, J.A. & Resende, M.D.V. Programa de melhoramento genético da erva-mate no Centro Nacional de Pesquisa de Florestas da Embrapa. In: Congresso Sul Americano da Erva-Mate, 1. Reunião Técnica do Cone Sul sobre a Cultura da Erva-Mate, 2, Curitiba: EMBRAPA-CNPQ, 24-27, nov. 1997. Anais... p. 467.
- Sturion, J.A.; Correa, G.; Resende, M.D.V.; Cardozo Junior, E. L.; Donaduzzi, C.M. Controle Genético dos Teores de Polifenóis Totais, Taninos e Cafeína em

- Progênes de erva-mate cultivadas em três classes de solos. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento. Colombo: EMBRAPA, 2004.
- Suzuki, T.; Ashihara, H.; Waller, G.R. Purine and purine alkaloid metabolism in Camellia and Coffea plants. *Phytochemistry*, v. 31, p. 2575-2584, 1992.
- Vencovsky, R. Genética quantitativa. *In.*: Kerr, W.C. Coord. Melhoramento e Genética. São Paulo, Melhoramento, 1969, p.17-37.
- Vencovsky, R. Herança quantitativa. *In.*: Paterniani, E. Coord. Melhoramento do Milho no Brasil. Piracicaba, Fundação Cargill, 1978. p. 122-201.
- Vencovsky, R. & Barriga, P. Genética biométrica no fitomelhoramento. Ribeirão Preto: Revista Brasileira de Genética, 1992. 486 p.
- Wendt, S.N.; Sousa, V.A.; Quoirin, M.; Sturion, J.A.; Santos E.C.S. Caracterização genética de populações naturais de *Ilex paraguariensis* St. Hil. *In.*: In: Congresso Sul Americano da Erva-Mate, 3. Chapecó/SC: EPAGRI, 16-19, nov. 2003. Anais... 3.5.

CAPÍTULO IV

Extração de metilxantinas em erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) por dióxido de carbono supercrítico.

Resumo

A erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) é explorada pela capacidade de produzir bebidas tônicas e estimulantes, e apresenta grande potencial para outros usos pela diversidade de seus compostos químicos. Dentre os principais grupos de compostos presentes na erva-mate, citam-se as metilxantinas, com predominância de cafeína e teobromina. Na extração convencional destes compostos utilizam-se solventes orgânicos e como forma alternativa de obtenção de metilxantinas utiliza-se a extração por fluido supercrítico (EFSC). Esta se caracteriza pela obtenção de produtos de elevada qualidade, sem as inconveniências de resíduos de solventes e alterações nas propriedades do extrato, presentes na extração convencional. O objetivo deste trabalho foi quantificar cafeína e teobromina, presentes em amostras de dezesseis progênies de erva-mate, oriundas de quatro procedências (Ivaí/PR, Barão de Cotegipe/RS, Quedas do Iguaçu/PR e Cascavel/PR), e cultivadas em três localidades (Ivaí/PR, Rio Azul/PR e Guarapuava/PR) utilizando a extração por solventes convencionais e pela EFSC. As metilxantinas (cafeína e teobromina) foram quantificadas por espectrometria e HPLC, comparando-se com seus respectivos padrões. Os teores de cafeína nas progênies variaram de 10,49 a 98,38 mg.g⁻¹ e de teobromina variaram de 0,07 a 0,88 mg.g⁻¹ de extrato. Os teores médios de cafeína (27,468 a 54,430 mg/100g) e teobromina (0,271 a 0,381 mg/100g) obtidos no extrato foram maiores em progênies cultivadas em Guarapuava/PR > Ivaí/PR > Rio Azul/PR. Ao compararmos o rendimento da extração supercrítica com a extração convencional, os valores médios encontrados foram de 2,2 a 3,7% de cafeína e 0,11 a 0,26% de teobromina extraída. A EFSC usando o dióxido de carbono como solvente, aliada à análise por HPLC, mostrou-se eficiente na caracterização e quantificação das metilxantinas presentes na erva-mate.

Palavras-Chave: *Ilex paraguariensis*, metilxantinas, extração supercrítica.

Abstract

Mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) has a great use due the diversity of their chemical compositions. Among the main groups present in maté herb are included methylxanthines, predominantly caffeine and theobromine. For conventional quantification of these compounds, the extraction method most commonly applied uses organic solvents. As an alternative procedure, the extraction by supercritical fluid extraction by using CO₂ as solvent, may be applied. This procedure obtains high quality products, free of the solvents residues and without changes in the properties of the extract. The objective of this work was to analyze the content of methylxanthines of sixteen progenies from four Brazilian regions (Ivaí/PR, Barão de Cotegipe/RS, Quedas do Iguaçu/Pr and Cascavel/PR), and grown in three places in the state of Paraná (Ivaí/PR, Rio Azul/PR and Guarapuava/PR) by using the two methods cited above. Methylxanthines in the extracts of the dry leaves were quantified by HPLC and spectrometric methods. The average values of methylxanthines, referred to the caffeine and teobromina, were: 43.253 and 0.329 mg/100g in the progenies of Ivaí/PR; 27.468 and 0.271 mg/100g in the progenies of Rio Azul/PR and of 54.430 and 0.381 mg/100g in the progenies of Guarapuava/PR. By comparing the supercritical extraction with the conventional extraction of caffeine, the average values were of 3.7% to Ivaí/PR, 2.2% in Rio Azul/PR and 2.2% for Guarapuava/PR. The EFSC procedure applied here, in conjunction with HPLC, may be considered efficient in the characterization and quantification of the presence methylxanthines in the analyzed samples.

Key-words: *Ilex paraguariensis*, methylxanthines, supercritical extraction.

1. Introdução

A erva-mate é uma espécie sul-americana usada tradicionalmente como bebida estimulante pela população do Cone Sul da América do Sul. Esta espécie apresenta grande potencial de utilização, devido à diversidade de seus compostos químicos. Dentre os principais grupos de compostos citam-se metilxantinas, fenóis derivados do ácido clorogênico e saponinas triterpênicas entre outros (Alikaridis, 1987). Além do uso tradicional que se faz da erva mate destacam-se suas atividades biológicas como antioxidante (Gugliucci, 1996) e termogênica (Martinet et al., 1999), o que demonstra o potencial de uso desta planta como matéria prima para outros produtos.

Algumas das atividades biológicas da erva mate estão ligadas à presença das metilxantinas, à semelhança de outras espécies estimulantes como o café (*Coffea spp.*), guaraná (*Paullinia cupana*), noz de cola (*Cola acuminata*), cacau (*Theobroma cacao*) e chá (*Camellia sinensis*). A cafeína é a principal metilxantina encontrada na erva mate, seguida da teobromina e em menores quantidades a teofilina. Os teores destes compostos podem variar dependendo do material genético utilizado, das variáveis ambientais, das técnicas de cultivo e processamento e dos métodos extrativos utilizados para sua quantificação.

Atualmente, tem sido dada considerável importância às pesquisas que relacionam estas variáveis com os teores de compostos químicos, com o objetivo de obter materiais e tecnologias direcionadas para utilizações específicas desta espécie. Além disso, tem sido destacado o interesse de pesquisas correlacionando os teores dos compostos químicos com material genético conhecido, buscando estratégias de melhoramento a partir da composição química da planta.

A obtenção dos compostos químicos contidos no extrato da erva mate se efetua, geralmente, por meio da extração com solventes orgânicos. Em se tratando de pequenas amostras, a extração com solventes orgânicos possui alguns inconvenientes como, por exemplo, a alta temperatura envolvida no processo de extração que pode alterar as características dos compostos presentes na planta *in natura* (Esmelindro et al., 2002).

Neste sentido, a extração com fluido supercrítico (EFSC), mostra-se uma alternativa promissora para a obtenção de compostos químicos a partir do extrato da erva mate. A EFSC é uma tecnologia que vem sendo empregada, nas duas últimas décadas, para a obtenção de óleos essenciais, fragrâncias, aromas e extratos. Essa tecnologia caracteriza-se como um procedimento de obtenção de produtos de elevada qualidade, sem as inconveniências de resíduos de solventes e de alteração nas propriedades do extrato apresentadas nos processos de extração convencionais (Cardozo-Filho et al., 1999).

Saldaña et al. (2000) demonstraram a viabilidade de se extrair as metilxantinas presentes na erva-mate com o uso de EFSC. No trabalho, os autores concluíram que a solubilidade em sistemas binários CO₂/metilxantinas foram maiores do que os encontrados na extração das folhas de mate, demonstrando a dificuldade em prever extrações em complexos de produtos naturais utilizando-se dados binários. Outro ponto pertinente de discussão é de que a umidade residual contida em amostras de folhas *in natura* acelerou a remoção de cafeína, quando comparada com o produto comercial, utilizando-se as mesmas condições extrativas.

A extração de metilxantinas por fluido supercrítico foi relacionada com variáveis agronômicas por Esmelindro et al. (2004). Neste trabalho, os autores concluíram que houve influência positiva da intensidade da luz no local de cultivo e da idade das folhas sobre as características do extrato e sobre os teores dos compostos presentes. Tais compostos, presentes no extrato de erva-mate, e obtidos com CO₂ a altas pressões, foram caracterizados por Jacques et al. (2006), e identificados como cafeína e teobromina entre um total de cinquenta e um compostos analisados.

Com o objetivo de avaliar como os processos extrativos utilizando a EFSC influenciam na quantificação de compostos da erva-mate, buscou-se neste trabalho, comparar a quantificação de metilxantinas (cafeína e teobromina) de dezesseis progênies de erva mate, cultivadas em três localidades do estado do Paraná, extraídas em três processos distintos. Utilizou-se extração com água após

digestão ácida, maceração hidroalcoólica e por dióxido de carbono supercrítico (EFSC).

2. Materiais e Métodos

Condução experimental

As amostras foram coletadas de cultivo monitorado de plantas de erva mate, selecionadas entre dezesseis progênes com maior produção de massa foliar de um teste de progênes instalado com material genético comum nos municípios de Ivaí/PR (março de 1997), Rio Azul/PR (julho de 1997) e Guarapuava/PR (agosto de 1997). Os materiais avaliados eram constituídos de quatro progênes das procedências de Ivaí/PR, Barão de Cotegipe/RS, Quedas do Iguaçu/PR e Cascavel/PR, sendo quatro progênes de cada procedência. A identificação das progênes está sumarizada na Tabela 1.

Tabela 1. Localização geográfica das procedências e codificação de dezesseis progênes de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) cultivadas em três localidades do Paraná.

Procedências	Código das Progênes	Coordenadas		
		Lat. (S)	Long. (O)	Alt (m)
Ivaí/PR	01; 03; 05; 10	25°01'	50°48'	600
Barão de Cotegipe/RS	51; 59; 61; 65	27°38'	52°23'	530
Quedas do Iguaçu/PR	80; 81; 88; 100	25°25'	52°55'	590
Cascavel/PR	151; 155; 165; 171	24°57'	53°27'	750

O delineamento experimental empregado nos três locais foi o de blocos ao acaso, com seis plantas por parcela linear. Foram coletadas amostras de três blocos, constituídas de folhas e ramos com diâmetro inferior a 3 mm, provenientes de seis árvores por parcela. O material foi homogeneizado e uma amostra de 3 kg foi separada para processamento. As amostras foram submetidas,

individualmente, a um banho em água fervente por 10 segundos. Retiraram-se manualmente as folhas dos galhos, selecionando-se folhas com ausência de manchas e sujidades.

As folhas verdes foram levadas à estufa com circulação de ar a 45 °C por 48 horas. Depois de secas, as folhas foram moídas manualmente e peneiradas. As partículas que ficaram retidas na peneira Tyler tamanho 42 foram as selecionadas. Em seguida, as amostras foram armazenadas em embalagens de papel, sendo envolvidas por plástico e armazenadas em ambiente refrigerado. Estas amostras foram utilizadas na obtenção dos extratos da erva-mate, utilizando extração convencional via solvente orgânico e com dióxido de carbono supercrítico.

Extrações Convencionais

Utilizaram-se dois métodos extrativos convencionais para comparação. No primeiro método realizou-se uma extração aquosa, efetuada após digestão das amostras com ácido sulfúrico, seguida de partição com clorofórmio (Instituto Adolfo Lutz, 1985). Para a determinação de metilxantinas totais, a partir deste método extrativo convencional, utilizou-se metodologia analítica clássica baseada em espectrometria.

