

**ÂNGELA MARIA WOLSKI BORILLE**

**RELAÇÃO ENTRE COMPOSTOS FITOQUÍMICOS E O NITROGÊNIO EM  
MORFOTIPOS DE ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis* St.Hil.)**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de mestre em Agronomia-Área de Concentração “Ciência do Solo” do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Bruno Reissmann

CURITIBA

2004

**ÂNGELA MARIA WOLSKI BORILLE**

**RELAÇÃO ENTRE COMPOSTOS FITOQUÍMICOS E O NITROGÊNIO EM  
MORFOTIPOS DE ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis* St.Hil.)**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de mestre em Agronomia-Área de Concentração “Ciência do Solo” do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Bruno Reissmann

CURITIBA

2004

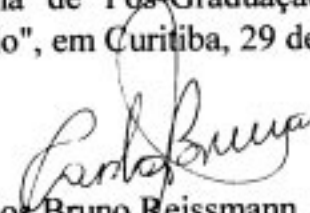


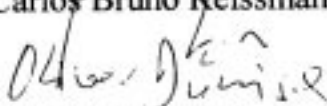
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
DEPARTAMENTO DE SOLOS E ENGENHARIA AGRÍCOLA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA: CIÊNCIA DO SOLO(MESTRADO)  
Rua dos Funcionários, 1540-Curitiba/PR-80035-050-Fone/Fax 41-350-5648  
Página: [www.pgcsolo.agrarias.ufpr.br/](http://www.pgcsolo.agrarias.ufpr.br/)  
E-mail: [pgcsolo@ufpr.br](mailto:pgcsolo@ufpr.br)

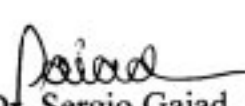
## PARECER

Os Membros da Comissão Examinadora, designados pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia-Área de Concentração "Ciência do Solo" para realizar a arguição da Dissertação de Mestrado, apresentada pela candidata **ÂNGELA MARIA WOLSKI BORILLE**, sob o título "**Relação entre compostos fitoquímicos e N em três morfotipos de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.)**", requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Agronomia-Área de Concentração "Ciência do Solo" do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná, após haverem analisado o referido trabalho e arguído o candidato, são de Parecer pela "**APROVAÇÃO**" da Dissertação, completando assim, os requisitos necessários para receber o diploma de **Mestre em Agronomia-Área de Concentração "Ciência do Solo"**.

Secretaria do Programa de Pós-Graduação em Agronomia-Área de Concentração "Ciência do Solo", em Curitiba, 29 de novembro de 2004.

  
Prof. Dr. Carlos Bruno Reissmann, Presidente.

  
Prof. Dr. Oliver Dünisch, Iº. Examinador.

  
Engenheiro Florestal Dr. Sergio Gaiad, IIº. Examinador.



## AGRADECIMENTOS

- A Deus, por estar sempre comigo.
- Ao meu marido Jairo, pelo amor, carinho, atenção, compreensão e incentivo dispensados em todos os momentos.
- À minha família e amigos, pelo incentivo, preocupação sempre nos momentos críticos e compreensão pela minha ausência.
- Ao professor Carlos Bruno Reissmann, pela orientação, contribuição, estímulo, confiança e amizade.
- Ao professor Renato João Sossela de Freitas, pela co-orientação, atenção, amizade e por ter proporcionado facilidade no acesso ao laboratório de Química Analítica Aplicada, Departamento de Engenharia Química – Setor de Tecnologia.
- Ao professor Renato Marques, pela co-orientação, disponibilidade e colaboração.
- À Ervateira Bitumirim, em especial ao Sr. Afonso Oliszeski e Dalnei Neiwerth, pela disponibilização da área, pelo apoio logístico e de campo.
- Ao CNPq, pelo apoio financeiro na pesquisa.
- Ao professor Henrique Soares Koehler, pelas sugestões e auxílio na realização das análises estatísticas.
- À professora Maria Regina Boeger, pelo apoio, disponibilidade e colaboração
- À minha irmã Ana Carla, pelo apoio, encorajamento, sugestões e ajuda inesgotável.
- Aos professores, funcionários e colegas do Departamento de Engenharia Química, pela acolhida, disponibilidade e colaboração no desenvolvimento deste trabalho.
- Aos professores, funcionários e colegas do Departamento de Solos e Engenharia Agrícola, pela cooperação e auxílio na execução deste trabalho.
- Aos colegas do Centro Estadual de Educação Profissional de Curitiba, pelo apoio, compreensão e ajuda.
- Aos colegas Daniel e Jozeliz, pelo auxílio técnico.
- Aos colegas de curso e amigos, pelo convívio e apoio.
- A todos aqueles que de alguma maneira colaboraram nesta etapa de crescimento profissional e pessoal.

## SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS.....	v
LISTA DE QUADROS.....	v
LISTA DE TABELAS.....	vi
<b>LISTA DE ABREVIATURAS.....</b>	<b>vii</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>viii</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>ix</b>
<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>01</b>
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	03
2.1 HISTÓRICO.....	03
2.2 DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA E ÁREA DE CULTIVO.....	04
2.3 ASPECTOS EDAFO-CLIMÁTICOS.....	05
2.4 ASPECTOS FITOSSOCIOLÓGICOS.....	07
2.5 ASPECTOS BOTÂNICOS E TAXONÔMICOS DA ERVA-MATE.....	08
2.6 ASPECTOS REPRODUTIVOS.....	10
2.7 BENEFICIAMENTO E INDUSTRIALIZAÇÃO.....	10
2.8 COMPONENTES QUÍMICOS .....	15
2.8.1 Alcalóides.....	22
2.8.2 Compostos fenólicos – Taninos.....	24
2.8.3 Nitrogênio foliar.....	28
2.8.4 Nitrogênio no solo.....	29
2.9 ASPECTOS TERAPÊUTICOS E FARMACOLÓGICOS DA ERVA-MATE.....	30
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>36</b>
3.1 LOCAL DE ESTUDO.....	36
3.2 ANÁLISE QUÍMICA FOLIAR.....	39
3.2.1 Determinação de N total das folhas de Erva-Mate.....	39
3.2.2 Determinação da Cafeína, Teobromina e Teofilina.....	40
3.2.3 Análise de Taninos (Polifenóis totais).....	41
3.3 ANÁLISE DE SOLO.....	42
3.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E TRATAMENTOS.....	42
3.5 ANÁLISE DE CORRELAÇÕES SIMPLES.....	43

<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	44
4.1 ANÁLISE QUÍMICA FOLIAR.....	44
4.1.1 Determinação do N-total Foliar.....	45
4.1.2 Determinação da Cafeína Teobromina e Teofilina.....	46
4.1.3 Determinação de Taninos.....	49
4.2 ANÁLISE DO SOLO.....	50
4.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E TRATAMENTOS.....	51
4.4 ANÁLISE DE CORRELAÇÕES SIMPLES.....	53
<b>5 CONCLUSÃO</b> .....	58
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	59
<b>ANEXOS</b> .....	68

## LISTA DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1 - ÁREA DE DISTRIBUIÇÃO NATURAL DA ERVA-MATE.....	4
FIGURA 2 - TIPOS CLIMÁTICOS DE KOEPPEN PARA REGIÃO DE OCORRÊNCIA NATURAL DE ERVA-MATE.....	6
FIGURA 3 - FLUXOGRAMA DO PROCESSO DE BENEFICIAMENTO DA ERVA-MATE.....	11
FIGURA 4 - ESTRUTURA MOLECULAR DA CAFEÍNA, TEOBROMINA, TEOFILINA, PURINA, ÁCIDO ÚRICO E DA XANTINA.....	23
FIGURA 5 - METABOLISMO DA CAFEÍNA.....	33
FIGURA 6 - METABOLISMO DA TEOBROMINA.....	34
FIGURA 7 - METABOLISMO DA TEOFILINA.....	35
FIGURA 8 - ERVA-MATE MORFOTIPO AMARELINHA.....	38
FIGURA 9 - ERVA-MATE MORFOTIPO CINZA.....	38
FIGURA 10 - ERVA-MATE MORFOTIPO SASSAFRÁS.....	38

## LISTA DE QUADROS

	Página
QUADRO 1 - MATRIZ DE CORRELAÇÕES ENTRE AS VARIÁVEIS QUÍMICAS EM FOLHAS JÓVENS DE TRÊS MORFOTIPOS DE ERVA-MATE.....	54
QUADRO 2 - MATRIZ DE CORRELAÇÕES ENTRE AS VARIÁVEIS QUÍMICAS EM FOLHAS MADURAS DE TRÊS MORFOTIPOS DE ERVA-MATE.....	55

**LISTA DE TABELAS**

	Página
TABELA 1 - COMPONENTES QUÍMICOS DA ERVA-MATE, SEGUNDO PECKOLT.....	16
TABELA 2 - COMPOSIÇÃO QUÍMICA COMPARATIVA DO CHÁ CAFÉ E ERVA-MATE.....	16
TABELA 3 - TRATAMENTOS E COMBINAÇÕES DO FATOR A (IDADE DAS FOLHAS) COM O FATOR B (MORFOTIPO).....	43
TABELA 4 - PESO (G) EQUIVALENTE A 100 FOLHAS EM FOLHAS JOVENS E MADURAS NOS TRÊS MORFOTIPOS DE ERVA-MATE.....	44
TABELA 5 - TEORES DE N-TOTAL FOLIAR DE TRÊS MORFOTIPOS DE ERVA-MATE.....	45
TABELA 6 - TEORES MÉDIOS DE CAFEÍNA E TEOBROMINA EM TRÊS MORFOTIPOS.....	46
TABELA 7 - TEORES MÉDIOS DOS TANINOS EM TRÊS MORFOTIPOS DE ERVA-MATE.....	49
TABELA 8 - TEORES MÉDIOS DE N-TOTAL DO SOLO.....	51
TABELA 9 - ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS DADOS REFERENTE AS VARIÁVEIS ANALISADAS.....	52
TABELA 10 - MÉDIAS DA TEOBROMINA QUANDO SUBMETIDAS AOS DOIS NÍVEIS DO FATOR <b>A</b> (IDADE DAS FOLHAS) E AOS TRÊS NÍVEIS DO FATOR <b>B</b> (MORFOTIPOS).....	53
TABELA 11 - MÉDIAS DOS TANINOS QUANDO SUBMETIDAS AOS DOIS NÍVEIS DO FATOR <b>A</b> (IDADE DAS FOLHAS) E AOS TRÊS NÍVEIS DO FATOR <b>B</b> (MORFOTIPOS).....	53



**LISTA DE ABREVIATURAS**

- et al. - e outros
- var. - Variedade
- HPLC - High Performace Liquid Chromatography (Cromatografia líquida de alta eficiência)
- UV - Ultra Violeta
- TFSA - Terra fina seca ao ar
- AJ - Morfotipo amarelinha – folhas jovens
- AM - Morfotipo amarelinha – folhas maduras
- CJ - Morfotipo cinza – folhas jovens
- CM - Morfotipo cinza – folhas maduras
- SJ - Morfotipo sassafrás – folhas jovens
- SM - Morfotipo sassafrás – folhas maduras
- CG-EM - Cromatógrafo Gasoso acoplado a um Espectrometro de Massa
- N-total - Nitrogênio total

## RESUMO

### RELAÇÃO ENTRE COMPOSTOS FITOQUÍMICOS E O NITROGÊNIO EM MORFOTIPOS DE ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis* St.Hil.)