Na segunda metodologia extrativa avaliada, procedeu-se a maceração de 1,5 g de cada amostra, extraída com uma mistura etanol-água (70:30), sendo o volume final do extrato completado para 100 mL. Os compostos foram quantificados por cromatografia líquida de alta eficiência, como descrito adiante.

Extração Supercrítica

O experimento de extração supercrítica das metilxantinas foi realizado utilizando o equipamento esquematizado na Figura 1. Este equipamento consiste, basicamente, de um cilindro de CO₂, uma bomba de alta pressão, um vaso extrator, um transdutor de pressão e um banho termostático. O extrator foi preenchido com 20 g de amostra de erva-mate, previamente selecionada em peneira Tyler 42. Nas condições utilizadas de 20 °C e pressão de 150 bar, o CO₂ possui altas taxas de transferência de massa devido à baixa viscosidade, e elevados valores de difusividade, o que dá grande poder de penetração na matriz

sólida. Nessas condições, o fluido permaneceu em contato com a amostra de erva-mate por uma hora para posterior extração mantendo a vazão média de 1 mL/min durante uma hora.

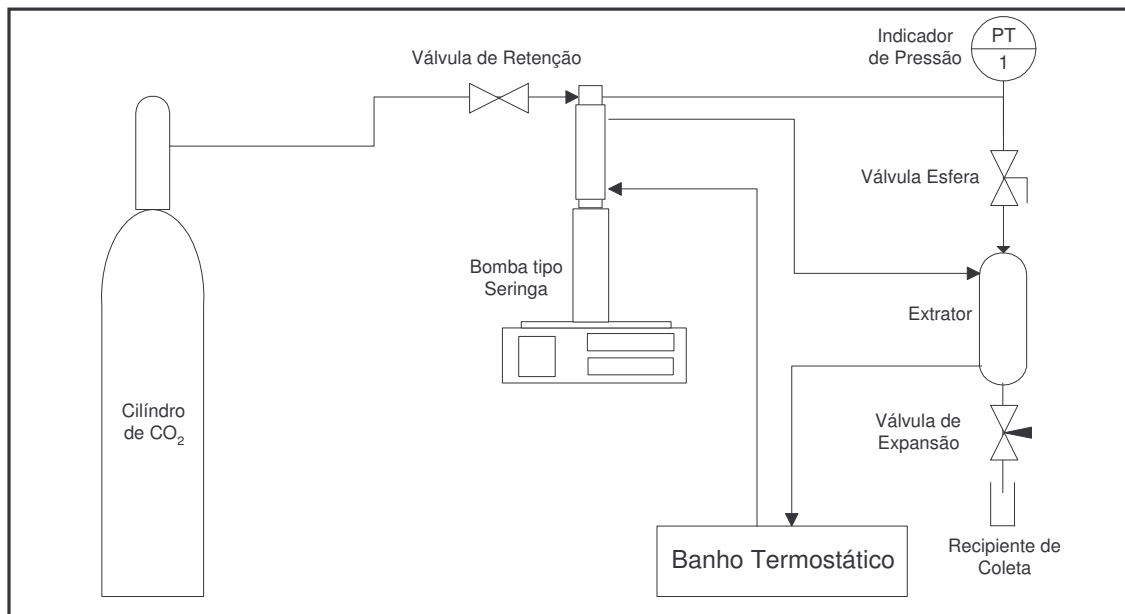


Figura 1. Diagrama esquemático do aparato experimental para extração por dióxido de carbono supercrítico.

Quantificação dos Compostos

A quantificação das metilxantinas totais extraídas por digestão foi realizada por espectrofotometria a 275 nm em espectrofotômetro FEMTO 700, utilizando-se padrão de cafeína (Synth) como referência segundo a metodologia clássica desenvolvida por Instituto Adolfo Lutz (1985).

As quantificações de cafeína e teobromina extraídas por maceração hidroalcoólica foram efetuadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (Filip et al., 2001). O cromatógrafo (Shimadzu Mod. SCL-10A) foi equipado com injetor (SIL-10AF), bomba (LC-10 AT), misturador (FCV-10AL), degaseificador (DGU-14A) e forno (CTO-10AS). Para a separação cromatográfica utilizou-se a coluna C₁₈ (Supelcosil LC-18 - 4,6 x 250 mm, 5 µm).

A fase móvel empregada foi um gradiente de (A): água acidificada com 0,3% de ácido acético e (B): metanol. Gradiente: 15% B para 20% B, 20 min; 20% B para 85% B, 5 min; 85% B 5 min. Os solventes utilizados foram da marca

J. T. Backer e Merck. O fluxo utilizado foi de 1,0 mL/min na temperatura constante de 30°C. A detecção foi conduzida a 265 nm num detector ultravioleta UV-Vis (SPD-10A). As amostras foram injetadas em triplicata e as áreas dos picos foram comparadas com padrões de cafeína e teobromina (Sigma Chemical Co, USA).

A quantificação de cafeína e teobromina, a partir do extrato supercrítico, foi realizada em aparelho HPLC - High Performance Liquid Chromatography – Mod CG 480-C, com detector UV-Vis Mod Jasco UV-970-975 a 280 nm e coluna C₁₈ (Supelcosil LC-18 - 4,6 x 250 mm, 5 µm). O solvente isocrático utilizado foi solução de 40% de metanol em água acidificada com 0,5% de ácido acético. O fluxo empregado foi de 1,0 mL/min. Utilizou-se cafeína e teobromina Synth como padrão.

Todas as análises foram realizadas em triplicata. Os resultados dos extratos convencionais foram expressos em g composto / 100 g matéria seca, e do extrato obtido por extração supercrítica em g composto / 100 g extrato. Para a análise estatística realizou-se a análise da variância e aplicou-se teste de média - Tukey com 5% de probabilidade.

3. Resultados e Discussão

A Figura 2 mostra os cromatogramas das amostras de extrato de erva-mate obtidas por dióxido de carbono supercrítico (Figura 2A) e por extração convencional (Figura 2B). Os teores de cafeína e teobromina foram avaliados a partir destes cromatogramas. Primeiramente foram comparados os teores médios de metilxantinas, extraídas de dezesseis progênes de erva-mate, cultivadas nas localidades de Ivaí/PR, Rio Azul/PR e Guarapuava/PR. Os teores médios foram obtidos a partir de duas metodologias de extração: a clássica, baseada na digestão ácida do material vegetal seguida de extração exaustiva destes compostos com água aquecida (Extração Aquosa), e a extração por maceração numa mistura etanol:água (70:30) à temperatura ambiente (Extração Hidroalcoólica).

No primeiro método, a detecção por espectrofotometria proporcionou apenas a quantificação de metilxantinas totais sem discriminação dos teores de cafeína ou teobromina, os dois principais compostos metilxantínicos da erva-mate. A extração hidroalcoólica seguida da quantificação por HPLC forneceu teores médios de cafeína e teobromina para todas as progênes analisadas (Tabela 2).

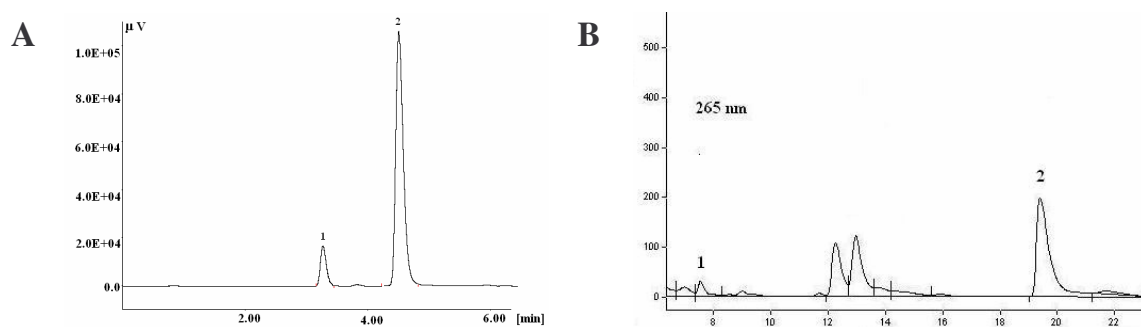


Figura 2. Cromatogramas dos extratos de erva-mate obtidos por CO₂ supercrítico (A) e maceração hidroalcoólica (B). Teobromina (1) e cafeína (2). Condições cromatográficas: Coluna: Supelcosil LC-18 (4,6 x 250 mm, 5 µm). Fluxo: 1,0 mL/min. (A) Fase Móvel: MeOH 40% em H₂O (AcOH-0,5%). Detecção: 280 nm. (B) Fase Móvel: Gradiente MeOH:H₂O (AcOH-0,3%). Temp: 30°C. Detecção: 265 nm.

A literatura especializada é abundante em trabalhos que analisam os teores de metilxantinas nas folhas e em produtos comerciais de erva-mate. Segundo Clifford & Ramirez-Martinez (1990) os valores de metilxantinas e compostos relacionados em produtos de erva-mate situam-se entre 1,42-2,68 % dependendo do tipo de produto avaliado. Da Croce (2002), avaliando os teores de metilxantinas nas folhas de erva-mate pelo período de um ano, detectou teores médios entre 0,35-1,0%, dependendo do período de coleta.

Trabalhos mais recentes especificam os valores de cafeína, teobromina e teofilina pela possibilidade de detectar estes compostos após separação cromatográfica. A avaliação dos teores de cafeína e teobromina em diferentes espécies de *Ilex*, resultaram em valores de 0,65% de cafeína e 0,12% de teobromina para *Ilex paraguariensis* (Reginato et al., 1999). Como pôde ser notado nos capítulos descritos anteriormente, o ambiente e a procedência do

material genético são fatores primordiais que influenciam os teores destes compostos químicos. Além de avaliar estes fatores, procurou-se neste trabalho avaliar métodos extrativos e a capacidade de extrair exaustivamente a cafeína e a teobromina de folhas de erva-mate previamente processadas.

Tabela 2. Teores médios de metilxantinas em progênies de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) cultivadas em três localidades do estado do Paraná obtidas por dois métodos de extração. Valores expressos em %.

Localidade	Extração Aquosa		Extração Hidroalcoólica	
	Metilxantinas	Cafeína	Teobromina	Total
Rio Azul / PR	0,574 ^a	0,419	0,091	0,511 ^a
Ivaí / PR	0,678 ^a	0,562	0,094	0,656 ^a
Guarapuava/PR	0,742 ^a	0,698	0,111	0,803 ^a
Média	0,666 ± 0,207 ^a			0,657 ± 0,236 ^a

Valores com mesma notação na linha não diferem pelo Teste de Tukey a 5%.

A média dos teores de metilxantinas, obtidas por extração aquosa e detectada por espectrometria, comparada com a média da soma de cafeína e teobromina, obtidas por extração hidroalcoólica não apresentaram diferença estatística (Tabela 2). Também, na comparação estes teores nas três localidades, não ocorreram diferenças significativas. Os resultados encontrados permitem concluir que os dois processos extrativos foram eficientes em retirar exaustivamente as duas principais metilxantinas presentes nas folhas de erva-mate. Os valores estão em conformidade com a literatura e demonstram variações em relação à localidade, como discutido nos capítulos anteriores.

Nas análises e processos fitoquímicos são utilizados diversos métodos extrativos como as extrações sólido-líquido e líquido-líquido, entre outros. Além dos métodos convencionais, a extração com fluído supercrítico se destaca, por ser uma técnica eficiente e seletiva de separação em que o solvente apresenta condições únicas, favorecendo a retirada de compostos da matriz sólida.

A utilização de extração supercrítica com CO₂, para extrair compostos químicos da erva-mate, foi utilizada por Saldaña et al. (2000), Esmelindro et al.

(2004); Esmelindro et al. (2005) e Jacques et al. (2006), com resultados promissores. Estes autores compararam o rendimento de massa do extrato, a densidade, os teores dos compostos químicos no extrato sob diversas condições experimentais de extração. Além disso, demonstraram a composição química dos extratos obtidos e inferiram seus resultados no que tange às variáveis ambientais que podem influenciar a composição dos extratos.