O consumo da erva-mate no mercado brasileiro vem evoluindo progressivamente, porém o produto ainda é limitado comercial e industrialmente. As maiores possibilidades de ampliação do mercado parecem ser oferecidas pela diversificação dos produtos oferecidos e pela modernização do processo de produção, onde sua adequação tecnológica e otimização dos processos são fundamentais. No entanto, existem poucas informações sobre a variação do padrão fitoquímico para usos futuros e alternativos da erva-mate. O processo de exploração tem sido pouco seletivo, isto é, tem sido dada pouca importância a aspectos estacionais do desenvolvimento, bem como de partes da planta especialmente selecionadas para um produto mais elaborado. Focalizando a atenção ao fato da mesma apresentar diferentes “morfotipos”, que podem vir a ser fornecedores de um produto com características químicas especiais para o consumo humano, o presente trabalho teve por objetivo: a quantificação de cafeína, teobromina, teofilina, através de HPLC; taninos, através de Espectrofotômetro de UV-Visível; Nitrogênio total foliar, através de micro-Kjeldahl; Nitrogênio total do solo, conforme EMBRAPA (1997). Avaliações estatísticas foram realizadas usando a ANOVA e a análise de correlações. As análises químicas foram realizadas em folhas jovens e maduras para cada morfotipo nomeados de “amarelinha”, “cinza” e “sassafrás”, coletados em erval comercial em Ivaí do Sul – PR, em julho de 2002, pertencente a ervateira Bitumirim. Os resultados analíticos demonstraram que os três morfotipos apresentaram altos teores destes componentes acima mencionados, porém há diferenças estatísticas significativas nas folhas maduras e em formação para a teobromina, e diferenças estatísticas significativas nos taninos entre idade das folhas e entre os morfotipos. A cafeína é mais concentrada no morfotipo “sassafrás” independente da idade das folhas. A teobromina é mais concentrada nas folhas maduras do morfotipo “cinza”. Os taninos são mais concentrados nas folhas em formação do morfotipo “sassafrás”, enquanto no morfotipo “cinza” são mais concentrados nas folhas maduras. Observou-se as seguintes correlações: nitrogênio x alcalóides; nitrogênio x taninos; alcalóides x taninos; e entre os alcalóides, cafeína e teobromina. O maior número de correlações foi observado no morfotipo cinza e há indícios de que o morfotipo “cinza” apresenta as melhores características para futuras padronizações do produto erva-mate ou de seus produtos acabados.

**Palavras-chave:** erva-mate, *Ilex paraguariensis*, alcalóides, metilxantinas, Nitrogênio.

## ABSTRACT

### RELATION BETWEEN PHYTOCHEMICAL COMPOUNDS AND NITROGEN IN ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis* St. hil.) MORPHOTYPES

The use of erva-mate in the Brazilian market is growing progressively although the product is still commercially and industrially limited. The greatest possibilities of improvement seem to be related to modernization in the production and product diversity. However, there are only few informations about standard in phytochemical diversity for alternative and multiple uses of mate. The exploitation has been less selective and little attention have been directed to seasonal aspects of the plants parts and development to achieve a more elaborated product for consumption. Focusing on the fact that the erva-mate tree presents different morphotypes that may offer products with special chemical characteristics for human consumers, the present work had the following objectives: Caffeine, theobromine and theophylline quantification with HPLC; tannins determination using UV-VIS spectroscopy equipment; and total Nitrogen using Kjeldahl procedure for soil and plant material (EMBRAPA, 1997). Statistical evaluation was performed using ANOVA and correlation analysis. The chemical analysis was performed on mature and young leaves for each morphotypes named “amarelinha”, “cinza” and “sassafras”, collected from a commercial plantation at Ivaí do Sul – PR State, belonging to Bitumirim Industry, in July 2002. The analytical results showed that all three morphotypes presented high contents of the above mentioned components. However there are statistics differences considering mature and young leaves for theobromine, and for tannins considering leaf age and morphotypes. Caffeine is more concentrated in “sassafras” morphotypes independent of leaf age. Theobromine is more concentrated in mature leaves of “cinza” morphotypes. Tannins are more concentrated in young leaves of “sassafras” morphotypes; while in “cinza” morphotypes they are more concentrated in mature leaves. There have been observed the following correlations: Nitrogen x alkaloids, Nitrogen x tannins; alkaloids x tannins, and among the alkaloids, caffeine and theobromine . The highest number of correlation was observed for “cinza” morphotypes. There are indications that “cinza” morphotype shows the best characteristics for future standardization of the erva-mate products.

**Key Words:** erva-mate, mate, *Ilex paraguariensis*, alkaloids, methylxanthines, Nitrogen.

## 1 INTRODUÇÃO

A erva-mate foi descoberta pelos índios e cultivada pelos missionários Jesuítas no século XVI. Observando que os índios eram mais ágeis, fortes e resistentes por consumirem grande quantidade de mate, os Jesuítas criaram por hábito o consumo do mate para melhorar seu preparo, vencerem longas caminhadas e resistirem a doenças, o que contribuiu para a expansão dos costumes por onde passavam. Todos os que experimentavam aprovavam seu sabor e seus efeitos estimulantes e tonificantes. Por isso, dois séculos mais tarde, a bebida é conhecida nos quatro cantos do mundo.

As folhas da erva-mate são utilizadas como chimarrão, tererê, mate solúvel e chá mate. Além das tradicionais bebidas, a erva-mate é também utilizada em preparações farmacêuticas, tendo sido incorporada por várias farmacopéias. Sendo recomendada, em função das propriedades terapêuticas, como estimulante, antiinflamatório, anti-reumático, tônico e diurético (GOSMANN, 1989). Da erva-mate podem ser obtidas balas, caramelos, sorvetes, refrigerantes, cosméticos, produtos de higiene, medicamentos, corantes e detergentes (especialmente para uso em hospitais). Vários estudos fitoquímicos com o objetivo de explorar seu potencial têm sido realizados.

O consumo da erva-mate no mercado brasileiro vem evoluindo progressivamente, porém o produto ainda é limitado comercial e industrialmente. As maiores possibilidades de ampliação do mercado parecem ser oferecidas pela modernização do processo de produção, onde sua adequação tecnológica e otimização dos processos são fundamentais, e pela diversificação dos produtos oferecidos (CAMPOS *et al.*, 1996).

Com os desmatamentos ocorridos ao longo do tempo, devido à expansão da agricultura, ocorreu uma crescente degradação dos povoamentos naturais da erva-mate, sendo então necessário plantar esta espécie, para que fosse atendida a demanda do mercado. Com este aumento de área cultivada, surgiu a preocupação de incrementar a produtividade e qualidade do produto (FOSSATI, 1997). Em termos comparativos, os ervais nativos ocorrem num solo de mata, com propriedades físicas e biológicas diferentes dos ervais cultivados em solos agrícolas. Para melhor entendimento, as diferenças reais se existirem, carecem de estudos prospectivos e

análises laboratoriais sobre as alterações físico-químicas provenientes da insolação e demais fatores da natureza (RÜCKER e CIRIO, 2000).

No entanto, existem poucas informações sobre a variação do padrão fitoquímico para usos futuros e alternativos da erva-mate. O processo de exploração tem sido pouco seletivo, isto é, tem sido dada pouca importância a aspectos estacionais do desenvolvimento, bem como de partes da planta especialmente selecionadas para um produto mais elaborado. Focalizando a atenção em aspecto bem conhecido entre pessoas do campo, bem como entre os pesquisadores da erva-mate, seria possível otimizar sua utilização em função do fato da mesma apresentar diferentes aspectos fenotípicos, denominados a priori de “morfotipos”, que podem vir a ser fornecedores de um produto com características especiais e aplicações específicas.

Neste sentido o presente trabalho teve como objetivo:

- Obter os teores de cafeína, teobromina, teofilina e taninos pertinentes a cada morfotipo, com base na amostragem de folhas jovens e folhas maduras;
- Quantificar o nitrogênio que ocorre no solo e nas folhas de erva-mate para os três morfotipos pré-estabelecidos;
- Identificar possíveis correlações entre nitrogênio das folhas e o nitrogênio do solo em cada morfotipo;
- Identificar possíveis correlações entre nitrogênio do solo e os alcalóides em cada morfotipo;
- Identificar possíveis correlações entre nitrogênio das folhas e os alcalóides em cada morfotipo;
- Identificar possíveis correlações entre nitrogênio e os taninos em cada morfotipo;
- Identificar possíveis correlações entre os alcalóides e os taninos em cada morfotipo;
- Identificar possíveis correlações entre os alcalóides em cada morfotipo;

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 HISTÓRICO

No século XIX, o naturalista francês August de Saint Hilaire, em viagem pela América, esteve várias vezes no Brasil. Quando regressou a seu país, em 1822, entregou um relatório destinado à Academia de Ciências do Instituto da França, propondo a designação de *Ilex paraguariensis* ou *Ilex mate* à planta encontrada na América do Sul (FAGUNDES, 1980).

O gênero e a espécie depois de identificados foram publicados nas memórias do Museu de História Natural de Paris. O naturalista declarou que suas coletas foram realizadas nas proximidades de Curitiba, que na época pertencia à Província de São Paulo, do qual foi desmembrada em 1853. O nome *Ilex paraguariensis* foi devido a Saint Hilaire considerá-la exatamente igual à erva do Paraguai (MAZUCHOWSKI e RÜCKER, 1993).

A erva-mate, *Ilex paraguariensis* St. Hilaire, já era conhecida desde a antiguidade pelos aborígenes Tupi-Guarani do Brasil, Paraguai e Argentina que a chamavam de “Ca-a”. Estes começaram a cultivá-la sob a orientação dos jesuítas no século XVI, para obter as folhas usadas em infusões que deram origem a duas bebidas tradicionais o “tererê” no Paraguai e Mato Grosso do Sul e o chimarrão nos estados do sul do Brasil (COSTA, 1989).

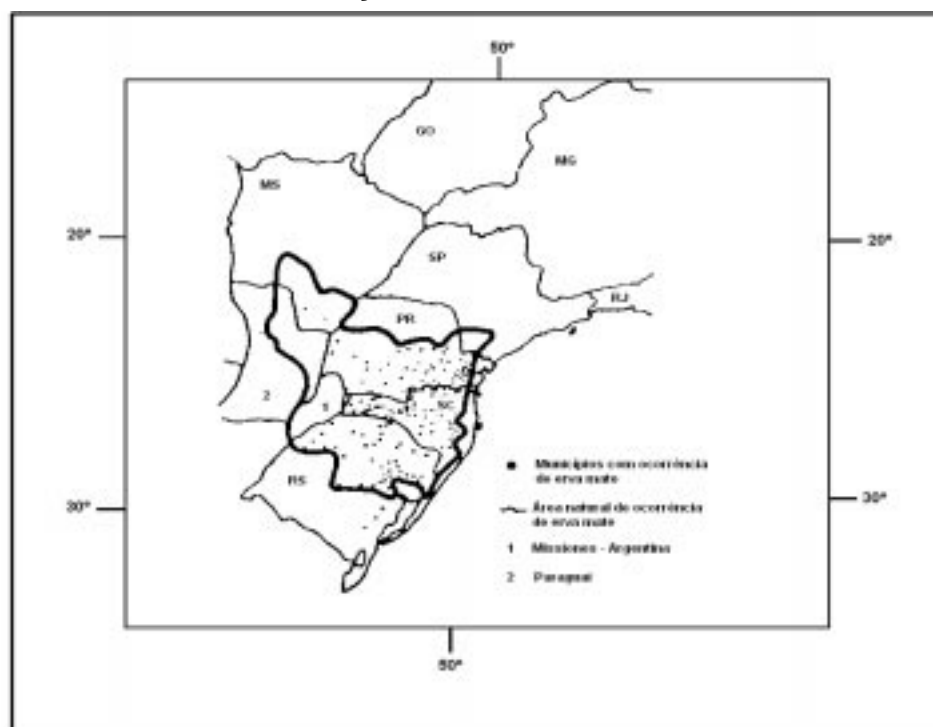
Concomitante a implantação de ervais, os jesuítas aprofundaram-se no estudo do sistema vegetativo da planta. Foram os precursores do cultivo sistemático, aliado à identificação da época de colheita de sementes, à produção de mudas e condução de erveiras (MAZUCHOSWKI e RÜCKER, 1993).

Até o início da Primeira Guerra Mundial, a erva-mate era considerada o esteio econômico do Paraná, quando então a madeira começou a conquistar a condição de principal produto, nesta época havia no Paraná mais de noventa engenhos para beneficiamento da erva-mate, sendo o produto exportado, sobretudo para o mercado latino (MAZUCHOSWKI e RÜCKER, 1993; ANDRADE, 1999).

## 2.2 DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA E ÁREA DE CULTIVO

A área de dispersão natural da erva-mate abrange aproximadamente 540.000 km<sup>2</sup>, compreendendo territórios do Brasil, Argentina e Paraguai, situados entre as latitudes 21° e 30° sul e longitudes 48°30' e 56°10' oeste com altitudes variáveis entre 500 e 1000 m. No Brasil, sua área de dispersão inclui a região centro-oeste do Rio Grande do Sul, quase todo o estado de Santa Catarina. Avança pela região centro-sul do Paraná estendendo-se a nordeste para o estado de São Paulo, limitando-se neste estado à pequena zona situada à região sudeste. Por outro lado, a oeste do Paraná segue em direção à região do sul Mato Grosso do Sul, abrangendo ainda parte da Província de Misiones na Argentina e a parte oriental do Paraguai, situada na região da Serra de Amanhay-Mbaracayú (REITZ e EDWIN, 1967, CORRÊA, 1969, OLIVEIRA e ROTTA, 1985, SANTOS, 1985, MAZUCHOWSKI, 1989, EMATER, 1991, VALDUGA, 1995), conforme mostra o esquema gráfico da figura 1.

FIGURA 1 – ÁREA DE DISTRIBUIÇÃO NATURAL DA ERVA-MATE



FONTE: OLIVEIRA e ROTTA (1985).

Pontos isolados com ocorrência da espécie, correspondendo a pequenas manchas de matas com ocorrência do pinheiro-do-paraná (*Araucaria angustifolia*), são encontrados na região de Campos do Jordão, a leste de São Paulo, região sudeste de Minas Gerais e sul do Rio Grande do Sul (OLIVEIRA e ROTTA, 1985, MAZUCHOWSKI, 1989).

Basicamente, a erva-mate cresce espontaneamente em regiões constituídas por matas de *Araucaria angustifolia* e matas subtropicais do sul do Brasil (OLIVEIRA e ROTTA, 1985, BOUGARDT, 2000).

A caracterização da importância sócio-econômica da erva-mate vem sendo mostrada pela análise da área ocupada e dos produtores envolvidos frente à produção ervateira. De acordo com as informações obtidas pelo levantamento desenvolvido pela estrutura técnica da EMATER-Paraná, em 1995, verificou-se que 176 municípios cultivavam a erva-mate. A área ocupada pelos ervais abrangia aproximadamente 283 mil hectares, sendo 91,2% de ervais nativos e somente 8,8% de ervais plantados (DUARTE, 2000).

As regiões de União da Vitória, Pato Branco, Guarapuava e Irati destacam-se como as maiores produtoras do Estado do Paraná com predominância de ervais nativos e concentrando 81% da produção ervateira paranaense (PARANÁ, 1997; DUARTE, 2000).

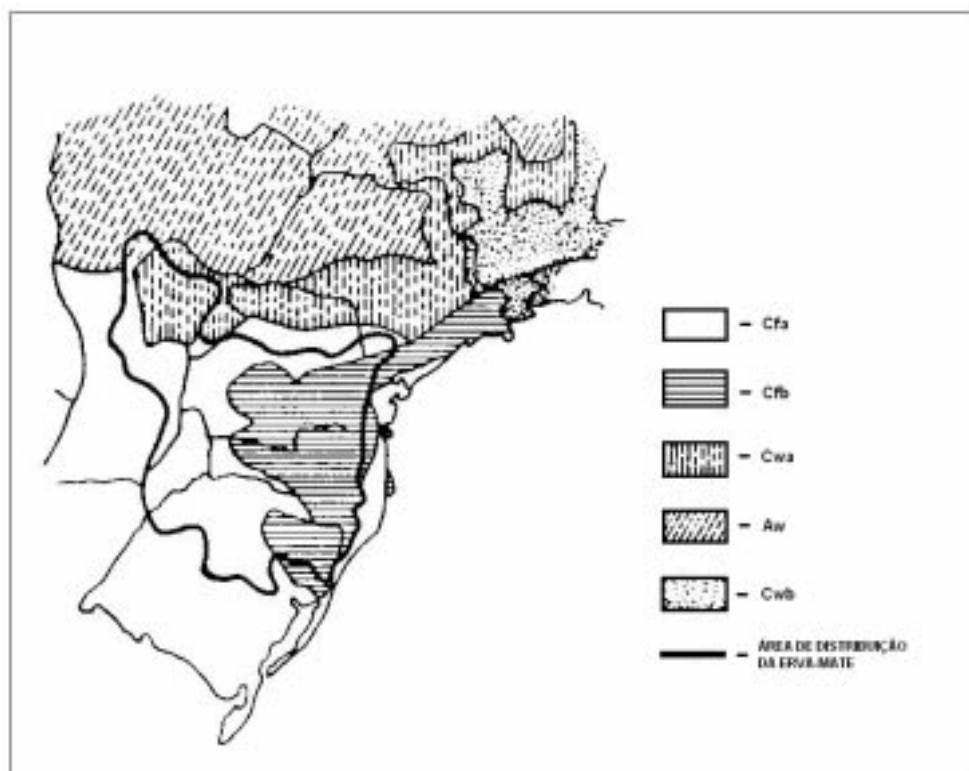
## 2.3 ASPECTOS EDAFO-CLIMÁTICOS

No mapeamento climático segundo Koeppen (figura 2), que considera a interação temperatura e precipitação para classificação dos tipos climáticos, fica evidenciado que a distribuição predominante da erva-mate é abrangida pelos tipos climáticos Cfb, seguido pelo Cfa (OLIVEIRA e ROTTA, 1985).

Toda a área está compreendida na região sul-americana de climas pluviais temperados. Em sua grande maioria, as chuvas são regulares, distribuídas por todos os meses do ano, promovendo um clima sempre úmido, com variações de temperaturas do mês mais quente superiores (cfa) ou inferiores (cfb) a 22°C. Há pequena ocorrência dos tipos climáticos Cwa (temperado ou subtropical com período seco no inverno) e Aw (tropical com período seco no inverno) (OLIVEIRA e ROTTA, 1985).



FIGURA 2 – TIPOS CLIMÁTICOS DE KOEPPEN PARA REGIÃO DE OCORRÊNCIA NATURAL DE ERVA-MATE.



FONTE: OLIVEIRA e ROTTA (1985).

A média de temperatura anual apropriado ao desenvolvimento da erva-mate é 20 a 23°C, segundo LINHARES<sup>1</sup> e IBDF<sup>2</sup>, citados por OLIVEIRA e ROTTA (1985).

A precipitação média anual está em torno de 1500 mm, variando de 1100 a 2300 mm. O regime de chuvas é uniforme na maior parte da sua área (Região Sul) e estacional, com chuvas concentradas no verão, com estação seca pouco pronunciada no inverno, podendo haver deficiência hídrica leve no noroeste do Paraná e sul do Mato Grosso do Sul (CARVALHO, 1994).

De maneira geral, a erva-mate prefere solos sem deficiência hídrica e permeável, não sendo encontrada em solos hidromórficos. Espécie tolerante à baixa fertilidade natural, resistindo a solos degradados com baixo teor de nutrientes

<sup>1</sup> LINHARES, T. **Historia Econômica do Mate**. Rio de Janeiro, José Olímpio, 1969,522 p.

<sup>2</sup> IBDF. Departamento de Industrialização e Comercialização, Brasília – DF. **Erva-mate; origem, cultura e industrialização**. [s.l.] 1975. 25 p.

trocáveis e alto teor de alumínio. Segundo FERREIRA FILHO<sup>3</sup>, citado por OLIVEIRA e ROTTA (1985), a textura do solo da região de ocorrência da erva-mate é muito variável, preferindo as terras que mostram equilíbrio na presença de areia, argila e silte. A presença é mais freqüente em solos de textura média (entre 15% e 35% de argila) e argilosa (acima de 35%).

Grande parte da ocorrência da erva-mate é constituída por formação basalto, com presença dominante dos latossolos, dando preferência pelos solos mediantemente profundos a profundos, não ocorrendo ou com ocorrência esparsa em solos rasos (litólicos eutróficos) (OLIVEIRA e ROTTA, 1985).

A cultura não suporta solos compactados, pedregosos ou encharcados, uma vez que 80% de seu sistema radicular se concentra nos primeiros 45 cm do solo (ARANDA, 1986).

Também se deve evitar o plantio da erva-mate em solos muito revolvidos por lavouras, uma vez que haverá ausência de endomicorrizas, determinando um mau desenvolvimento da planta (MAZUCHOWSKI, 1989). Além disso, a cultura requer solos ricos em nitrogênio, potássio, ferro e fósforo (MAYOL, 1993).

## 2.4 ASPECTOS FITOSSOCIOLÓGICOS

A erva-mate nativa ocorre nos planaltos e associam-se as florestas com Araucária, onde se apresenta como espécie ciófito e seletiva higrófito, formando agrupamentos densos (REITZ et al., 1979). Além da *Araucaria angustifolia*, as espécies florestais mais comuns são: imbuia (*Ocotea porosa*), cedro (*Cedrela fissilis*), pau-marfim (*Balfourodendron riedelianum*), canjarana (*Cabralea canjerana*), alecrim (*Holocalyx balansae*), pinho-bravo (*Podocarpus sp*), mirtáceas, lauráceas e leguminosas diversas, entre outras (OLIVEIRA e ROTTA, 1985).

Com relação à presença nas matas subtropicais do Alto Uruguai, convém salientar sua presença também nos pontos de contato com a mata dos pinhais. Segundo MAZUCHOWSKI (1989) as espécies florestais mais comuns nessa associação são: peroba (*Aspidosperma polyneuron*), cambreúva (*Myrcarpus frondosus*), copaíba (*Cabralea canjerana*) e imbuia (*Ocotea porosa*), entre outras.

---

<sup>3</sup> FERREIRA FILHO, J. C. Cultura e preparo da erva-mate. Rio de Janeiro, Serviço de Informação Agrícola, 1948. 53 p.

## 2.5 ASPECTOS BOTÂNICOS E TAXONÔMICOS DA ERVA-MATE

A erva-mate, *Ilex paraguariensis*, pertence à subdivisão Angiospermae, à classe Dicotyledoneae, à subclasse Archichlamydeae, à ordem Celastrales, à família Aquifoliaceae, ao gênero *Ilex L.* e à espécie *Ilex paraguariensis* St. Hil. (ENGLER<sup>4</sup> citado por VALDUGA, 1995).

A família das Aquifoliaceae possui muitas espécies diferentes, pois só o gênero *Ilex* tem de 550 a 600 espécies, das quais 60 ocorrem no Brasil. A *Ilex paraguariensis* tem algumas variedades que apresentam pequenas diferenças entre si, como o formato ou tamanho das folhas e a cor do talo. No entanto, segundo o botânico Renato Kaspary, apenas cinco espécies se prestam ao fabrico da erva-mate beneficiada (URBAN, 1990; ANUÁRIO BRASILEIRO DA ERVA MATE, 1999).

MATTOS (1985) fez minuciosa revisão taxonômica de *Ilex paraguariensis*, apresentando a evolução da nomenclatura da espécie e observou dificuldades do ponto de vista da sistemática, por ser uma planta polimorfa, levando aos menos familiarizados a atribuírem novas espécies, variedades ou formas às diferenças de um exemplar para outro. Estas diferenças, normalmente relacionadas ao tamanho e consistência das folhas, são atribuídas às variações ecológicas, à própria peculiaridade da espécie ou a uma reação da planta aos cortes sucessivos na exploração.

Segundo CARPANEZZI (1995), a erva-mate em estado natural é umbrófila, de crescimento lento ou moderado, típica de florestas maduras, onde pode atingir densidade de centenas de plantas por hectare. Quando cultivadas em locais abertos, ficam sujeitas a condições adversas que predispõem fisiologicamente ao aparecimento de pragas e doenças. CARPANEZZI (1995) constatou que a disseminação da broca-da-erva-mate (*Hedypathes betulinus*) é um indicador do desequilíbrio entre o ambiente natural e de cultivo.

Popularmente, a erva-mate é conhecida como mate, chá-mate, chá-do-paraguai, chá dos jesuítas, chá das missões, mate do paraguai, chá-argentino, chá-do-brasil, congonha, congonha das missões, congonha, erva-mate legítimo e mate verdadeiro. Outras denominações populares de menor disseminação incluem: erva de são bartolomeu, orelha de burro, chá-do-paraná, congonha de mato-grosso,

---

<sup>4</sup> ENGLER, A. *Syllabus der Pflanzenfamilien*. 12. Auf. Berlin: Borntraeger, 1964. v.2.

congonha-genuína, congonha-mansa, congonha verdadeira e erva-senhorita. As denominações indígenas para a erva-mate são: caá, caá-caati, caá-emi, caá-ete, caá-mereduvi e caá-ti (CORRÊA, 1969; CRUZ, 1982; VALDUGA, 1995).