O rendimento de massa de extratos das dezesseis progênies de erva-mate obtidos por dióxido de carbono supercrítico, está sumarizado na Tabela 3. Ela se refere aos valores de rendimento relacionados a 100 g de matéria seca de folhas de erva-mate. Também demonstra os teores de cafeína e teobromina presentes no extrato. Os procedimentos experimentais da extração com dióxido de carbono supercrítico foram os mesmos para todas as progênies. Observa-se uma diferença significativa nas médias da quantidade de extrato obtida nas três localidades, e nos teores de cafeína e de teobromina nos extratos, quando se compara as três localidades.

Valores de rendimento de extratos, obtidos neste trabalho, estão próximos daqueles descritos por Esmelindro et al. (2004). Estes autores quantificaram os teores de compostos químicos por extração supercrítica avaliando a intensidade de luz no local de cultivo, idade de folhas e método de secagem das folhas de erva-mate. Os autores detectaram variação no rendimento de extratos, utilizando condições extrativas semelhantes às aqui utilizadas (30°C e 175 bar), e concluíram que os fatores agrônômicos estudados provocaram diferenças no rendimento e na composição química dos extratos obtidos.

Observando os resultados da Tabela 3 é possível concluir que, além da luminosidade e da idade da folha, outros fatores ambientais como clima e solo podem ser responsáveis por esta diferença. Observam-se diferenças estatísticas no rendimento de extratos a partir das três diferentes localidades de cultivo, e nestas as folhas apresentavam mesma idade fisiológica e cresciam a pleno sol.

Na Tabela 3 observa-se também, os teores de cafeína e teobromina no extrato obtido por extração com dióxido de carbono supercrítico. Os valores encontrados neste trabalho assemelham-se àqueles encontrados por Esmelindro

et al. (2004), para plantas de erva-mate que crescem sob maior intensidade de luminosidade.

Tabela 3. Rendimento do extrato obtido com CO₂ supercrítico de progênes de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) cultivadas em três diferentes localidades do Paraná e teores de cafeína e teobromina no extrato.

Localidade	Extrato (mg/100 g de planta)	Compostos	
		Cafeína (mg/100g de extrato)	Teobromina (mg/100g de extrato)
Ivaí / PR	469,8 c	43,25 b	0,33 a b
Rio Azul / PR	345,4 b	27,47 a	0,27 a
Guarapuava/PR	241,5 a	54,43 c	0,38 b

Médias seguidas por mesmas letras na coluna não diferem pelo teste de Tukey a 5%.

O fato das progênes analisadas no trabalho atual crescerem a pleno sol vem corroborar os dados citados por estes autores. Cabe ressaltar que, na localidade de Guarapuava, obtiveram-se menores quantidades do extrato, porém com maior concentração de cafeína e teobromina no extrato.

Tabela 4. Teores de cafeína e teobromina em progênes de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) cultivadas em três localidades do estado do Paraná extraídas por CO₂ supercrítico.

Composto (mg / 100g planta)	Localidade			Média
	Rio Azul/PR	Ivaí/PR	Guarapuava/PR	
Cafeína	8,83 a	18,96 c	12,71 b	13,54 ± 7,40
	(2,2 %)*	(3,7 %)	(2,2 %)	(2,67 ± 1,79)
Teobromina	0,087 a	0,154 b	0,086 a	0,109 ± 0,096
	(0,20 %)	(0,26 %)	(0,11 %)	(0,15 ± 0,38)

Médias seguidas por mesmas letras na linha não diferem pelo teste de Tukey a 5%.

*() Porcentagem sobre o total da extração convencional.

Na Tabela 4 estão demonstrados as percentagens de cafeína e teobromina, extraídas por dióxido de carbono supercrítico, nas três localidades

avaliadas, em relação ao total de compostos extraídos. Nas condições experimentais utilizadas, o teor médio de cafeína extraída foi de $13,54 \pm 7,40$ mg/100g de planta seca e o teor de teobromina foi de $0,109 \pm 0,096$ mg/100g de planta seca. Estes valores estão bem abaixo dos teores obtidos nas extrações convencionais. Ao compararmos a extração supercrítica com a extração hidroalcoólica, os valores médios encontrados foram de $2,67 \pm 1,79$ % para a cafeína, e $0,15 \pm 0,38$ % para a teobromina.

A pequena percentagem dos compostos extraídos por dióxido de carbono supercrítico pode ser atribuída a diversos fatores, principalmente às limitações de transferência de massa impostas pela matriz do vegetal (Saldaña, 2000). Também ocorreu que a extração realizada por dióxido de carbono supercrítico não foi exaustiva. Limitou-se o tempo de extração e as condições de temperatura e pressão foram às mesmas para todas as amostras. Quando realizada exaustivamente, a extração com dióxido de carbono supercrítico atinge valores semelhantes aos encontrados utilizando-se extrações convencionais (Saldaña, 2000).

A densidade do CO₂ utilizada neste trabalho, para os experimentos de extração com CO₂ supercrítico, foi de 0,921 g/mL para todas as amostras (Ivaí/PR, Rio Azul/PR e Guarapuava/PR). Jacques et al. (2006) utilizaram condições semelhantes de tempo, temperatura, pressão e de densidade para avaliar extração seletiva de compostos orgânicos de folhas secas de erva-mate.

A extração supercrítica mostra-se eficiente como extração seletiva de compostos orgânicos. Este tipo de extração ganha importância nos extratos obtidos de vegetais que se caracterizam por misturas complexas de compostos orgânicos. Jacques et al. (2006) identificaram 51 substâncias das folhas secas de erva-mate, após extração com CO₂ supercrítico, sob diversas condições de temperatura e pressão. Dentre as substâncias identificadas por CG/MS, estão presentes a cafeína e a teobromina.

Os teores médios de cafeína e teobromina, extraídos por dióxido de carbono supercrítico encontrados neste trabalho, são comparados com os de outros autores. A Figura 3 se refere à extração de cafeína, e a Figura 4 à extração

de teobromina. Os teores de cafeína e de teobromina são de mesma magnitude, porém os fatores considerados na extração como tempo de extração, temperatura e pressão de extração, podem ter contribuído para as diferenças encontradas nos diversos trabalhos. No entanto, a principal diferença a ser destacada trata-se da origem do material genético da matéria-prima utilizada nos processos extrativos. Enquanto o trabalho atual, demonstra rígido controle genético da origem das progênes, os trabalhos descritos na literatura não possuem esse controle. Em se tratando de produtos naturais, em que a diversidade de composição química é característica inerente às espécies, tais discrepâncias são perfeitamente aceitáveis. Para erva-mate a diversidade química de progênes, em relação ao teor de metilxantinas, foi discutida nos capítulos anteriores.

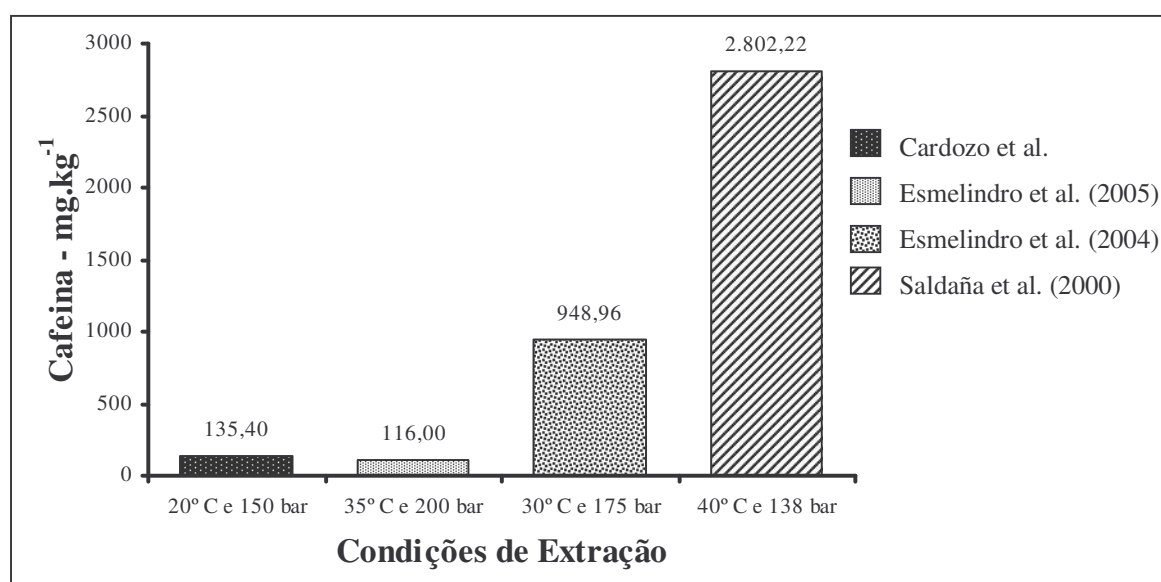


Figura 3. Teores médios de cafeína em folhas de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) obtidos por CO₂ supercrítico em diferentes condições extrativas. Valores expressos em mg kg⁻¹.

Os valores médios de cafeína por Kg de matéria seca, encontrados no trabalho atual, foram inferiores aos encontrados por Saldaña (2000) e por Esmelindro et al. (2004) para mesma idade de folha e condição de luminosidade. Entretanto, eles foram superiores aos resultados obtidos por Esmelindro et al. (2005), para folhas de erva-mate não processadas.

Resultados comparativos para teobromina (Figura 4), demonstram que os resultados obtidos foram menores do que os encontrados nos três trabalhos citados anteriormente. Pode-se verificar através dos resultados, que as condições descritas de temperatura e tempo de extração foram as variáveis que mais influenciaram na extração de cafeína e teobromina.

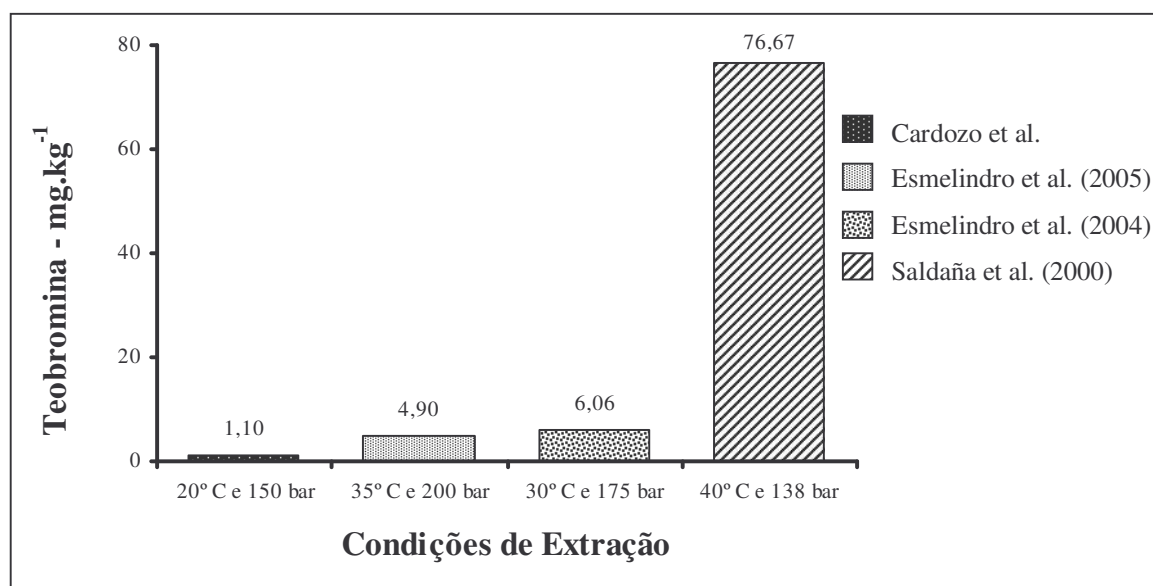


Figura 4. Teores médios de teobromina em folhas de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) obtidos por CO₂ supercrítico em diferentes condições extrativas. Valores expressos em mg kg⁻¹.