A erva-mate caracteriza-se por apresentar arvoreta a arvore perenifólia. Sua altura é variável de 3 - 5 m, porém na floresta pode atingir até 25 m de altura e 70 cm de diâmetro. O tronco é cilíndrico, reto ou pouco tortuoso. Fuste geralmente curto, porém na mata atinge até 11 m de comprimento. É racemosa, quase horizontal; copa baixa, densifoliada, com folhagem verde escura muito característica. Casca com espessura de 20 mm. Casca externa cinza-clara acastanhada, persistente, áspera a rugosa, com lenticelas abundantes, formando às vezes linhas longitudinais e munida de cicatrizes transversais. A casca interna apresenta textura arenosa e cor branca-amarelada, que após incisão, escurece rapidamente em contato com o ar (REITZ e EDWIN, 1967; MACEDO e CHIEA, 1986; EMATER, 1991; GILBERTI, 1994).

As folhas são simples alternas, geralmente estipuladas, subcoriáceas até coriáceas, glabras verde-escura em cima e mais clara em baixo, limbo foliar obovado comumente com 5 a 10 cm de comprimento por 3 a 4 cm de largura; margem irregular serrilhada ou dentada no terço da base geralmente lisa, ápice obtuso, freqüentemente com um múcron curto; nervuras laterais pouco impressas por cima e salientes por baixo; o pecíolo é glabro, algumas vezes pubescente, relativamente curto, medindo 7 a 15 mm de comprimento (REITZ e EDWIN, 1967; MACEDO e CHIEA, 1986; EMATER, 1991; GILBERTI, 1994).

As flores são hermafroditas, pequenas, pedunculadas e dispostas na axila das folhas superiores. Elas são unissexuais por aborto, sendo a erva-mate uma planta dióica (ambos os sexos). Nas plantas femininas são encontrados estames que não funcionam e, nas plantas masculinas, o pistilo se deprime e aborta (REITZ e EDWIN, 1967; MACEDO e CHIEA, 1986; EMATER, 1991; GILBERTI, 1994).

O fruto é uma baga dupla globular muito pequena, pois mede somente 6 a 8 mm. É de cor verde quando novo, passando a vermelho-arroxeadado em sua maturidade. Quando bem maduro, compõe-se de quatro sementes pequeninas com tegumento áspero e duro (REITZ e EDWIN, 1967; MACEDO e CHIEA, 1986; EMATER, 1991; GILBERTI, 1994).

## 2.6 ASPECTOS REPRODUTIVOS

Em relação ao comportamento das flores, a erva-mate é dióica, embora se encontrem estames e pistilo em todas as flores; os estames não funcionam nas flores femininas enquanto nas masculinas o pistilo se deprime e aborta, tendo como única forma de reprodução a fecundação cruzada (FERREIRA FILHO, 1957; FOSSATI, 1997).

A erva-mate floresce de setembro a dezembro, com período predominante em outubro. Os frutos estão maduros de dezembro a março (REITZ *et al.*, 1979). A floração e frutificação iniciam gradativamente em árvores plantadas aos dois anos, em árvores oriundas de propagação vegetativa e aos cinco anos provenientes de sementes em sítios adequados. A dispersão das sementes é feita por pássaros, principalmente sabias (CARVALHO, 1994).

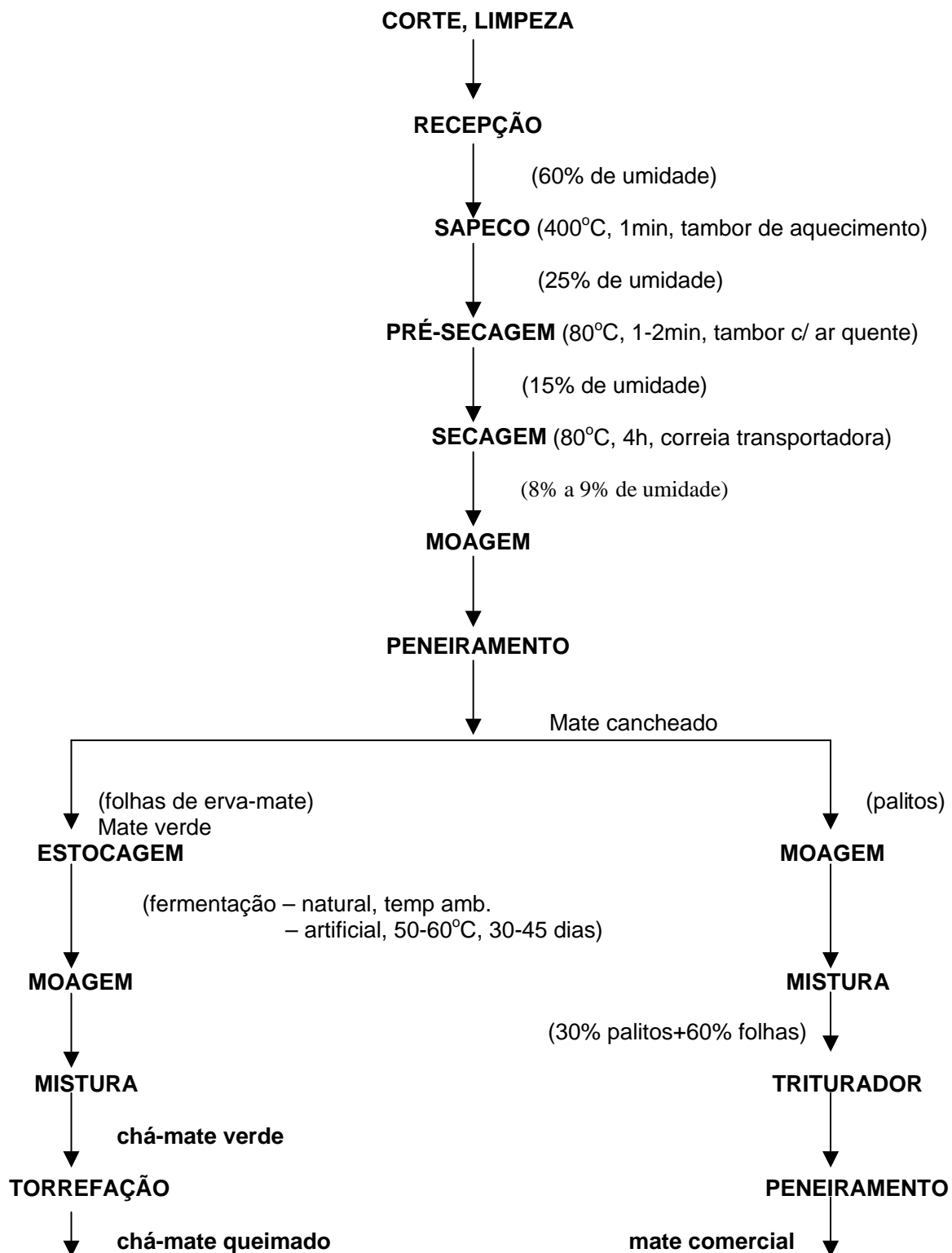
ZANON (1988) afirma que quando se deseja aumentar a produção de sementes deve-se observar a manutenção da proporção de três erveiras femininas para uma erva masculina.

## 2.7 BENEFICIAMENTO E INDUSTRIALIZAÇÃO

O beneficiamento da erva-mate não foi alterado significativamente, preservando operações manuais, por um longo período. Já mais recentemente, verifica-se aceleração do processo de modernização, de modo que a erva-mate ofertada no País, em sua maioria, provém de processos mecânicos, onde as operações são feitas rapidamente por máquinas e também introduz a automação (ANUÁRIO BRASILEIRO DE ERVA-MATE, 1999).

O beneficiamento da erva-mate está dividido em duas etapas bem distintas, o ciclo do cancheamento e o da industrialização, executadas em nível de produtor e de indústria, respectivamente (FIGURA 03). No ciclo do cancheamento, são três operações bem definidas: sapeco, secagem (no carijo ou no barbaquá) e cancheamento. Os processos de limpeza do erval, aliado ao corte, sapeco, secagem, malhação e moagem da erva-mate constituem o primeiro ciclo do beneficiamento, sendo o produto resultante chamado de erva-mate cancheada (FAGUNDES, 1980; MAZUCHOWSKI, 1989; VALDUGA, 1995).

FIGURA 3 – FLUXOGRAMA DO PROCESSO DE BENEFICIAMENTO DA ERVA-MATE



Fonte: Adaptado de VALDUGA (1995).

A poda é feita comumente dentro de práticas tradicionais nos ervais nativos, ou seja, a foice ou a facão. Os ervais cultivados que são de menor estatura e de galhos mais finos são cortados com tesouras próprias de poda, dando maior rendimento por pé (COSTA, 1989).

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 sapeco deve ser feito o mais rapidamente possível, logo após a colheita. Esta prática retira a umidade superficial, inativando as enzimas (peroxidases e polifenoloxidasas) e evita que as folhas se tornem escuras e de sabor desagradável (VALDUGA, 1995). Se o material colhido for abundante e houver necessidade de esperar mais de 24 horas, convém dispor a erva recém colhida em camadas pouco espessas, sendo aconselhável revolvê-la, de modo a evitar o murchamento das folhas (MAZUCHOWSKI e RUCKER, 1993).

A exposição por 20 a 30 segundos ao fogo direto forma o vapor que destrói o protoplasma, destrói os fermentos e a prévia formação de pequenas ampolas, rachando a epiderme da folha. Essa destruição de fermentos impede a oxidação das substâncias tânicas, assegurando a cor verde das folhas. Durante a operação de sapeco ocorre à perda do sabor de folha verde e a erva adquire o seu característico aroma, pela presença de óleo etéreo aromático (FRANKEL, 1983).

A qualidade do produto elaborado seria afetada com um tratamento térmico ineficiente, que permitiria uma ação residual das enzimas ou excessivo, que produziria uma queima (MAZUCHOWSKI e RUCKER, 1993).

O sapecador mecânico consta de um grande cilindro (de chapa de ferro ou de tela de arame) em posição um tanto inclinado, para facilitar a saída do material sapecado. Esse tubo recebe ar quente, que circula no interior, provocado por chamas formadas em baixo e processa o sapeco uniforme. A erva-mate entra pela parte superior, circula no seu interior, graças ao movimento giratório do cilindro, e sai sapecada pela parte inferior (MAZUCHOWSKI e RUCKER, 1993).

A secagem é realizada em locais apropriados até as folhas ficarem encrespadas e quebradiças. Esta operação é feita no carijo ou no barbaquá, ou ainda em secadores mecânicos. No carijo, processo primitivo, as chamas atuam diretamente sobre a erva, enquanto no barbaquá, o material recebe o calor através de um canal subterrâneo, na entrada da qual é feita a fornalha. Em secadores

mecânicos podem-se perceber os melhoramentos efetuados neste processo, visando menor perda de calor, uniformidade e velocidade na secagem. (VALDUGA, 1995). A secagem rápida, quando executada ao ar livre, aumenta a coloração verde, enquanto a sobreposição das folhas e a insolação direta ocasionam notável descoloração. No barbaquá, a secagem apresenta vantagens, pois permite obter produtos de coloração verde intenso, ao passo que na secagem mecânica, os produtos perdem mais rapidamente a coloração verde, devido ao armazenamento após secagem rápida (MAZUCHOWSKI, 1989).

O secador rotatório é o sistema mais comumente utilizado no mercado brasileiro, com baixo custo de industrialização e de instalação, fácil manuseio e inexistência de riscos de danos por incêndio (SCHIFFL, 1997, citado por BOUGARDT, 2000)

Segundo CAMPOS<sup>5</sup>, citado por DUARTE (2000), o método de secagem de erva-mate influencia nas características da matéria-prima, sendo observado que a erva-mate sapecada apresenta teores de flavonóides e polifenóis cerca de 1,3 vez maior que da erva seca ao ar, no entanto esta última apresenta teores de xantinas duas vezes mais elevados.

O cancheamento é a trituração ou fragmentação da erva, após o processo de secagem, normalmente é feito por um triturador de madeira dura, que faz parte de um sistema característico, onde a erva peneirada passa a denominar-se cancheada, constituindo desta forma a matéria-prima para os engenhos de beneficiamento, especialmente para a preparação dos tipos comerciais: chá, chimarão e outros (VALDUGA, 1995).

A erva cancheada pode ser armazenada ou não, conforme preferência do mercado, sendo que o mercado interno prefere produto de coloração verde (erva não descansada, sem armazenamento ou estacionamento), enquanto que o mercado externo prefere produto de coloração amarela (erva descansada, longo período de armazenamento ou estacionamento) (ANDRADE, 1999).

O beneficiamento dos engenhos se resume em três operações fundamentais: a secagem ou retificação da umidade, separação e mistura (formação dos tipos especiais). A secagem se faz por ar quente e seco por processo mecânico

---

<sup>5</sup> CAMPOS, A.M. **Desenvolvimento de extratos secos nebulizados de *Ilex paraguariensis* St. Hil. Aquifoliaceae (erva-mate)**. Porto Alegre, 1996. 149 p. Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal do Rio Grande do Sul.



através de sucção pneumática feita por exaustores ligados a ciclones (finalidade de eliminar o ruído e o pó) ou por meio de elevadores e caçamba. Após a retificação da umidade, a erva é conduzida à limpeza por meio de peneiras, ventiladores, filtros e coletores de pó, que permitem que a separação da erva cancheada em pó, talinhos e paus. A erva separada é enviada a seus respectivos depósitos e deles retiram-se à quantidade necessária para compor, nos misturadores, o tipo comercial desejado. Os misturadores geralmente são transportadores helicoidais que procedem à mistura, formando o tipo de produto exigido pelo consumidor. Constituído o tipo comercial, este é enviado à secção de embalagem (VALDUGA, 1995).

MAZUCHOWSKI (1989) destaca as seguintes vantagens para o processo mecânico de cancheamento:

- No sapeco manual muitos ramos finos perdem-se por que não podem ser expostos às labaredas, além disso, esse processo é executado com irregularidades e imperfeições. Ao passo que no processamento mecânico, a erva é totalmente aproveitada e o sapeco é uniforme;
- O sabor e aroma de fumaça caracterizam a erva de carijo ou barbaquá, no entanto no produto elaborado mecanicamente o odor de fumaça não ocorre;
- O consumo de lenha, no carijo ou barbaquá, é maior que no método mecânico de preparo da erva cancheada;
- A elaboração mecânica é feita em local fechado, ao passo que no preparo manual faz-se ao ar livre. Portanto em relação às condições higiênicas o preparo mecânico é bastante favorável, pois se processa ao abrigo do pó e sem o contato das mãos ou dos pés dos trabalhadores;
- A rapidez do processo mecânico é sem dúvida uma das principais vantagens. Enquanto a sapecagem e trituração nos cilindros mecânicos demoram cerca de 10 minutos, no preparo manual é de pelo menos 10 horas, levando-se em consideração o sapeco ao ar livre, a secagem no carijo ou no barbaquá e a trituração na cancha;
- A erva preparada mecanicamente apresenta-se mais uniforme, limpa, sem sabor e aroma de fumaça, sendo um produto com excelente aspecto e qualidade, que tem condições de ser exportado, mesmo para países mais exigentes;

## 2.8 COMPONENTES QUÍMICOS

As investigações químicas relativas à erva-mate iniciaram-se por Trommsdrff, em 1836, constatando a presença de diversas substâncias resinosas, matéria corante amarelo, ácido tânico, etc. Porém a identificação de seu principal alcalóide procede com Stenhouse, que, em 1843, descobriu a cafeína. O teor foi relatado como sendo apenas de 0,13%, porém, em 1854, foi fixado em 1,1% até 1,23% (ROLIM, 1920; VALDUGA, 1995). Foi Rochleder em 1848, que estudando o mate do Paraguai, obteve o ácido do mate, concluiu ser o ácido café-tânico, já conhecido das sementes de café. Em 1868 Peckolt pesquisou as folhas de diversas espécies de *Ilex*: *Ilex paraguariensis* var. *sorbilis*, var. *domestica* e *Ilex cuyabensis* Reis, encontrando os teores de 1,67%; 0,77%; 0,55% de cafeína, respectivamente. Em 1876 foi Byasson quem denominou o principal alcalóide do mate como mateína, procedendo com Moreau de Tours, em 1904 (MARTINS, 1926; PAULA, 1968; VALDUGA, 1995).

Coube a Lohman, em 1918, em metuculoso trabalho sobre o “alcalóide contido no mate ou chá do Brasil” refutar Moreau de Tours, mostrando ser a cafeína o principal alcalóide do mate e negando a existência da mateína (PAULA 1968).

Os irmãos Peckolt desenvolveram análises laboratoriais para verificar os componentes químicos da erva-mate, conforme apresenta a TABELA 1, baseados nas amostras de um quilo de erva-mate provenientes do Estado do Paraná (MAZUCHOWSKI e RUCKER, 1993).

Paralelamente, desenvolveu-se um outro estudo comparativo entre o chá, café e o mate, apresentado na TABELA 2, com o objetivo de conhecer a composição química dos mesmos (MAZUCHOWSKI e RUCKER, 1993).

Hector Dias em 1942, identifica pela primeira vez a teobromina, pelo processo da sublimação da massa de alcalóides obtidos do mate (PAULA, 1968).

VERONESE<sup>6</sup>, citado por VALDUGA (1995), disse existirem como constituintes da erva-mate os seguintes compostos: água, celulose, gomas, dextrina, mucilagem, glicose, pentoses, substâncias graxas, uma resina aromática (formada por uma mistura de oleína, palmitina, lauro-estearina e um óleo cujas características muito se aproximam da cumarina), legumina, albumina, cafeína, teofilina, cafearina,

---

<sup>6</sup> VERONESE, A. **Contribuição ao estudo do mate**. Rio de Janeiro, Imprensa Nacional, 1944, 213p.

cafamarina, ácido matetânico, ácido fólico, ácido caféico, ácido virídico, clorofila, colessterina e óleo essencial. Nas cinzas encontrou grande quantidade de potássio, lítio, ácido fosfórico, sulfúrico, carbônico, clorídrico e cítrico, além de magnésio, manganês, ferro, alumínio e traços de arsênio.

TABELA 1 – COMPONENTES QUÍMICOS DA ERVA-MATE, SEGUNDO PECKOLT

COMPONENTES QUÍMICOS	QUANTIDADE (g/kg)	
	Folhas recém colhidas e secas ao sol	Mate comercial de 1ª
Umidade	104,600	146,453
Óleo essencial	0,179	0,026
Stearopteno	0,019	---
Substâncias cerácea e gordurosa	18,800	---
Clorofila e resina mole	51,200	6,102
Matéria corante amarelo-esverdeada	10,800	---
Ácido resinoso	84,500	25,500
Cafeína	16,750	5,550
Principio aromático (grupo de fenóis)	2,500	---
Ácido matetânico	44,975	16,784
Ácido viridímico cristalizado	0,025	0,024
Matéria extrativa, substância amarga	65,130	---
Substâncias albuminóides, gomosas e sais inorgânicos	36,102	16,610
Matéria extrativa, sacarina	6,720	1,370
Celulose	687,900	723,973
Sais inorgânicos (cinzas)	---	56,212
Ácido piroateínico	---	1,465

FONTE: Instituto do Mate do Paraná (1929), citado por MAZUCHOWSKI e RUCKER (1993).

TABELA 02 – COMPOSIÇÃO QUÍMICA COMPARATIVA DO CHÁ, CAFÉ E ERVA-MATE

COMPONENTES QUÍMICOS	QUANTIDADE POR PRODUTOS (g/kg)			
	Chá verde	Chá preto	Café	Mate
Óleo essencial	7,900	6,000	0,410	0,010
Clorofila	22,200	18,140	13,660	62,000
Resinas	22,200	36,400	13,660	20,690
Substâncias tânicas	178,00	128,800	16,390	12,280
Teína ou cafeína	4,300	4,600	2,660	2,510
Cinzas	85,600	54,400	25,610	38,110
Água, celulose, etc	175,800	283,200	174,830	180,000

FONTE: Instituto do Mate do Paraná (1929), citado por MAZUCHOWSKI e RUCKER (1993).

Vários trabalhos foram desenvolvidos relatando a presença e os teores de cafeína e teobromina; a existência da teofilina; e determinações quantitativas de xantinas, que se encontram no anexo 1.

KAWAKAMI e KOBAYASHI (1991) identificaram em uma mistura de folhas e galhos finos (60% mistura) de *Ilex paraguariensis* através de cromatografia gasosa e espectrometria de massa um total de 196 compostos voláteis. Destes compostos, 23 eram álcoois alifáticos, 24 aldeídos, 29 cetonas, 15 ácidos, 8 lactonas, 9 terpenos, 11 álcoois terpênicos, 25 alicíclicos, 11 fenóis, 7 aromáticos, 13 furanos (oses), 6 pirasinas e 2 pirroles. O aroma concentrado de mate verde continha altos níveis de 2-butoxietanol (possível contaminante químico na agricultura ou durante o processo de fabricação) e linalool. Outros maiores componentes encontrados foram: geranilacetona, 6-metil (E)-3,5-heptadien-2-one, 6-metil-5-hepten-2-one,  $\alpha$  e  $\beta$  ionona,  $\alpha$ -terpienol, geraniol, ácido monocarboxílico  $C_2 - C_{12}$  e 1-penten-3-ol.

BERTONI *et al.* (1992) ressaltaram que o tipo de solo, idade da planta, data de coleta e características climáticas influenciam significativamente na composição química da erva-mate.

MAZZAFERA (1994) analisou amostras de folhas (jovens e velhas) e frutos (maduros ou imaturos) de *Ilex paraguariensis* crescendo na região de Campinas SP a pleno sol ou parcialmente sombreadas. Usou HPLC com coluna ODS hypersil com gradiente de 5% a 45% de metanol em solução aquosa de ácido acético 0,5% e detectados num comprimento de onda de 272 nm. Encontrou maiores níveis de cafeína em folhas jovens (0,91%) e frutos imaturos (0,038%) em relação a folhas velhas (0,53%) e frutos maduros (0,013%); folhas jovens plantadas parcialmente sombreadas apresentaram maiores teores de cafeína (0,89%) quando comparadas a folhas jovens de plantas a pleno sol (0,77%) e folhas velhas plantadas parcialmente sombreadas (0,82%) se comparadas com folhas velhas a pleno sol (0,63%). Para teobromina, os maiores níveis foram encontrados nas folhas jovens (0,16%) do que nas folhas velhas (0,034%), enquanto que foram encontrados apenas traços de teobromina em frutos imaturos; folhas velhas plantadas parcialmente sombreadas apresentaram maiores teores de teobromina (0,43%) quando comparadas com folhas velhas a pleno sol (0,37%) e folhas jovens parcialmente sombreadas (0,26%) de teobromina se comparada com folhas jovens a pleno sol (0,009%). A teofilina apresentou os maiores níveis em folhas velhas (0,014%) se comparadas com folhas

jovens (0,0047%) e nos frutos não foi encontrado teofilina; as folhas velhas a pleno sol apresentaram os maiores níveis de teofilina (0,016%) se comparadas com folhas velhas parcialmente sombreadas (0,015%) e as folhas jovens parcialmente sombreadas apresentaram (0,0069%) de teofilina se comparadas com folhas jovens a pleno sol (0,0048%).

VALDUGA (1995) determinou teores de cafeína em amostras de folhas de erva-mate, em erval com 8 anos de idade plantada a céu aberto, provenientes dos municípios de União da Vitória – PR (valor médio de 1,38%) e Paula Freitas – PR (valor médio de 0,82%) utilizando extração com clorofórmio e leitura no espectrofotômetro de UV – Visível a 276,5 nm.