É possível inferir, a partir dos resultados analisados, que além das condições ambientais e de cultivo, as características genéticas individuais das progênes avaliadas influenciam nos teores de compostos nos extratos obtidos por dióxido de carbono supercrítico. Os teores de cafeína e teobromina obtidos nas progênes individuais cultivadas nas três localidades, também foram avaliados. Os resultados podem ser vistos na Figura 5 para os teores de cafeína e na Figura 6 para os teores de teobromina.

As progênes cultivadas em Ivaí/PR tiveram valores máximos extraídos de 80,15 mg de cafeína /g de extrato na progênie 59 e valores de mínimo para a progênie 10 de 10,49 mg de cafeína /g de extrato, como pode ser observado na Figura 5. As progênes cultivadas em Rio Azul/PR tiveram valores máximos de 41,87 mg de cafeína extraída / g de extrato na progênie 151 e valores de mínimo

para a progênie 10 de 11,73 mg de cafeína / g de extrato. As progênies cultivadas em Guarapuava/PR tiveram valores máximos de 98,38 mg de cafeína extraída na progênie 81 e valores de mínimo para a progênie 10 de 20,75 mg de cafeína como pode ser observado na Figura 5. A mesma progênie teve valor de mínimo de cafeína quando cultivada nas três localidades, comportamento semelhante foi obtido quando analisada por técnica convencional, comparando-se com dados discutidos nos capítulos anteriores.

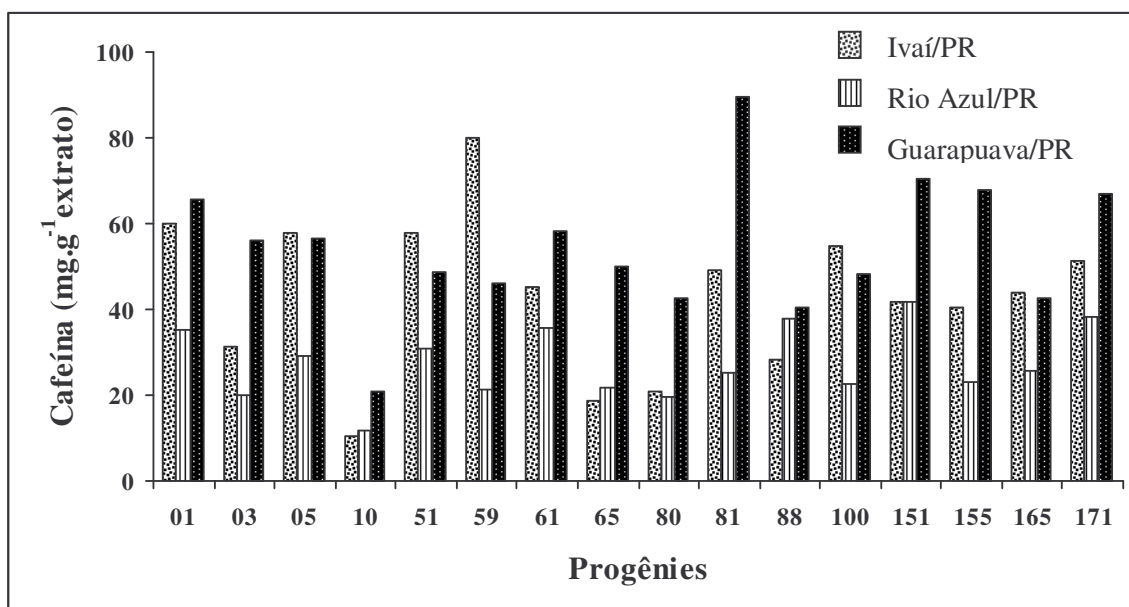


Figura 5. Teores médios de cafeína em extratos obtidos por CO₂ supercrítico de dezesseis progênies de erva mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) cultivadas em três localidades do Paraná. Valores expressos em mg g⁻¹ de extrato.

Observa-se, pelos valores apresentados, que além dos fatores ambientais anteriormente citados neste trabalho e na literatura (Esmelindro et al., 2004), as características genéticas particulares de cada progênie podem influenciar os teores de cafeína extraída por dióxido de carbono supercrítico. Além da localidade, o teor de cafeína extraída por CO₂ supercrítico das dezesseis progênies apresentou diferenças estatísticas significativas.

Resultados semelhantes foram observados na extração de teobromina por dióxido de carbono supercrítico (Figura 6), nas dezesseis progênies cultivadas nas três localidades. As progênies cultivadas em Ivaí/PR tiveram valores

máximos extraídos de 0,88 mg de teobromina /g de extrato na progênie 10 e valores de mínimo para a progênie 155 de 0,17 mg de teobromina /g de extrato, como pode ser observado na Figura 6.

As progênies cultivadas em Rio Azul/PR tiveram valores máximos de 0,84 mg de teobromina extraída / g de extrato na progênie 10 e valores de mínimo para a progênie 01 de 0,07 mg de teobromina / g de extrato, como pode ser observado na mesma Figura. As progênies de erva-mate cultivadas em Guarapuava/PR tiveram valores máximos de 0,85 mg de teobromina extraída na progênie 10 e valores de mínimo para a progênie 65 de 0,14 mg de teobromina. Observa-se nitidamente o comportamento diferenciado da progênie 10 que apresenta menores valores de cafeína e maiores teores de teobromina no extrato. Na extração convencional a progênie apresentou também teores elevados de teobromina em comparação com as demais progênies.

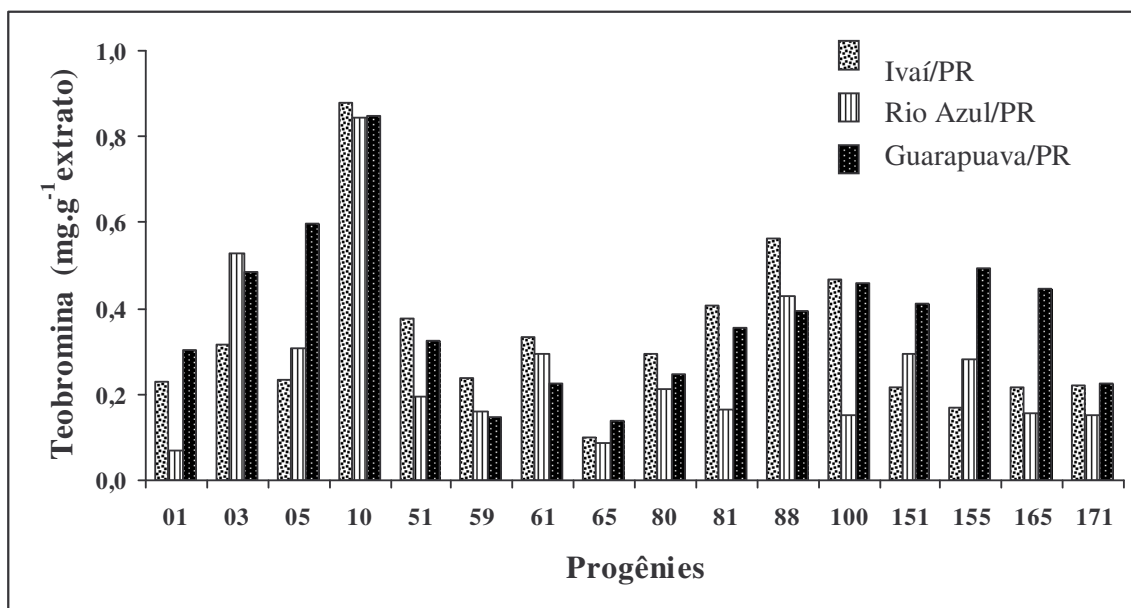


Figura 6. Teores médios de teobromina em extratos obtidos por CO₂ supercrítico de dezesseis progênies de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) cultivadas em três localidades do Paraná. Valores expressos em mg g⁻¹ de extrato.

Os teores de cafeína obtidos por extração convencional e por extração em dióxido de carbono supercrítico não podem ser comparados, pois a extração supercrítica não foi exaustiva. Porém, pode-se observar comportamentos

semelhantes nas extrações utilizadas. Progênes com maior teor de cafeína, extraída por maceração hidroalcoólica, tiveram maior concentração no extrato obtido por CO₂ supercrítico e progênes com maior teor de teobromina, extraída por maceração hidroalcoólica evidenciaram o mesmo comportamento. Este fato sugere que a EFSC, por ser um método seletivo, pode ser utilizado nos casos em que se queiram relacionar efeitos biológicos (Ex: propriedades organolépticas, atividade biológica), com os teores de cafeína e teobromina obtidos a partir das progênes de erva mate.

4. Conclusões

Os teores de cafeína obtidos por extração supercrítica foram superiores aos teores de teobromina em todas as amostras analisadas. Estes dados corroboram os descritos na literatura, pois os valores determinados neste trabalho são de mesma magnitude.

A EFSC usando o dióxido de carbono como solvente, mostrou seletividade na extração de metilxantinas comparando-se com extração por solventes convencionais.

Houve diferença significativa nos teores de cafeína e de teobromina entre as progênes e nas três localidades de cultivo, e entre as dezesseis progênes analisadas.

Progênie 10 apresentou menores teores de cafeína e maiores de teobromina, nas três localidades de cultivo, indicando que produtos com baixos teores de cafeína podem ser obtidos utilizando essa progênie.

5. Referências Bibliográficas

- Alikaridis, F. Natural constituents of *Ilex* species. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 20, p. 121-144, 1987.
- Cardozo-Filho, L.; Wolff, F.; Dariva, C. Extração de Componentes Erva-mate usando o Dióxido de Carbono Supercrítico. In: Congresso Sul Brasileiro de Plantas Medicinais, 1. Maringá, 1999.
- Clifford, M.N. & Ramirez-Martinez, J.R. Chlorogenic acids and purine alkaloids contents of mate (*Ilex paraguariensis*) leaf and beverage. *Food Chemistry*, v. 35, p. 13-21, 1990.
- Da Croce D.M. The physical and chemical characteristics of tea (*Ilex paraguariensis* St Hil) in Santa Catarina state. *Ciencia Florestal*, v. 12, p. 107-113, 2002.
- Esmelindro, M.C.; Toniazzo, G.; Dariva, C.; De Oliveira, D.; Lopes, D. The effects of manufacturing steps on the chemical characteristics of the extracts from SCFE of Mate Tea Leaves. *Chemical Engineering Transactions*, v. 2, p. 241-246, 2002.
- Esmelindro, A.A.; Girardi, J.S.; Mossi, A.; Jacques, R.A.; Dariva, C. Influence of Agronomic Variables on the Composition of Mate Tea Leaves (*Ilex paraguariensis*) Extracts Obtained from CO₂ Extraction at 30°C and 175 bar. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 52, p. 1990-1995, 2004.
- Esmelindro, M.C., Toniazzo G., Lopes, D., Oliveira, D., Dariva, C. Effects of Processing conditions on the Chemical distribution of Mate Tea Leaves. Extracts Obtained from CO₂ Extraction at High Pressures. *Journal of Food Engineering*, v. 70, p. 588-592, 2005.
- Filip R., Lopez P., Giberti G., Coussio J., Ferraro G. Phenolic compounds in seven South American *Ilex* species. *Fitoterapia*, v. 72, p. 774-778, 2001.
- Gugliucci, A. Antioxidant effects of *Ilex paraguariensis*: induction of decreased oxidability of human LDL in vivo. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, v. 224, n. 2, p. 338-44, 1996.

- Instituto Adolfo Lutz. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz – Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos. Vol 1, São Paulo: O Instituto, p. 190-192, 1985.
- Jacques, R.A.; Santos, J.G.; Dariva, C.; Vladimir Oliveira, J.; Caramão, E.B. GC/MS characterization of mate tea leaves extracts obtained from high-pressure CO₂ extraction. *Journal of Supercritical Fluids*, v. , p. , 2006. *in press*.
- Martinet, A.; Hostettmann, K.; Schutz, Y. Termogenic effects of commercially available plant preparations aimed at treating human obesity. *Phytomedicine*, v. 6, n. 4, p. 231-8, 1999.
- 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 the Brazilian Chemical Society*, v. 10, p. 443-446, 1999.
- Saldaña, M.D.A., Mohamed, R.S.; Mazzafera, P. Supercritical carbon dioxide extration of methylxanthines from maté tea leaves. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, v. 17, n. 3, p. 1-14, 2000.