REGINATO *et al.* (1999) utilizaram amostras de *Ilex paraguariensis* de folhas jovens, maduras e velhas coletadas no mês de fevereiro de 1997 em Porto Alegre – RS. As amostras foram levadas a ebulição por 10 minutos com uma solução 20% (v/v) de ácido sulfúrico, depois neutralizadas com uma solução aquosa de 25% (v/v) de hidróxido de amônio e extraídas por 4 horas com 50 mL de uma mistura (3:1, v/v) de clorofórmio: isopropanol. As amostras foram analisadas por HPLC com coluna Nova Parck ® RPC8 (3,9 X 150 mm I.D., 5 µm) e pré-coluna RPC18 (3,0 X 39 mm I.D., 50 µm), usando um sistema Isocrático metanol : água (25:75,v/v) como fase móvel, com uma razão de escoamento de 0,5 mL/min a uma temperatura de 21°C e detecção de 280 nm. Encontraram para *Ilex paraguariensis* var. *paraguariensis* 0,65% de cafeína, 0,12% de teobromina em folhas maduras e a teofilina não foi detectada; encontraram também níveis de cafeína variando de 0,16% em folhas velhas a 1,4% em folhas jovens e teobromina em níveis variando de 0,02% em folhas velhas a 0,27% em folhas jovens.

GNOATTO *et al.* (2000) testaram quatro métodos de extração das metilxantinas, em amostras de *Ilex paraguariensis*, que foram coletadas em Mato Leitão – RS e submetidas ao cancheamento em indústria ervateira. Na primeira metodologia (D1) foram utilizados 2 g de material vegetal, submetidos a decocção com 100 mL de água a 90°C por 10 minutos, as metilxantinas foram extraídas em funil de separação com a mistura clorofórmio e isopropanol (3:1, v/v); na segunda metodologia (D2), seguiu-se o mesmo procedimento (D1) onde os 100 mL de água foram substituídos por 100 mL de uma solução de ácido sulfúrico 2 M e depois neutralizada; na terceira e quarta metodologia, as extrações ocorreram utilizando o

Soxhlet (S1 e S2, respectivamente), foram usadas 2 g de material vegetal sob refluxo de 4 horas; no S1 a amostra foi previamente tratada com 10 mL de solução de hidróxido de amônio a 25%, sendo então extraída com 100 mL de água. No S2 foi desenvolvido da mesma maneira, porém dispensando-se o tratamento prévio com hidróxido de amônio. Todos os extratos foram concentrados em evaporador rotatório e analisados por HPLC, utilizando coluna de fase reversa fenila, fase móvel acetonitrila: metanol: água (5: 6: 89), fluxo de 1,1 mL/min e detecção em 274 nm. Os resultados encontrados para as metodologias foram: D1 0,0199% de teobromina e 0,3468% de cafeína; D2 0,0825% de teobromina e 0,2912% de cafeína; S1 0,0174% de teobromina e 0,3390% de cafeína; S2 0,0261% de teobromina e 0,3680% de cafeína.

COELHO et al. (2000), em estudos sob diferentes graus de sombreamento, observaram uma variação de cafeína de 2,63 a 2,98 mg/g em condições naturais medindo 7,17% e 95,33% de sombreamento, verificando variação de 2,31 a 14,31 mg/g de cafeína, respectivamente

SALDANÃ *et al.* (2000) determinaram através de HPLC com coluna C<sub>18</sub>, fase móvel 40% de metanol em ácido acético 0,5% , a 280 nm os teores de cafeína, teobromina e teofilina, usando extração com dióxido de carbono supercrítico, encontrando, respectivamente, 7474,4; 258,9 e 30 mg por kg de erva-mate.

DA CROCE (2000), utilizando-se de amostras de erva mate cancheada coletada em quatro grandes regiões de ocorrência no Estado de Santa Catarina, nos meses de setembro a dezembro de 98, janeiro a março e junho e julho de 99, determinou o teor de cafeína pela metodologia AOAC 979.11, 1997, volume 2. Os teores médios de cafeína oscilaram de 0,19 g/100 g a 1,46 g/100 g, sendo possível a divisão em dois grupos de meses para a distribuição da cafeína. O primeiro compreendendo os meses de setembro, outubro, novembro e dezembro de 1988, onde praticamente todas as amostras apresentaram índices inferiores a 0,5 g/100 g e o segundo grupo que compreendeu os meses de janeiro, fevereiro, março, junho e julho, onde as amostras apresentaram teores de cafeína superiores a 0,5 g/100 g. Os resultados analisados não apresentaram diferença significativa no teor de cafeína com relação ao tipo de solo dos locais de coleta das amostras, mas apresentaram diferença significativa de acordo com a época de colheita das folhas de erva-mate. No período de maior crescimento vegetativo (setembro a dezembro),

o teor de cafeína foi mais baixo e à medida que as folhas foram envelhecendo o teor aumentou.

ATHAYDE *et al.* (2000) identificaram e quantificaram cafeína e teobromina na cera epicuticular de folhas de *Ilex paraguariensis* de três estados brasileiros: Mato Grosso do Sul (MS), Paraná (PR) e Rio Grande do Sul (RS), coletados em fevereiro e setembro de 1997 no MS, fevereiro e outubro de 1997 no PR e coletados em fevereiro e novembro de 1997 no RS. Neste trabalho demonstraram que as metilxantinas são originárias da cera e não do interior da folha, cujos resultados foram 0,16 a 127,6 µg de cafeína por mg de cera e de 0 a 9,5 µg de teobromina por mg de cera. Utilizaram para a quantificação HPLC com um sistema isocrático metanol: água (25:75) e determinação a 280 nm.

DONADUZZI *et al.* (2000) apontaram a necessidade de estabelecer controle dos compostos químicos da erva-mate, principalmente os que influenciam as características comerciais do produto. Os autores observaram variação de 0,53% de cafeína em amostras comerciais da região de Guarapuava PR e 0,95% em amostras comerciais originária de Toledo PR.

ZAMPIER (2001) constatou diferença estatística significativa para teores foliares de cafeína, considerando diferentes formas de adubação. Houve forte influência da presença da matéria orgânica no aumento do teor foliar de cafeína e as médias variaram de 1,10% a 1,32% nos tratamentos orgânicos. Os tratamentos onde foram aplicados N-P-K apresentaram as menores médias, entre 0,11% e 0,28%, as quais não tiveram diferença estatística em relação à testemunha. Obteve relação diretamente proporcional entre o teor de cafeína com o teor de nitrogênio nas folhas de erva-mate. A relação com K foi inversamente proporcional ao teor de cafeína nas folhas com K foliar. A forma de adubação utilizada não apresentou diferença no teor de taninos, cuja média foi de 12%.

SHERER *et al.* (2002), em Missiones 1998, analisaram em cinco plantações 15 árvores de 12 progênises os teores de cafeína e teobromina através de cromatografia gasosa com temperatura programada de 200 a 300°C, encontrando de 0,74% a 1,51% de cafeína e de 0,51% a 1,12% de teobromina. Também verificaram uma correlação fenotípica entre a cafeína e a teobromina altamente significativa com  $r = 0,63$ .

ESMELINDRO *et al.* (2003) analisaram a influência das variáveis de manejo sobre o rendimento e composição química do extrato de erva-mate. Usaram folhas de erva-mate coletada em experimento montado em Barão do Cotegipe RS, onde as plantas foram manejadas sob controle de adubação, intensidade de luz e idade da folha. Para a extração foi usado CO<sub>2</sub> à temperatura de 30°C e pressão de 175 atm com vazão de 2 g/min e um tempo de coleta de 400 min e de corrida experimental completa (entre empacotamento, extração, depressurização e descarga do extrator) de aproximadamente 10 horas. Os extratos foram analisados em um Cromatógrafo Gasoso acoplado a um Espectrômetro de Massas. A temperatura do injetor foi de 290°C e da interface 310°C e empregado o Hélio como gás de arraste com fluxo de 1 mL/min. Determinaram que para plantas com a mesma condição de adubação (sem adubação), secagem (microondas) e intensidade de luz (sombreadas) o rendimento da extração era acrescido conforme aumentava a idade da poda das folhas (6, 12, e 18 meses), porém a partir de 24 meses ocorreu uma diminuição no rendimento dos compostos passíveis de serem extraídos; porém quando as plantas encontraram sombreadas ocorreu uma diminuição em relação ao obtido a partir de plantas a pleno sol. A análise química dos extratos por CG-EM permitiu identificar em torno de trinta compostos nas amostras de erva mate. Em relação ao efeito da intensidade de luz, pôde ser observado que a maioria dos compostos tiveram seus teores aumentados nas plantas submetidas ao sombreamento. Tal efeito pode estar relacionado com o calor que a planta recebe ao estar a pleno sol, que ocasiona o aumento de sua transpiração e conseqüentemente maior absorção de água, o que pode diminuir a concentração dos compostos presentes.

CORRÊA *et al.* (2003) analisaram N-total em folhas maduras de três morfotipos com nove anos de idade coletadas em Ivaí do sul – PR. Observaram que os teores de nitrogênio não apresentaram diferenças estatísticas significativas entre os três morfotipos analisados. Os resultados encontrados foram os seguintes: para o morfotipo amarelinha 20,8 g/kg; para o morfotipo cinza 22,8 g/kg; para o morfotipo sassafrás 23,5 g/kg.

BOEGER *et al.*, (2003) analisaram folhas maduras de três morfotipos de erva-mate da ervateira Bitumirim em Ivaí do Sul – PR e observaram que o morfotipo amarelinha difere-se estatisticamente dos demais morfotipos na área e no peso foliar seco. As folhas do morfotipo amarelinha apresentaram-se 19,9% menores do que as



folhas do morfotipo cinza e 21,3% do que as do morfotipo sassafrás. As folhas do morfotipo cinza e do morfotipo sassafrás apresentaram 21,4% e 19,5% mais massa foliar seca do que as folhas do morfotipo amarelinha, respectivamente. Para os compostos fenólicos não apresentaram variações significativas entre os morfotipos. As concentrações de clorofila total diferiram significativamente entre os morfotipos, o cinza com maiores concentrações e o morfotipo amarelinha com menores. Os morfotipos cinza e sassafrás apresentaram 58,1% e 29,4% mais clorofila que o morfotipo amarelinha, respectivamente.

### 2.8.1 Alcalóides

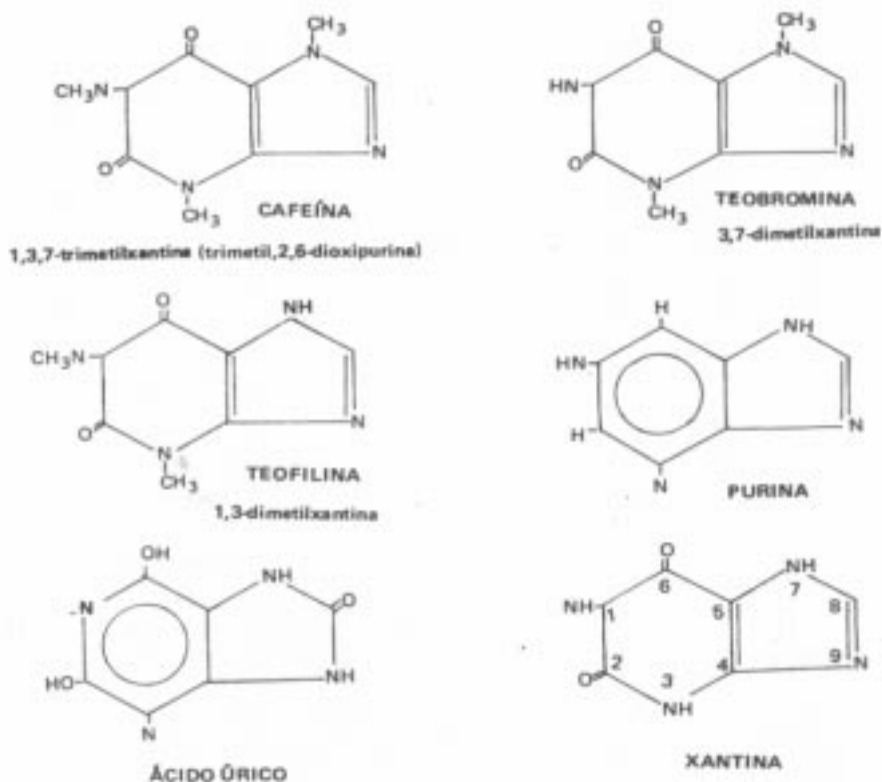
A cafeína, a teofilina e a teobromina são três alcalóides estreitamente relacionados, encontrados na erva-mate e são compostos mais interessantes sob o ponto de vista farmacológico e terapêutico. Com freqüência, são denominados derivados da xantina. A xantina propriamente dita é uma dioxipurina e está estruturalmente relacionada com o ácido úrico. A cafeína é a 1, 3, 7-trimetil-xantina, a teofilina é a 1,3-dimetil-xantina e a teobromina é a 3,7-dimetil-xantina (COSTA , 1972 e VALDUGA, 1995). As formas estruturais da cafeína, da teofilina e da teobromina, encontram-se na figura 4.