CAPÍTULO V

Efeito das condições de secagem convectiva com ar quente e vapor superaquecido no conteúdo de fenóis em folhas de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.).

Zanoelo, E.F.; Cardozo-Filho, L.; Cardozo Junior, E.L. **Superheated steam-drying of mate leaves and effect of drying conditions on the phenol content.** *Journal of Food Process Engineering*, v.29, p. 253–268, 2006.

Resumo

Quatro experimentos de secagem de folhas de erva-mate, com diâmetro equivalente de $4,7 \times 10^{-3}$ a $6,95 \times 10^{-3}$ m (*Ilex paraguariensis* St. Hil.), foram conduzidos em um secador de leito fixo, utilizando vapor superaquecido a uma temperatura de exaustão de 120 e 140°C. A influência destas variáveis no coeficiente de secagem calculado através de um modelo simplificado foi investigada. Testes estatísticos clássicos utilizados revelaram efeitos significantes para ambos os fatores nos parâmetros avaliados. Dois experimentos adicionais foram conduzidos em idênticas condições, porém utilizando-se ar quente e vapor superaquecido a baixa pressão, respectivamente. A influência da atmosfera de secagem no conteúdo de compostos fenólicos totais foi avaliada. Um processo convencional de extração utilizando-se uma solução aquosa de metanol foi adotado. A análise de fenóis totais foi realizada por espectrometria a 715 nm aplicando-se o ensaio de Folin-Denis. Os extratos obtidos a partir de folhas desidratadas em atmosfera inerte, ou seja, envolvendo vapor superaquecido, apresentaram uma quantidade de fenóis totais 47% superior aquela resultante da extração envolvendo folhas secas com ar quente.

Palavras Chave: Erva-mate; *Ilex paraguariensis*; secagem; fenóis totais.

Abstract

Four drying experiments of mate leaves (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) were carried out in a packed bed superheated steam dryer by varying outlet steam temperature from 120 to 140°C and equivalent particle diameter from 4.7×10^{-3} to 6.95×10^{-3} m. The influence of these variables on the drying coefficient calculated by assuming a simplified drying kinetic model was investigated. A classical statistical approach revealed the significant effect of both factors on this parameter. Two additional drying runs were performed at identical conditions with conventional hot air and low pressure superheated steam, respectively. The influence of drying atmosphere on the total content of phenols was evaluated. A conventional process of extraction by using an aqueous methanol solution was adopted. Analyses for total phenols were performed by spectrophotometry at 715 nm by applying Folin-Denis assay. The leaves dried with superheated steam had approximately 47% higher retention of these compounds.

Key-words: *Ilex paraguariensis*; mate; total phenols; drying.

1. Introdução

O método convencional de secagem de folhas de erva-mate, utilizado no Sul do Brasil, Argentina, Uruguai e Paraguai, é um processo caro e pouco eficiente do ponto de vista energético. Normalmente, este método envolve a injeção de gases quentes de combustão no secador alimentado com folhas úmidas de erva-mate. Um dos maiores problemas desta técnica, é que o contato direto entre a fumaça obtida pela queima da madeira e as partículas de erva-mate pode comprometer a qualidade do processo de secagem das folhas. Alguns parâmetros comerciais importantes para a erva-mate como cor, sabor, aroma e umidade residual, não são controlados ao aplicar-se este procedimento de secagem. Além disso, a possibilidade de formação de centelhas, devido à combustão incompleta da madeira, é a principal causa de incêndios e explosões na indústria ervateira.

A erva-mate também pode ser desidratada numa escala comercial por secagem convectiva, empregando ar aquecido em trocadores de calor envolvendo vapor ou gases de combustão como fluido quente. Logo, alguns dos muitos problemas mencionados acima podem ser evitados por aplicação deste sistema de secagem, devido à presença do trocador a eficiência energética do processo é reduzida.

O emprego de vapor superaquecido como meio de desidratação tem sido uma técnica bastante conhecida e amplamente aplicada, tanto em escala de laboratório como em plantas industriais, na indústria de alimentos, têxtil e madeireira. Embora não existam trabalhos disponíveis na literatura sobre a secagem de erva-mate com vapor superaquecido, alguns estudos (Jensen, 1996; Deventer, 1997; Johansson et al., 1997; Deventer and Heijmans, 2001) demonstram diversas vantagens na substituição de métodos de secagem convencional das folhas de erva-mate por secagem com vapor superaquecido.

Em comparação com o processo convencional de secagem com ar quente, o primeiro grande benefício seria a economia de energia devido ao incremento das taxas da evaporação (Deventer & Heijmans, 2001; Tatemoto et al., 2001). Adicionalmente, o calor latente de evaporação é disponível para o uso

como a fonte de calor em outra parte do processo, porque o vapor permanece acima de sua temperatura de condensação durante a secagem. A secagem envolvendo vapor superaquecido também possibilita o controle da temperatura no secador por simples manipulação dos níveis de pressão da caldeira.

Além destas vantagens, uma característica distinta da secagem com vapor superaquecido, aplicada para a secagem de folhas de erva-mate é a atmosfera livre de oxigênio. Embora a ausência do oxigênio evite as explosões e os incêndios freqüentes relacionados às indústrias da produção de erva-mate, o resultado mais importante de um meio de secagem inerte seria uma redução de reações oxidantes. Especificamente, uma maior retenção de compostos fenólicos simples pode resultar deste processo, porque a erva-mate é rica nestes compostos (de 1,0 a 10% m/v) (Roberts, 1956; Badin et al., 1962; Clifford & Martinez, 1990; Clifford, 1999; Filip et al., 2000; Chaves et al., 2001). A otimização do conteúdo de fenóis durante o processo de secagem da erva-mate tem grande importância devido à sua atividade antioxidante a nível celular no organismo humano, bem como por seu potencial papel inibidor em doenças cardiovasculares, tumores e outras patologias (Dufresne & Farnworth, 2001).

O principal objetivo deste estudo foi investigar a influência do diâmetro de partículas e da temperatura de secagem com vapor superaquecido no coeficiente de secagem. Os valores deste parâmetro foram comparados com resultados reportados na literatura em condições análogas de operação, porém envolvendo ar quente como meio de secagem. O confronto entre estes dados permite uma avaliação relativa dos processos sobre a ótica de economia de energia. Um segundo objetivo foi analisar o conteúdo de compostos fenólicos nas folhas desidratadas, aplicando-se ar quente e vapor superaquecido como meio de secagem. Como mencionado anteriormente, uma maior retenção destes compostos em uma atmosfera livre de oxigênio é esperada como decorrência da possível redução da atividade enzimática.

2. Materiais e Métodos

Experimento de Secagem

Folhas *in natura* de *Ilex paraguariensis* com umidade de aproximadamente 60±5% (base úmida), retiradas de plantas cultivadas na região sul do Brasil, foram selecionadas manualmente de forma que folhas sujas, manchadas ou ressecadas fossem descartadas. As folhas pré-selecionadas foram cortadas em partículas quadradas de aproximadamente 5,9×5,9 mm (L x C) e 8,7×8,7 mm (L x C). Estas medidas proporcionaram a obtenção de partículas com diâmetro equivalentes de 4,72×10⁻³ e 6,95×10⁻³ m, respectivamente. Estes parâmetros correspondem ao diâmetro médio de um sólido esférico imaginário, cuja área superficial média seria igual à área superficial encontrada nas partículas reais (Eq. 1).

$$d_s = (L)(W)\sqrt{\frac{2}{\pi}} \quad (1)$$

A câmara de secagem utilizada nesta investigação consiste em uma tubulação de aço de 0,032 m de diâmetro nominal, a qual foi preenchida com uma massa constante de folhas de erva-mate, de modo a formar um leito raso de partículas de aproximadamente 0,1 m de altura (H/D = 3.125). Os valores ligeiramente diferentes de porosidade do leito (ϵ) são decorrentes dos distintos tamanhos de partículas envolvidos na secagem (Tabela 1).

Os ensaios de secagem foram realizados por injeção de vapor saturado ou ar quente através de uma tubulação de aço de aproximadamente 0,3 m de comprimento e diâmetro nominal de 0,032 m, diretamente conectada ao leito de secagem. A pressão do vapor saturado foi medida através de um manômetro de Bourdon. O conjunto tubulação de aço e câmara de secagem foi aquecido por uma manta elétrica até a temperatura requerida (120 ou 140° C), a qual era medida por um termopar tipo-K previamente calibrado, situado logo acima do leito de secagem.

Um controlador eletrônico comercial, do tipo Derivativo-Proporcional-Integral, foi usado para manter a temperatura de exaustão do vapor acima de sua temperatura de condensação durante todo o período de secagem. Um anemômetro calibrado foi empregado para determinar a velocidade do fluido de secagem na entrada do leito. Um valor constante de velocidade mássica de aproximadamente $0,09 \text{ Kg/m}^2\text{s}$ foi assumido em ambos os procedimentos experimentais, com vapor e ar quente, por ajuste dos valores de velocidade média superficial. A Figura 1 apresenta esquematicamente a aparelhagem utilizada na realização dos experimentos de secagem.

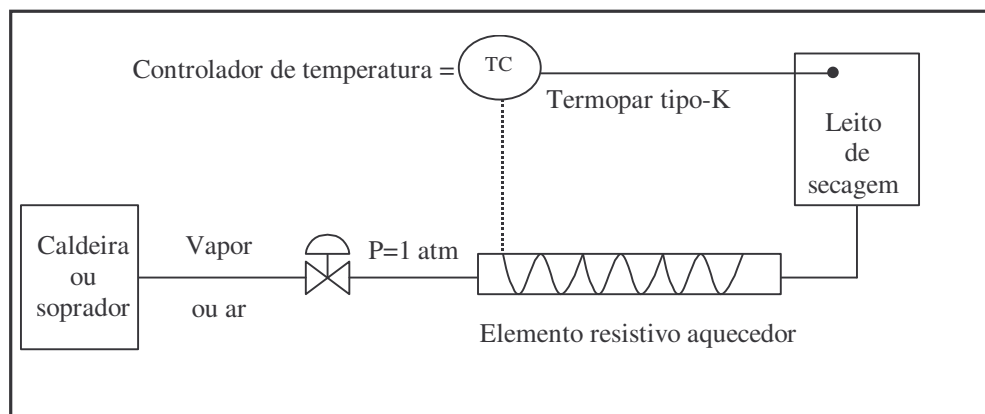


Figura 1. Diagrama esquemático do procedimento de secagem.

Amostras de folhas de erva-mate foram removidas manualmente do leito a cada 120 segundos por 20 minutos, colocadas dentro de um forno com temperatura controlada a 105°C por aproximadamente 24 horas a fim de determinar a umidade pelo método gravimétrico convencional (International Standards Organization 1980). Na ausência de um método apropriado para a erva-mate (*Ilex paraguariensis*), o método oficial para o chá (*Camellia sinensis*) foi utilizado. Quatro repetições com diferentes amostras de folhas de erva-mate foram realizadas para avaliar a consistência dos resultados experimentais.

Tabela 1. Coeficientes de secagem nas diferentes temperaturas e diâmetros equivalentes de partículas considerados na investigação.

Ensaio	T (°C)	d _s (m)	ε	Coeficiente de secagem (s ⁻¹)	Repetições
1	120 ± 2	4,72×10 ⁻³ ± 3,5×10 ⁻⁴	0,69	2,64×10 ⁻³ ± 2,3×10 ⁻⁴	4
2	120 ± 2	6,95×10 ⁻³ ± 5,0×10 ⁻⁴	0,76	1,67×10 ⁻³ ± 1,7×10 ⁻⁴	4
3	140 ± 2	4,72×10 ⁻³ ± 3,5×10 ⁻⁴	0,69	2,69×10 ⁻³ ± 4,6×10 ⁻⁴	4
4	140 ± 2	6,95×10 ⁻³ ± 5,0×10 ⁻⁴	0,76	2,53×10 ⁻³ ± 6,1×10 ⁻⁴	4

Experimento de Extração

Exceto pelo fato de envolver vapor superaquecido ou o ar quente como o meio de secagem, a investigação de retenção de compostos fenólicos totais foi investigada usando folhas da erva-mate desidratadas em circunstâncias operacionais idênticas. Em particular, somente o material desidratado a uma temperatura de 120°C foi analisado quanto ao conteúdo de compostos fenólicos. Uma temperatura mais alta que o ponto de ebulição da água à pressão atmosférica foi escolhida para assegurar uma condição de super aquecimento do vapor. Ressalta-se que as temperaturas típicas de secagem industrial de chá e de erva-mate variam aproximadamente de 90 a 140°C (Temple & Van Boxtel, 1999), o que demonstra que o ensaio realizado a 120°C representa de forma aproximada as características do produto beneficiado em escala industrial.

As amostras secas foram reduzidas de tamanho e passadas sobre peneira de 1 milímetro (16 mesh) agitada mecanicamente. Uma massa de 5×10⁻³ kg de partículas menores do que o tamanho da abertura da peneira foi embalada em um cartucho de extração de celulose e em seguida extraída por 20 minutos (×5) com porções de 50 ml de solução metanol-água 70% (v/v), usando um aparelho de Soxhlet. Os extratos foram tratados com o reagente de Carrez para eliminar o material coloidal (Clifford and Martinez 1990), e o metanol foi removido em rota-evaporador usando-se pressão reduzida. Nitrogênio foi passado sobre a superfície do extrato para eliminar o metanol residual. Este extrato foi armazenado sob nitrogênio a -10°C.

Análise Química de Fenóis Totais

O conteúdo de fenóis totais foi determinado utilizando-se o ensaio de Folin-Denis (Nitao et al. 2001; Ferreira et al. 2004). Este método analítico baseia-se na habilidade dos compostos fenólicos em reduzirem um complexo do ácido fosfomolibídico e fosfotungstico. Um extrato aquoso foi preparado usando-se 0,5 ml do extrato previamente estocado em 24,5 ml de água destilada. Um mililitro do reativo de Folin-Denis foi adicionado a 5,0 ml da alíquota de extrato aquoso diluído. Esta mistura foi adicionada a 50 ml com uma solução de carbonato de sódio 15% (m/v). Após agitação vigorosa por dois minutos, a absorvância foi verificada a 715 nm. O Pirogalol, que é um composto fenólico simples, foi utilizado como padrão analítico para a quantificação do total de fenóis. As leituras espectrofotométricas dos extratos aquosos das folhas de erva-mate foram comparadas com curva padrão resultante da leitura de absorvância de concentrações conhecidas de pirogalol. Água destilada foi usada como branco para calibrar o espectrofotômetro para cada leitura. Uma série de seis testes foi conduzida para cada solução da amostra.

3. Resultados e Discussão

Coefficiente de secagem

Um planejamento fatorial 2^2 foi utilizado na presente investigação, por variação do diâmetro equivalente e da temperatura de vapor em dois níveis (Tabela 1). As Figuras 2 e 3 apresentam a perda de massa (mudança no índice de umidade, Y_s) das partículas da erva-mate em circunstâncias de secagem diferentes. O aumento típico do índice de umidade esperado em consequência da condensação do vapor no produto frio durante os primeiros segundos da secagem por vapor superaquecido não foi observado. Obviamente, isto ocorre devido ao intervalo demasiadamente longo (120 s) entre medidas sucessivas do índice de umidade.

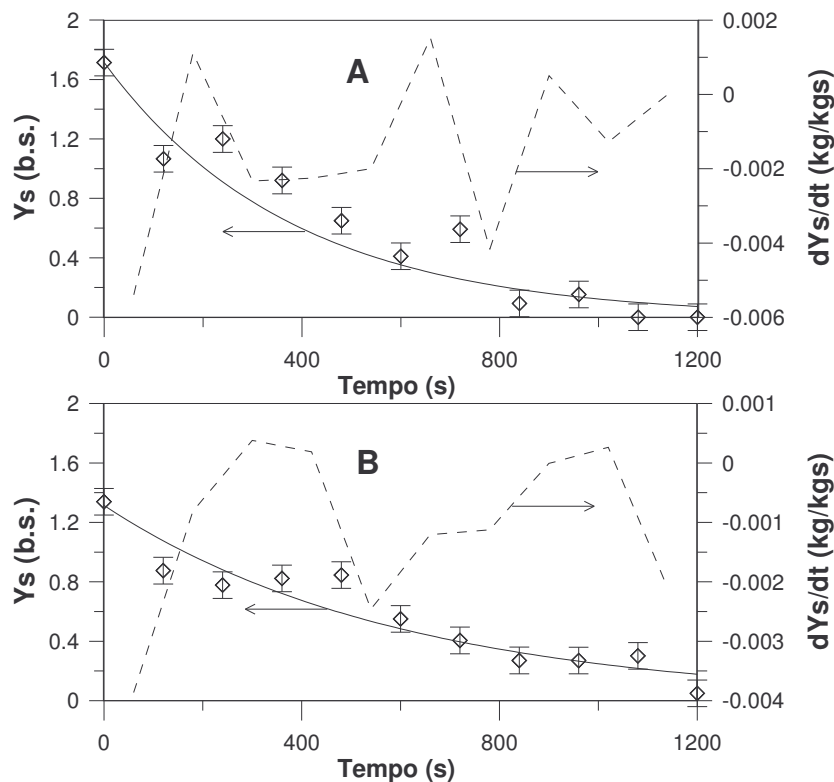


Figura 2. Cinética de secagem de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) com vapor superaquecido a 120° C.

A: $d_s = 4,72 \times 10^{-3}$ m; B: $d_s = 6,95 \times 10^{-3}$ m. d_s = diâmetro equivalente da partícula; Y_s = índice de umidade. Símbolos=índice de umidade experimental; Linha sólida=valores do índice de umidade calculado (Eq. 2); Linha tracejada=curvas da taxa de secagem experimentais. Barra de erros representa erro padrão médio para quatro repetições.

As Figuras 2 e 3 mostram também as incertezas experimentais que são atribuídas principalmente aos gradientes axiais de umidade no leito. Este tipo de erro poderia ser reduzido, usando um leito raso de secagem porque qualquer amostra removida do secador apresentaria um valor de umidade muito próximo das demais. Para evitar este problema, um procedimento alternativo relatado freqüentemente na literatura recomenda a pesagem periódica do leito, a fim de obter a curva de perda de massa. Embora este método seja também mais rápido do que o aplicado atualmente neste trabalho, requer um aparato experimental mais complexo. De qualquer forma, as curvas de secagem experimentais mostradas nas Figuras 2 e 3 corroboram a validade do procedimento experimental adotado nesta investigação.

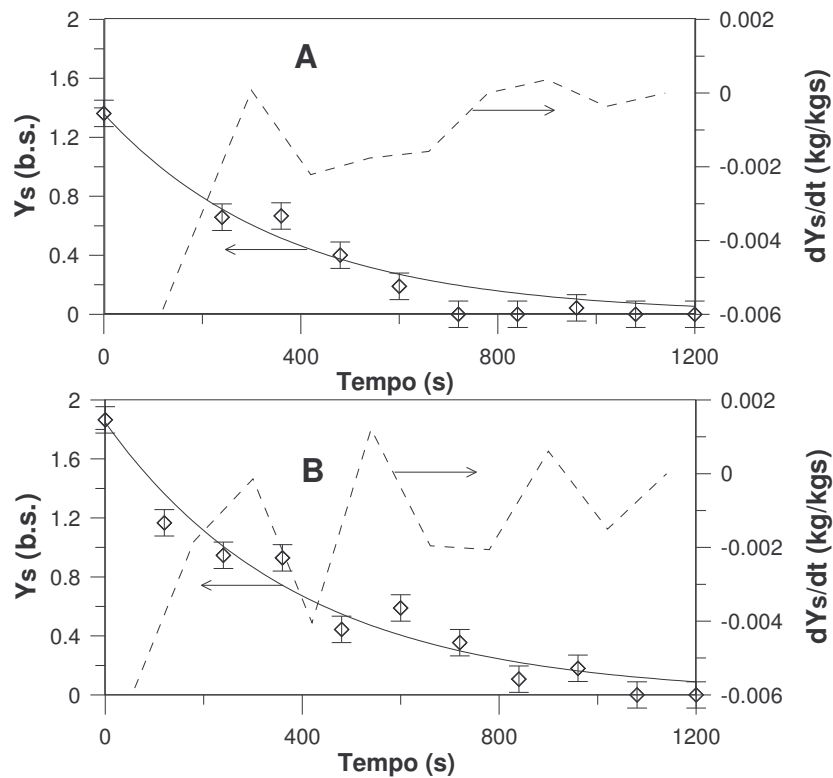


Figura 3. Cinética de secagem de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) com vapor superaquecido a 140° C.

A: $d_s = 4,72 \times 10^{-3}$ m; B: $d_s = 6,95 \times 10^{-3}$ m. d_s = diâmetro equivalente da partícula; Y_s = índice de umidade. Símbolos=índice de umidade experimental; Linha sólida=valores do índice de umidade calculado (Eq. 2); Linha tracejada=curvas da taxa de secagem experimentais. Barra de erros representa erro padrão médio para quatro repetições.

Embora as equações de secagem sejam baseadas normalmente em modelos sofisticados de difusão, o coeficiente de secagem foi encontrado supondo um modelo cinético de secagem simplificado, referido usualmente como um modelo de secagem exponencial (Eq. 2) (Jayas et al. 1991). Essencialmente, supõe-se que a resistência para o transporte de água está representada por uma expressão análoga à lei de Newton do resfriamento. Conseqüentemente, a transferência de massa externa é presumidamente controlada pelo transporte de água. Entretanto, o modelo pode ser interpretado meramente como uma correlação empírica ou semi-empírica (Wiriyaumpaiwong et al. 2004; Tang et al. 2005) sem analisar se a transferência de massa é controlada pela difusão ou convecção.

$$\ln \frac{(Y_{si} - Y_{se})}{(Y_s - Y_{se})} = kt \quad (2)$$

A suposição sobre a transferência de massa difusiva ou convectiva na secagem de materiais sólidos é suportada geralmente por curvas de taxa de secagem experimentais. É bem conhecido que durante o período de taxa constante, a resistência para o transporte da água é localizada toda na superfície da partícula, enquanto que no período de queda de velocidade a difusão domina a taxa de secagem total. Entretanto, a incerteza nos dados experimentais obtidos neste estudo não permite verificar se a resistência para o transporte da água é uma matéria de difusão ou convecção. De fato, com exceção da Figura 3A, que sugere que ambos os fenômenos devem ser considerados, as demais curvas de taxa de secagem em função do tempo reportadas nas Figuras 2 e 3 não permitem a distinção entre o período de velocidade constante e queda de velocidade.

Os modelos de difusão são propostos frequentemente para descrever a secagem de partículas de grandes dimensões, tais como grãos de cevada, soja e milho ou sementes revestidas, tais como lentilhas. Os diâmetros equivalentes das partículas destes grãos variam de aproximadamente $4,0 \times 10^{-3}$ a $8,0 \times 10^{-3}$ m. Embora estes diâmetros e os de uma esfera que representa uma partícula típica da erva-mate ($4,72 \times 10^{-3}$ e $6,95 \times 10^{-3}$ m) sejam de uma mesma ordem de grandeza, a dimensão característica onde a difusão ocorre dentro da partícula das folhas de erva-mate, a qual corresponde à espessura da folha, não é maior que $5,0 \times 10^{-4}$ m.

Assim, o papel de um mecanismo interno de transporte de massa relativo à resistência na superfície deve ser menos importante nas folhas de erva-mate do que em partículas grandes, como às anteriormente especificas. Neste sentido, pode-se conceber que a convecção apresenta um papel mais importante do que a difusão na secagem de erva-mate, embora o transporte interno não possa ser negligenciado.

A Tabela 1 relata os coeficientes de secagem (k) obtidos a partir da Eq. 2. O método dos mínimos quadrados foi utilizado para obter a melhor curva que representa o comportamento experimental. No procedimento de otimização do

parâmetro do modelo de secagem foram desconsiderados os valores de umidade de equilíbrio das partículas de erva-mate (Y_{se}), visto os pequenos valores observados para esta variável nas Figuras 2 e 3.