Os alcalóides são metabólitos secundários que contém átomos de carbono secundário, terciário e quaternário em suas estruturas. Eles são metabolicamente ativos e desempenham um importante papel na fisiologia das plantas ou organismos. Os alcalóides em plantas são muito importantes em repelir e dissuadir predadores patógenos (MISRA, 1999). As plantas produzem uma grande variedade de metabólitos secundários. Muitos têm função aleloquímica e servem como compostos de defesa química contra herbivoria, microorganismos ou plantas competitivas, em outras produzem cor ou aroma que atraem insetos polinizadores ou animais que espalhem os frutos.(WINK, 1999)

As três xantinas possuem as mesmas ações farmacológicas do ponto de vista qualitativo, diferindo em sua intensidade sobre os distintos sistemas orgânicos e a cafeína é a mais importante e abundante xantina da erva-mate (ROBBERS *et al.*, 1997).

A cafeína contida nos tecidos de plantas de erva-mate pode estar associada com uma total atividade celular, em tecidos novos, ou em aqueles com alta atividade metabólica (flor, frutos e desenvolvimento de folhas), que podem apresentar alto conteúdo de cafeína, quando comparados a plantas maduras ou tecidos maduros (ASHIHARA, 1993).

FIGURA 4 – ESTRUTURA MOLECULAR DA CAFEÍNA, TEOBROMINA, TEOFILINA, PURINA, ÁCIDO ÚRICO E DA XANTINA



FONTE: BRITO FILHO (1988).

MAZZAFERA *et al.* (1996) relatam que na célula, a cafeína se encontra complexada com K e ácido clorogênico, e também ocorre no espaço intercelular.

Existe uma suposição de que, sob condições de alta demanda de nitrogênio, os átomos de nitrogênio, que constituem a cafeína, podem estar sendo usados como recurso para planta (PETERMANN e BAUMANN, 1983).

A presença de compostos metilxantínicos ocorre em várias espécies de interesse econômico e duas hipóteses atualmente tentam explicar o acúmulo destas substâncias em espécies tão diversas do ponto de vista evolutivo: a hipótese da defesa química propõe que a cafeína atua protegendo os tecidos do ataque de

predadores e a hipótese alelopática que propõe que a cafeína presente em sementes quando liberada no solo pode inibir a germinação de outras espécies (ASHIHARA, 2001).

Há um crescente interesse na determinação do teor de cafeína em produtos com erva-mate e seus derivados, podendo ser utilizado como indicador de identidade e qualidade desses produtos. O acúmulo desse alcalóide é uma característica própria da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.), pois outras espécies como a congonha, guavirova, pimenteira, caúna e pessegueiro bravo são relatados como adulterantes do mate e não apresentam cafeína em sua composição química (VALDUGA, 1995; REGINATTO *et al.*, 1999). Afirmações que merecem melhores considerações e estudos.

Os processos de beneficiamento como secagem, armazenagem e as condições de cultivo interferem diretamente na concentração desses compostos nas plantas. Em trabalho desenvolvido na Argentina, constatou-se que as condições climáticas, como a chuva e a umidade, durante o desenvolvimento vegetativo, podem afetar a concentração de cafeína nas folhas de erva-mate (BERTONI *et al.*, 1992). A época de colheita da erva-mate também modifica sua composição físico-química, principalmente no teor de cafeína, que tende a diminuir no inverno. O teor maior de cafeína no verão não se refere à maior insolação, mas sim, ao maior número de brotações que ocorrem neste período, visto que as folhas mais novas têm maiores teores de cafeína. Também deve considerar-se que as variações quantitativas encontradas no teor de cafeína são devidas à procedência do produto, época de colheita, preparação e percentagem de paus nas misturas e aos métodos de análise (SOUZA<sup>7</sup> citados por RÜCKER e CIRIO, 2000).

## 2.8.2 Compostos Fenólicos - Taninos

Substâncias fenólicas são compostos aromáticos, nos quais se ligam um ou mais grupos hidroxílicos, sua ocorrência é ampla no reino vegetal, todas as plantas vasculares apresentam metabólitos secundários fenólicos (HASLAM<sup>8</sup>, citado por FELÍCIO e YUNG, 1998). É pertencente ao grupo dos compostos fenólicos um

<sup>7</sup> SOUZA, P. F. **Tecnologia de Produtos Florestais**. Imprensa Nacional. Rio de Janeiro, 1947. 403 p.

<sup>8</sup> HASLAM, E. **Vegetable tannins, The Biochemistry of plants**. New York: Academic Press, 1981, v. 7 p. 527-556.

número muito grande de classes de substâncias, a exemplo dos ácidos fenólicos, cumarinas, flavonóides, ligninas e taninos.

É difícil definir o termo “tanino” de um modo conciso e rigoroso, pois são incluídos como taninos grupos de substâncias que apresentam certas propriedades físicas e químicas em comum, embora certamente sem relações estruturais (FELÍCIO e YUNG, 1998).

O termo “tanino” tem sido usado freqüentemente para definir duas classes diferentes de compostos químicos de natureza fenólica, ou seja, os taninos hidrolisáveis e os taninos condensados. Taninos condensados consistem de unidades flavonóides, possuindo diferentes graus de condensação e estão invariavelmente associados com seus precursores inéditos, denominados de flavan-3-ols (catequina) e flavan 3-4 diols (leucoantocianidrina). Os taninos vegetais ou naturais são por definição substâncias que apresentam a propriedade de se associar e de se combinar com proteínas e com certos poliois (PIZZI, 1993). Para METCHE (1980), os taninos hidrolisáveis podem ser considerados como poliésteres da glucose, podendo ser classificados em duas categorias: (a) os galotaninos, que por hidrólise ácida liberam ácido gálico e seus derivados; e (b) os elagitaninos, que por hidrólise liberam o ácido elágico, ácido valônico, sendo o ácido elágico o mais importante.

De acordo com HEMINGWAY (1989), o significado dos taninos para as plantas se refere aos produtos naturais e fenólicos baseados no ácido gálico (taninos hidrolisáveis) ou sobre os poliflavonóides (taninos condensados). Ainda, segundo esse autor, as plantas apresentam capacidade de defesa contra seus inimigos naturais, e esta capacidade de defesa estaria ligada à presença dos taninos. Os taninos hidrolisáveis seriam responsáveis pela defesa das plantas contra herbívoros e os taninos condensáveis iriam assegurar a defesa contra microorganismos patogênicos.

Os taninos possuem a habilidade de complexar e precipitar proteínas de soluções aquosas (SALUNKHE *et al.*, 1990). Esses compostos também são considerados potentes inibidores de enzimas devido a complexação com proteínas enzimáticas (NACZK *et al.*, 1994) Na forma oxidada, os taninos reagem com as proteínas através de pontes de hidrogênio e/ou ligações hidrofóbicas. Quando oxidados, os taninos se transformam em quinonas, as quais formam ligações

covalentes com alguns grupos funcionais das proteínas, principalmente os grupos sulfídricos da cisteína e  $\epsilon$ -amino da lisina (SGARBIERI, 1996).

Os taninos são encontrados principalmente nos vacúolos das plantas. Nestes locais, eles não interferem no metabolismo da planta, somente após lesão ou morte das plantas eles agem e têm metabolismo eficiente (CANNAS, 1999).

Há controvérsias em relação à função fisiológica dos taninos na planta. GREEN e CORCORAN (1975) suspeitavam que os taninos pudessem funcionar como reguladores de crescimento nas plantas. O aumento da ocorrência de taninos em células periféricas e o aumento da iluminação sugerem um mecanismo de proteção contra o estresse causado pela luz solar (SALATINO *et al.*, 1988, STRACK, 1997). Segundo BEART *et al.* (1985), a natureza defensiva destas substâncias é explicada, pois ocorre um aumento na sua concentração como resultado de qualquer infecção ou lesão. Para STRACK (1997), os compostos fenólicos podem proteger as plantas contra predadores herbívoros que reagem sensivelmente ao conteúdo fenólico nas plantas.

Em relação aos produtos obtidos de erva-mate, é um constituinte que confere sabor amargo sendo importante a identificação dos fatores que podem alterar seus teores.

A presença de substâncias tânicas, responsáveis pela adstringência da erva-mate, é conhecida desde o final do século, por Rochleder e Hlaswetz que, ao estudarem o mate do Paraguai, obtiveram um ácido do mate idêntico ao cafetaninos (pseudo-tanino), já conhecido da semente do café (MARTINS, 1926).

Os ácidos clorogênico, isoclorogênico e neoclorogênico foram revelados por ROBERTS (1956) e BADIN *et al.* (1962), e a presença do ácido caféico, como produto da hidrólise do ácido clorogênico.

Segundo SCARPATI e GUIISO<sup>9</sup>, os taninos são derivados do ácido cafeoilquínico, sendo o ácido clorogênico (ácido 3-cafeoilquínico), ácido neoclorogênico (ácido 5-cafeoilquínico) e o ácido isoclorogênico (mistura do 4,5-dicafeoilquínico, 3,4-dicafeoilquínico e 3,5-dicafeoilquínico), respectivamente (VALDUGA, 1995).

---

<sup>9</sup> SCARPATI, M. L.; GUIISO, M. Acidi caffeil-chinici del caffè e del maté. Nota I. **Ann. Chim.**, v.53, n.10, p. 1315-1328, 1963.

PAULA (1968) constatou que os teores de taninos nas folhas de erva-mate variam em função da idade das folhas e da época de coleta do material. Com a idade, aumenta o teor de taninos nas folhas, até o estágio de adultas, diminuindo em seguida nas folhas mais velhas. Folhas colhidas em uma mesma árvore (nas primeiras 2 e 3 folhas do mesmo broto; nas 3 e 4 folhas seguintes; folhas plenamente adultas e folhas de 2 a 3 anos de idade), em plena época de renovação vegetativa, deram os seguintes resultados: 7,35%; 8,30%; 9,50% e 6,80 %, respectivamente. No entanto, em amostras coletadas em época de repouso vegetativo (inverno), o referido autor encontrou teores mais elevados em relação ao período de desenvolvimento vegetativo, correspondendo a 11,30%; 9,50%; 9,15% e 7,60 % dos taninos, respectivamente.

Os teores de ácido tânico obtidos por VALDUGA (1995) em erval com oito anos de idade, plantados a céu aberto, variaram de 7,17% a 11,10%.

RACHAWAL *et al.* (2000) estudaram as variações que ocorrem nos teores de taninos de erva-mate cultivada em função de diferentes níveis de sombreamento. Encontraram os seguintes resultados: sítios com 77% de luminosidade relativa 16,4% de taninos; sítios com 48% de luminosidade relativa 14,7% de taninos e sítios com 19% de luminosidade relativa 13,4% de taninos. Encontraram correlação positiva de 0,68 dos taninos com a luminosidade relativa média.

ZAMPIER (2001) comprovou que diferentes formas de adubação não apresentaram influência nos teores de taninos, encontrando 12% em média. Observou correlação negativa no teor foliar de taninos com teor foliar de K, obteve maiores teores de taninos na erva-mate, em sítios com menores teores K, tanto no solo quanto nas folhas.

A *Ilex paraguariensis* apresenta altas concentrações de compostos fenólicos nas folhas quando comparada com outras espécies do mesmo gênero (FILIP *et al.*, 2001). Estas concentrações apresentam variações entre diferentes partes da planta, idade da folha e procedência (MACCARI e SANTOS, 2000). Altas concentrações de compostos fenólicos são associadas a mecanismo de defesa contra herbivoria (COLEY, 1996) e interagem com o metabolismo vegetal (KOZLOWSKI e PALLARDY, 1997).