Uma comparação entre os valores experimentais e calculados de umidade, sob as condições de secagem, relatadas na Tabela 1, foi realizada a fim de verificar a validade do modelo de secagem exponencial. As Figuras 2 e 3 demonstram que o modelo (Eq. 2) é adequado para descrever o transporte de água das partículas da erva-mate para o vapor superaquecido. Entretanto, visto que nenhuma evidência conclusiva foi encontrada para afirmar se a transferência de massa está limitada exclusivamente pela difusão ou pela convecção, a constante de secagem pode ser interpretada como um coeficiente efetivo.

Os efeitos da temperatura do vapor, do diâmetro das partículas e a interação entre estas duas variáveis independentes no coeficiente de secagem foram $+4,6 \times 10^{-4}$, $-5,6 \times 10^{-4}$ e $+4,1 \times 10^{-4}$, respectivamente. O algoritmo para estimar o efeito e as interações principais de um experimento com planejamento fatorial 2^k é descrito extensivamente na literatura (Montgomery, 2001). Este algoritmo representa os resultados experimentais em termos de um modelo de regressão, onde as variáveis independentes devem ser definidas em uma escala codificada de -1 a +1. Os parâmetros estimados neste modelo de regressão são relacionados aos efeitos dos fatores.

Um método para julgar a importância de um efeito sugere que o mesmo é significativo quando o desvio padrão experimental é mais baixo do que a mudança na resposta produzida por uma modificação no nível do fator investigado. Neste sentido, os desvios padrão das amostras em uma condição operacional particular, os quais são relatados na Tabela 1, foram usados para calcular um valor médio que representasse uma única estimativa do erro experimental ($3,7 \times 10^{-4}/s$). Uma comparação entre este parâmetro e os efeitos previamente relatados mostra que todos os efeitos calculados são significativos. Como esperado, o efeito positivo da temperatura de vapor indica que um incremento desta variável aumenta o coeficiente de secagem. Por outro lado, os

resultados indicam que um incremento do diâmetro equivalente das partículas reduz o coeficiente de secagem.

O efeito do diâmetro equivalente da partícula no coeficiente de secagem retoma a discussão precedente sobre o mecanismo que governa a transferência de massa. Aparentemente, uma influência significativa do diâmetro da partícula é esperada se o papel da difusão for importante. Além disso, o efeito antes relatado do diâmetro equivalente da partícula está em acordo com o que postula o modelo difusivo de uma secagem clássica. Entretanto, quando o diâmetro equivalente da partícula de erva-mate foi reduzido, cortando as folhas de aproximadamente 8,7×8,7 mm (C x L) ($d_s=6,95\times 10^{-3}$ m) para aproximadamente 5,9×5,9 mm (C x L) ($d_s=4,72\times 10^{-3}$ m), nenhuma variação na espessura das partículas (0,5 mm) foi promovida.

Visto que as partículas de erva-mate são suficientemente finas para que se suponha desprezível a difusão nas outras direções, deduz-se que a difusão não foi incrementada quando ocorreu a redução de tamanho das partículas da erva-mate. Em contraste, as taxas convectivas de secagem são aumentadas dado que a área superfície total das partículas apresenta-se ligeiramente maior quando o diâmetro equivalente da partícula é reduzido.

Uma comparação entre os coeficientes de secagem obtidos por secagem com vapor superaquecido e ar quente em circunstâncias análogas, foi realizada a fim de examinar a existência de eventuais diferenças nas taxas de evaporação e na demanda de energia. Neste trabalho, um ensaio de secagem de folhas de erva-mate com ar quente a 103°C, realizado previamente no instrumento esquematicamente apresentado na Figura 1, foi utilizado como referência para esta análise. Em particular, este experimento foi realizado com partículas de erva-mate de diâmetro equivalente 0,03 m, as quais foram submetidas a uma velocidade mássica constante de ar quente ($G = 0,09 \text{ kg/m}^2\text{s}$). Os resultados obtidos nestas circunstâncias indicam um coeficiente de secagem igual a $2,46\times 10^{-3} \pm 1,4\times 10^{-4}/\text{s}$, enquanto que um valor ligeiramente mais baixo deste parâmetro ($1,67\times 10^{-3} \pm 1,7\times 10^{-4}/\text{s}$) é observado na Tabela 1 ao utilizar-se vapor superaquecido na condição experimental mais próxima àquela realizada com ar

quente. Embora este pareça ser um resultado inesperado, o mesmo é suportado por dados precedentes relatados na literatura (Prachayawarakorn et al. 2002). De acordo com estes investigadores, este comportamento ocorre quando a temperatura do meio de secagem está próxima do ponto de ebulição normal.

Alguns estudos recentes indicam que somente sob determinadas circunstâncias as taxas de evaporação com vapor superaquecido são maiores do que as obtidas quando se utiliza ar quente (Tang & Cenkowski 2000; Tang et al. 2000; Deventer & Heijmans 2001). Resultados obtidos por Prachayawarakorn et al. (2002), apontam uma maior potencial de remoção de água com o vapor superaquecido a temperatura mais altas. Em particular, estes dados demonstram que para ensaios de secagem a 140°C, as taxas de secagem com vapor superaquecido superam em 26% os valores obtidos ao empregar-se ar quente na mesma temperatura.

Em resumo, a discussão acima sugere que as exigências de energia são da mesma ordem de grandeza quando se utiliza vapor superaquecido ou o ar quente em temperaturas próximas do ponto de ebulição normal. Entretanto, uma menor demanda de energia é esperada aplicando vapor superaquecido a temperaturas superiores.

Conteúdo de Compostos Fenólicos

Extratos das folhas de erva-mate usando diferentes condições de secagem foram analisados quanto ao conteúdo de compostos fenólicos totais. A Tabela 2 reporta a média do conteúdo de fenóis totais em ambas as amostras de folhas de erva-mate desidratadas sob condições convencionais de secagem com ar quente (corridas cinco e seis), e secagem com vapor superaquecido (corridas sete e oito). As médias aritméticas mostradas na terceira coluna da Tabela 2 foram calculadas a partir de seis repetições. Os desvios padrão das amostras apresentados nesta mesma coluna evidenciam a reprodutibilidade das análises químicas.

As corridas cinco e seis foram realizadas sob as mesmas circunstâncias operacionais, porém utilizando-se amostras de erva-mate referidas como A e B,

respectivamente. Na mesma ordem, estas amostras foram expostas a vapor superaquecido para dar os resultados encontrados para as corridas sete e oito. De fato, as corridas cinco e sete foram replicadas para confirmar o efeito da atmosfera de secagem no conteúdo de fenóis envolvendo diferentes amostras de erva-mate.

A Tabela 2 demonstra que a concentração de fenóis é aproximadamente 47% menor nas amostras secas com ar quente. O Teste *t* de Student também confirma uma significância estatística para a influência do meio de secagem no conteúdo de fenóis, para um intervalo de confiança de 99% ($P \leq 0,01$).

Tabela 2. Conteúdo de fenóis em folhas de erva-mate com $6,95 \times 10^{-3}$ m de diâmetro equivalente desidratadas com vapor superaquecido e ar quente a 120° C.

Corrida	Meio de Secagem	Conteúdo de fenóis totais média após seis repetições (% db)	Amostra das folhas verdes de erva-mate	Média entre medidas para amostras A e B no mesmo meio de secagem (% db)
5	Ar	1,77 ± 0,20	A	1,73 ± 0,04
6	Ar	1,69 ± 0,10	B	
7	Vapor Superaquecido	3,05 ± 0,12	A	3,29 ± 0,24
8	Vapor Superaquecido	3,54 ± 0,20	B	

Os valores diferentes dos conteúdos de fenóis encontrados para as amostras de folhas de erva-mate desidratadas com ar quente e com vapor superaquecido são creditados a um nível mais baixo de atividade das fenol-oxidases, induzido por uma atmosfera livre de oxigênio. Hoje em dia, compreende-se bem que estas enzimas usam o oxigênio molecular para catalisar a oxidação dos fenóis (Pruidzeze et al. 2003). A atividade enzimática ou o índice final do produto oxidado nas folhas expostas a ambas as atmosferas de secagem, seria um parâmetro útil para corroborar esta premissa. Embora estes pontos não tenham sido investigados em detalhe, uma análise visual das folhas secas mostrou que a cor verde era predominante sobre a cor marrom. Isto indica que a

atmosfera de alta temperatura e livre de oxigênio aplicando-se vapor superaquecido inibiu a ação enzimática. Conseqüentemente é lógico inferir que a secagem com vapor superaquecido é um método confiável de desativação enzimática e secagem de folhas de erva-mate.

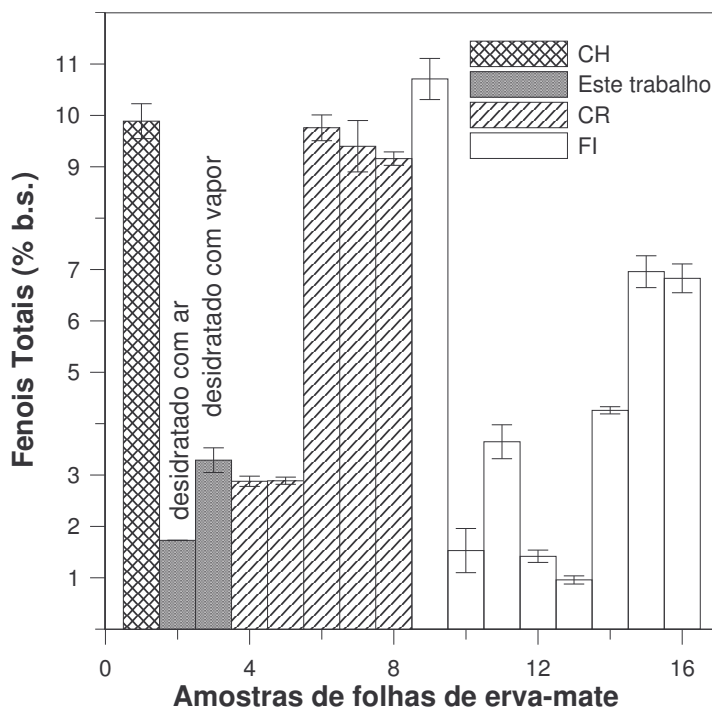


Figura 4. Comparação entre os resultados encontrados neste trabalho e dados reportados previamente na literatura para conteúdo de fenóis. CH: Chaves et al. (2001); CR: Clifford and Martinez (1990); FI: Filip et al. (2000).

Embora o objetivo principal deste estudo tenha sido o de avaliar os índices relativos dos fenóis para as folhas de erva-mate através das diferentes atmosferas de secagem, uma comparação entre estas quantidades absolutas e dados análogos anteriormente relatados na literatura é mostrada na Figura 4. Esta discussão visa apresentar uma rápida revisão dos procedimentos de extração e de análise química de compostos fenólicos, bem como investigar o efeito destes métodos no valor da concentração destes componentes químicos nas folhas secas da erva-mate (*Ilex paraguariensis*).

Três grupos de dados foram usados como referência nesta análise. O primeiro procedimento experimental envolve a extração por infusão com água quente em 100° C por 15 minutos e o ensaio de Folin-Ciocalteu para os fenóis

totais (Chaves et al. 2001). No segundo procedimento, os extratos foram preparados por refluxo das amostras em metanol a 70% (volume de 5 x 50 ml, 20 min cada vez) e analisados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência - CLAE (Clifford & Martinez 1990). No último estudo, folhas secas de *Ilex paraguariensis* St. Hil. e espécies relacionadas foram colocadas em água e aquecidas por 20 min. A quantidade total estimada de componentes fenólicos como cafeoil-derivados foi executada espectrofotometricamente em 330 nm usando o ácido clorogênico como padrão (Filip et al. 2000).

A figura 4 não mostra nenhuma tendência aparente ao comparar os índices dos fenóis encontrados neste estudo com os valores disponíveis na literatura. Este comportamento é atribuído primeiramente às flutuações aleatórias no índice inicial dos fenóis nas diferentes amostras verdes. A grande variação da concentração dos fenóis entre as amostras 4 para 8 e 9 para 16, que foram sujeitas às mesmas condições de extração e de análise, respectivamente, corroboram esta hipótese. Diferenças na composição química das folhas da erva-mate antes do processamento são causadas por condições de cultivo ou do levantamento do uso das folhas de diferentes espécies, ou ambos.

Os autores focalizam particularmente na discrepância entre os resultados experimentais obtidos neste trabalho e os apresentados por Chaves et al. (2001), que ligam para uma inferência de que esta diferença pode ser causada pelos diferentes métodos de extração usados ou ao uso de diferentes espécies de *Ilex*, porque ambos os investigadores adotaram procedimentos análogos de análise.

Uma observação particular deve ser dada ao fato de que os resultados obtidos por Clifford & Martinez (1990) não representam exatamente os índices dos fenóis totais, mas a soma dos ésteres definidos classicamente como ácidos clorogênicos (Clifford & Martinez 1990). Embora a fração dos fenóis totais que representam estes componentes não seja bem quantificada, supõe-se que é o bastante para ser usado como uma referência de confiança nesta investigação. A presença não detectada de taninos condensados e hidrolisáveis, bem como de flavolanas, corroboram esta suposição.

4. Conclusões

Um conjunto de experiências de secagem foi realizado com variação de temperatura do vapor de entrada do vapor superaquecido e do diâmetro equivalente da partícula de folhas de erva-mate em dois níveis. Um efeito significativo de ambos os parâmetros no coeficiente de secagem foi evidenciado. Este parâmetro inquirido foi calculado usando um modelo de secagem aparente externamente controlado.

À exceção de envolver vapor superaquecido ou o ar quente como atmosfera de secagem, a retenção de fenóis totais foi investigada usando as folhas de erva-mate secadas em circunstâncias operacionais idênticas. Os resultados revelam uma grande redução da concentração de fenóis como consequência da aplicação de secagem com ar quente. Teste *t* de Student também confirmou a significância estatística da influência do meio de secagem no conteúdo de fenóis com intervalo de confiança de 99% ($P \leq 0,01$).

Os resultados obtidos neste estudo apontam para um menor requerimento de energia e maior conteúdo de compostos fenólicos na substituição de métodos de secagem convencional das folhas de erva-mate por secagem com vapor superaquecido. Do ponto de vista comercial, estes resultados contribuem para uma ampliação da produção nacional das folhas de erva-mate para uma competição equilibrada no cenário internacional. Hoje em dia, a produção de erva-mate do Brasil (*Ilex paraguariensis*) (Lourenço et al. 2000) representa somente 8% da produção mundial de chá verde ou preto (*Camellia sinensis*) (International Tea Council 1997).

5. Referencias Bibliográficas

- Badin, P.; Deulofeu, V.; Galmarini, O.L. Chlorogenic and chlorogenic-like acids in maté (*Ilex paraguayensis* St. Hil). *Chemistry & Industry*, v. 6, p. 257–258, 1962.
- Chaves, M.G.; Maiocchi, M.G.; Avanza, J.R. Antioxidant activity of *Ilex dumosa* infusions. *Comunicaciones Científicas y Tecnológicas*, v. 8, n. 55, p. 1–4, 2001.
- Clifford, M.N. Review. Chlorogenic acids and other cinnamates – nature, occurrence and dietary burden. *J. Sci. Food Agri*, v. 79, p. 362–372, 1999.
- Clifford, M.N. & Martinez, J.R.R. Chlorogenic acids and purine alkaloids contents of maté (*Ilex paraguariensis*) leaf and beverage. *Food Chemistry*, v. 35, p. 13–21, 1990.
- Deventer, H.C. Van. Feasibility of energy efficient steam drying of paper and textile including process integration. *Applied Thermal Engineering*, v.17, n. (8, 9, 10), p. 1035–1041, 1997.
- Deventer, H.C. Van, Heijmans, R.M.H. Drying with superheated steam. *Drying Technology*, v. 19, n. 8, p. 2033–2045, 2001.
- Dufresne, C.J. & Farnworth, E.R. A review of latest research findings on the health promotion properties of tea. *Journal of Nutritional Biochemistry*, v. 12, n. 7, p. 404–421, 2001.
- Ferreira, E.C.; Nogueira, A.R.A.; Souza, G.B.; Batista, L.A.R. Effect of drying method and length of storage on tannin and total phenol concentrations in Pigeon pea seeds. *Food Chemistry*, v. 86, p. 17–23, 2004.
- Filip, R.; Lotito, S.B.; Ferraro, G.; Fraga, C.G. Antioxidant activity of *Ilex paraguariensis* and related species. *Nutrition Research*, v. 20, n. 10, p. 1437–1446. 2000.
- International Standards Organization. Tea – Determination of loss in mass at 103°C. ISO Standard 1573, Geneva, Switzerland, 1980.
- International Tea Council. Annual Bulletin of Statistics, International Tea Council, London, 1997.

- Jayas, D.S.; Cenkowski, S.; Pabis, S.; Muir, W.E. Review of thin-layer drying and wetting equations. *Drying Technology*, v. 9, n. 3, p. 551–588, 1991.
- Jensen, A.S. Pressurized steam drying of sludge, bark and wood chips. *Pulp & Paper Canada*, v. 97, n. 7, p. 61–64, 1996.
- Johansson, A.; Fyhr, C.; Rasmuson, A. High temperature convective drying of wood chips with air and superheated steam. *International Journal of Heat and Mass Transfer*, v. 40, p. 2843–2858, 1997.
- Lourenço, R.S.; Medrado, M.J.; Fowler, J.A.P.; Mosele, S.H. Influência do substrato no desenvolvimento de mudas de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil. *Revista Perspectiva*, v. 24, n. 88, p. 81–99, 2000.
- Montgomery, D.C. *Design and Analysis of Experiments*, 5th Ed., pp. 218–242, John Wiley & Sons, New York/NY, 2001.
- Nitao, J.K.; Birr, B.A.; Nair, M.G.; Herms, D.A.; Mattson, W.J. Rapid quantification of proanthocyanidins (condensed tannins) with a continuous flow analyzer. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 49, p. 2207–2214, 2001.
- Prachayawarakorn, S.; Soponronnarit, S.; Wetchacama, S.; Jaisut, D. Desorption isotherms and drying characteristics of shrimp in superheated steam and hot air. *Drying Technology*, v. 20, n. 3, p. 669–684, 2002.
- Pruidze, G.N.; Mchedlishvili, N.I.; Omiadze, N.T.; Gulua, L.K.; Pruidze, N.G. Multiple forms of phenol oxidase from Kolkhida tea leaves (*Camelia sinensis* L.) and *Mycelia Sterilia* IBR 35219/2 and their role in tea production. *Foodservice Research International*, v. 36, p. 587–595, 2003.
- Roberts, E.A.H. The chlorogenic acids of tea and maté. *Chem. Ind*, v. 37, p. 985–986, 1956.
- Tang, Z. & Cenkowski, S. Dehydration dynamics of potatoes in superheated steam and hot air. *Can. Agric. Eng.*, v. 42, n. 1, p. 43–49, 2000.
- Tang, Z.; Cenkowski, S.; Izydorczyk, M. Thin-layer drying of spent grains in superheated steam. *Journal of Food Engineering*, v. 67, p. 457–465, 2005.

- Tang, Z.; Cenkowski, S.; Muir, W.E. Dehydration of sugarbeet pulp in superheated steam and hot air. *Transactions of the ASAE*, v. 43, n. 3, p. 685–689, 2000.
- Tatemoto, Y.; Bando, Y.; Oyama, K.; Yasuda, K.; Nakamura, M.; Sugimura, Y.; Shibata, M. Effects of operational conditions on drying characteristics in closed superheated steam drying. *Drying Technology*, v. 19, n. 7, p. 1287–1303, 2001.
- Temple, S.J.; Boxtel, A.J.B. Van. Modelling of fluidized bed drying of black tea. *Journal of Agricultural Engineering Research*, v. 74, n. 2, p. 203–212, 1999.
- Wiriyumpaiwong, S.; Soponronnarit, S.; Prachayawarakorn, S. Comparative study of heating processes for full-fat soybeans. *Journal of Food Engineering*, v. 65, p. 371–382, 2004.

CONCLUSÕES

O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência de fatores ligados ao ambiente, à genética e ao processamento de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) nos teores das principais metilxantinas presentes em erva-mate, cafeína e teobromina, e nos teores de dois compostos fenólicos, ácido clorogênico e ácido cafeico.

Para alcançar o objetivo proposto, cinco experimentos foram conduzidos para detectar os teores dos compostos químicos e correlacioná-los com as variáveis propostas. Estas variações foram determinadas em dezesseis progênies de erva-mate oriundas de quatro procedências, quando cultivadas em três localidades do Paraná. As amostras foram obtidas a partir de uma parcela de seis indivíduos.

Num segundo experimento cinquenta e uma progênies, oriundas de cinco procedências, foram analisadas a partir de amostras obtidas por árvore. Foi possível observar, que ocorreram diferenças significativas nos teores de metilxantinas totais, cafeína e teobromina, além dos compostos fenólicos totais, ácido clorogênico e ácido cafeico nas progênies analisadas. Estes dados apontam para uma diversidade química na espécie, fato que pode ser melhor explorado do ponto de vista comercial.

Observou-se que a diversidade química para todos os compostos foi significativa nas três localidades de cultivo. Por pertencerem ao mesmo tipo climático, acredita-se que esta diversidade está relacionada a fatores ligados ao solo. Quanto às procedências, observou-se uma maior influência nos teores de metilxantinas. Acredita-se que a origem da progênie pode influenciar os teores de cafeína e teobromina, além dos fatores ambientais citados anteriormente.

Para verificar a influência genética nos teores dos compostos químicos de erva-mate, procurou-se determinar as estimativas de herdabilidade individual

no sentido restrito no bloco e do coeficiente de variação genética aditiva. Estes parâmetros genéticos foram elevados para a cafeína e a teobromina, e de média a baixa magnitude para os ácidos clorogênico e cafeico. Conclui-se que, para os teores de cafeína e de teobromina ganhos consideráveis podem ser obtidos pela seleção de árvores no teste combinado de procedência e progênie e a sua transformação em pomar de sementes por mudas. Outra estratégia é clonagem dos melhores indivíduos e recombiná-los em um pomar de sementes clonal.

Outros três experimentos foram conduzidos para verificar influência de processos tecnológicos, e de processamento nos teores dos compostos químicos presentes na erva-mate. Ao final da série de experimentos realizados concluiu-se que os métodos de extração de metilxantinas, baseados na extração ácida e na maceração hidroalcoólica, na erva-mate não diferiram estatisticamente na obtenção dos valores médios.

Os teores de cafeína, obtidos por extração supercrítica, foram superiores aos teores de teobromina em todas as amostras analisadas. Estes dados corroboram aqueles descritos na literatura, pois os valores determinados neste trabalho são de mesma magnitude. A EFSC, usando o dióxido de carbono como solvente, mostrou seletividade na extração de metilxantinas, comparando-se com extração por solventes convencionais, principalmente quanto às características genéticas particulares de cada progênie.

Houve diferença significativa nos teores de cafeína e de teobromina entre as progênies e nas três localidades de cultivo, e entre as dezesseis progênies analisadas, mesmo com a utilização de extração com fluido supercrítico. Verificou-se que a progênie 10 apresentou menores teores de cafeína e maiores de teobromina, nas três localidades de cultivo, indicando que produtos com baixos teores de cafeína podem ser obtidos utilizando essa progênie.

Uma experiência de secagem foi realizada com variação de temperatura do vapor de entrada do vapor superaquecido e do diâmetro equivalente da partícula de folhas de erva-mate em dois níveis. Um efeito significativo de ambos os parâmetros no coeficiente de secagem foi evidenciado. Este parâmetro

inquirido foi calculado usando um modelo de secagem aparente externamente controlado.

A retenção de fenóis totais foi investigada usando as folhas de erva-mate secadas em circunstâncias operacionais idênticas, à exceção de envolver vapor superaquecido ou o ar quente como atmosfera de secagem. Os resultados revelaram uma redução significativa da concentração de fenóis como consequência da aplicação de secagem com ar quente. Os resultados obtidos neste estudo apontam para um menor requerimento de energia e maior conteúdo de compostos fenólicos na substituição de métodos de secagem convencional das folhas de erva-mate por secagem com vapor superaquecido. Do ponto de vista comercial, estes resultados contribuem para uma ampliação da produção nacional das folhas de erva-mate, para uma competição equilibrada no cenário internacional.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[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](#)