### 2.8.3 Nitrogênio Foliar

Os teores de N nas folhas variam em média de 17,2 a 24,6 g/kg, sendo considerados médios a baixos segundo SOSA (1992). REISSMANN e PREVEDELLO (1992) encontraram teores de 29 g/kg, que consideraram elevados. RADOMSKI *et al.* (1992) afirmam que valores maiores de 23 g/kg são adequados. De 21,9 a 24,3 g/kg foi considerado normal por CAMPOS (1991). Para REISSMANN *et al.* (1985), os valores levantados ficaram entre 19,2 e 22 g/kg e no trabalho de REISSMANN *et al.* (1983), 15 a 22 g/kg foram considerados satisfatórios na ocasião, embora tenham sido os primeiros trabalhos com a espécie, (FOSSATI 1997).

SOSA (1994) diz que Nitrogênio total foliar da erva-mate entre 2,20% e 2,70% apresenta média produtividade e acima de 2,70% a produtividade será alta.

VALDUGA (1995) encontrou como teor foliar de nitrogênio em folhas de erva-mate para dois plantios União da Vitória PR e Paula Freitas PR, respectivamente, 2,74% (27,4 g/kg) e 2,04% (20,4 g/kg) os quais considerou elevados.

FOSSATI (1997) determinou que o nitrogênio contido nas folhas de erva-mate influenciou as variáveis de produtividade altura total e da copa com coeficientes de correlação de  $r=0,63$  e  $r=0,65$ , respectivamente. Os parâmetros que se mostraram correlacionados são resultados do crescimento vegetativo da planta, coincidindo com a função deste nutriente no vegetal (MARSCHNER, 1986), ao mesmo tempo demonstra sua importância nutricional para a erva-mate, porque indica ser a carência deste elemento nos tecidos, acarretadora de diminuições significativas no crescimento. Essas inferências levaram a crer que pode existir um distúrbio nutricional de menor crescimento de altura devido a baixos níveis de nitrogênio.

Segundo MAZZAFERA (1999), como os alcalóides contêm compostos nitrogenados, baixo teor de cafeína é esperado em tratamentos com menor disponibilidade de N; este autor observou a estreita correlação entre o fornecimento de N e o nível de cafeína em plântulas de café (*Coffea arabica L.*). O nível de cafeína varia como parte integrada do metabolismo de compostos nitrogenados da planta, em função do fornecimento do elemento.

ZAMPIER (2001) obteve relação diretamente proporcional entre o teor de cafeína com o teor de nitrogênio nas folhas de erva-mate. A relação com K foi inversamente proporcional ao teor de cafeína nas folhas com K foliar.

A cafeína possui quatro átomos de N, quase 29% da molécula, e uma relação C/N = 2. Em chá foi observado que durante o ano o teor de cafeína varia em função do nível de nitrogênio na planta (CLOUGHILEY, 1982). Em café, a relação cafeína-nitrogênio também foi observada (BEAUDIN - DUFOUR e MULLER, 1971).

#### 2.8.4 Nitrogênio no Solo

Embora com algumas exceções, muitas pesquisas têm apresentado aumento no conteúdo de alcalóides com fertilização nitrogenada. Em alguns casos a resposta pode variar de acordo com a fonte nitrogenada utilizada na fertilização (nitrato, amônia, ou uréia) (WALLER e NOWACKI, 1978).

MAZZAFERA (1999), ao estudar o comportamento do suprimento de nutrientes sobre o conteúdo de cafeína em folhas de café (*Coffea arabica L.*), observou que a omissão de K induziu o aumento no conteúdo de cafeína nas folhas, e a ausência de P e N induziu a redução. Além do nitrogênio, pesquisas demonstram que a redução de potássio geralmente resulta em aumento da porcentagem de alcalóides em plantas; já o efeito do fósforo é contrário ao potássio

Em pesquisa realizada com chá preto (*Camélia sinensis*), YUN *et al.* (1999) concluíram que a fertilização com K e Mg aumentam o teor de cafeína nas folhas.

SOSA (1994) diz que solos com porcentagem de Nitrogênio total entre 0,21% e 0,26% apresentam boa produtividade e os com valores acima de 0,26% de Nitrogênio total no solo a produtividade é muito boa. Existe relação entre nível de rendimento das plantações de erva-mate com o nível nutricional da planta e do solo.

A única maneira de se armazenar nitrogênio no solo é na forma orgânica, o nitrogênio dos fertilizantes é facilmente lavado e se perde nas camadas mais profundas do perfil do solo. O nitrogênio orgânico existente no solo não é absorvido desta forma pelas raízes das plantas. Para se tornar assimilável, é necessário que, através da fermentação e decomposição, e sob a ação dos microorganismos, o nitrogênio passe para a forma amoniacal, depois para nitrito (como um intermediário) e finalmente para nitrato; os nitritos (NO<sub>2</sub>) são tóxicos às plantas, porém aparecem



de forma transitória, não chegando a causar danos. A matéria orgânica fornece um suprimento constante de nitrogênio para as plantas e é também relativamente mais estável que as formas minerais: amoniacal ( $\text{NH}_4^+$ ) e a nítrica ( $\text{NO}_3^-$ ), que estão sujeitas a perdas por volatilização ou por lavagem, respectivamente (KIEHL, 1985)

A *Ilex paraguariensis* é uma planta bem adaptada às condições de sub-bosque (COELHO *et al.*, 2000) e seu cultivo agrícola para fins comerciais em ambiente ensolarado implica em estresse associado à luz e ao calor, o qual geralmente manifesta alterações nas folhas. A presença e/ou adição de adubos e fertilizantes no solo constituem outro fator que pode alterar o desenvolvimento da planta. Sob este aspecto, o nitrogênio é um nutriente que merece destaque pelo papel vital no crescimento da planta e pelos riscos associados à aplicação descontrolada.

## 2.9 ASPECTOS TERAPÊUTICOS E FARMACOLÓGICOS DA ERVA-MATE

Atribui-se ao mate uma infinidade de propriedades fisiológicas, nutritivas e medicinais, conferindo-lhe um grande potencial de aproveitamento. Com vitaminas do complexo B, o mate participa do aproveitamento do açúcar nos músculos, nervos e atividade cerebral do homem; com vitaminas C e E, age como defesa orgânica e como benefício sobre os tecidos do organismo; sais minerais em conjunto com a cafeína ajudam o trabalho cardíaco e a circulação do sangue, diminuindo a tensão arterial e atua como vasodilatador (TORQUES e ANDROCZEVECZ, 1997; ANUÁRIO BRASILEIRO DA ERVA MATE, 1999). O mate atua benéficamente sobre os nervos e músculos; elimina a fadiga, estimulando a atividade física e mental; na digestão (assimilação), suaviza os embaraços gástricos e atua sobre o tubo digestivo, ativando os movimentos peristálticos do estômago e dos intestinos, favorecendo a evacuação e a micção. Favorece a diurese, sendo também de grande utilidade nas moléstias da bexiga (FAGUNDES, 1980; MAZUCHOWSKI e RUCKER, 1993).

A erva-mate é rica em polifenóis hidrossolúveis, tais como ácido isoclorogênico, ácido caféico e ácido clorogênico, os quais apresentam alta capacidade antioxidante e podem conferir para suas infusões um papel hepatoprotetor e reforça a defesa antioxidante do organismo. (CAMPOS *et al.*, 1996)

Os flavonóides e as substâncias lipofílicas causam efeitos farmacológicos, como a redução do apetite (OHEM e HÖLZL<sup>10</sup>, citados por BOUGARDT, 2000). Os compostos saponícos estão presentes também na erva-mate, sendo um grupo com muito potencial para aplicação, devido às suas propriedades cicatrizante, diurética, analgésica e expectorante. A erva-mate possui pelo menos dez tipos diferentes de saponinas, algumas presentes apenas nesta planta, que vêm sendo muito estudadas por pesquisadores do Rio Grande do Sul (MACCARI JUNIOR e AZZOLINI, 2000).

Os alcalóides que estão presentes na erva-mate de forma geral agem como calmantes, sedativos, estimulantes, analgésicos e anestésicos. A cafeína tem efeito sobre o sistema nervoso central, acelera a entrada de oxigênio nos pulmões, aumenta a velocidade do metabolismo, acelera o batimento cardíaco e o pulso, proporciona o relaxamento da musculatura lisa, incluindo músculo liso dos brônquios, aumenta a secreção de ácido gástrico e tem ação diurética (NEHLIG e DEBRY, 1994; SAWYNOK, 1995; MACCARI JUNIOR e AZZOLINI, 2000). A teobromina e a teofilina atuam no relaxamento dos músculos lisos, além de serem considerados estimulantes cardíaco, diurético e vasodilatador (CAMPOS *et al*<sup>11</sup>, citados por MACCARI JUNIOR e AZZOLINI, 2000).

A cafeína é prescrita terapêuticamente para o tratamento de dores de cabeça. Entretanto, doses excessivas de cafeína pura podem provocar diversos sintomas, como excitação do sistema nervoso central, ansiedade, insônia, pulso acelerado, palpitações, taquicardia e arritmia cardíaca, inquietação, fluxo incoerente de pensamentos e maneira de falar, diurese, rubor facial e desagradável sensação gástrica. As pessoas com predisposições a convulsões e enfermos cardíacos manifestam os sintomas citados, com quantidades inferiores a 0,5 g de cafeína. Doses de 1 g de cafeína produzem os seguintes efeitos: excitações, vertigens, tremores, rigidez muscular, delírios e convulsões. A dose mortal fica possivelmente por volta de 10 g de cafeína. No caso de uma pessoa consumir 5-6 xícaras de chá por dia, representa uma média de 0,3g de cafeína ou no caso de participar de duas rodadas de chimarrão por dia, poderá consumir 100 - 200 mg de cafeína. Isso é

---

<sup>10</sup> OHEM, N.; HÖLZL, J. Some investigations on *Ilex paraguariensis* flavonóides and triterpenes. *Planta Médica*, [s. l.], v. 54, n. 6, p. 576, 1988.

<sup>11</sup> CAMPOS, A. M.; ESCOBAR, J.; LISI, E. A. The total reactive antioxidante potencial (TRAP) and total antioxidant reactivity (TAR) of *Ilex paraguariensis* Extracts and red wine. **Journal Of The Brazilian Chemical Society**. v. 7, n. 1. 1986. p. 43-49.

menos que a metade do limite tolerável diário de 0,65 g, cotado pelo Código Britânico Farmacêutico (British Pharmaceutical Codex) para administração médica de cafeína pura (MITCHELL<sup>12</sup> *et al.*; STAGG e MILLIN<sup>13</sup>; VAZQUEZ e MOYNA<sup>14</sup>, citados por VALDUGA, 1995; SAWYNOK, 1995). A cafeína tomada oralmente é rapidamente absorvida pelo trato gastrointestinal e o pico de concentração ocorre entre trinta e sessenta minutos após sua ingestão. A meia-vida da cafeína varia desde quatro a seis horas até dois dias, dependendo da idade, peso, sexo, estado hormonal ou uso de contraceptivo oral (DENADAI<sup>15</sup>, citado por BOUGARDT, 2000).

Outros efeitos negativos da cafeína estão ligados à sua ingestão durante a gravidez. Na gravidez, o tempo de ação da cafeína no organismo aumenta 2,5 para 7 horas. A placenta não impede a passagem da cafeína do corpo da mãe para o feto, deixando o feto exposto à ação da cafeína. Suspeita-se que a cafeína aumenta o risco de aborto espontâneo quando consumida em doses elevadas durante a gravidez (MAICKEL e SNODAGRASS<sup>16</sup>; BORLEE *et al.*<sup>17</sup>, WATKINSON e FRIED<sup>18</sup>; KNUETTI KURIHARA<sup>19</sup>, citados por MACCARI JUNIOR e AZZOLINI, 2000).

Estudos também têm demonstrado que a cafeína induz a perda de cálcio e, desta forma, contribui para o aparecimento da osteoporose (HEANEY RECKER<sup>20</sup>; MASSEY<sup>21</sup> *et al.*, 1988, citados por MACCARI JUNIOR e AZZOLINI, 2000).

---

<sup>12</sup> MITCHELL, R. H.; SCOTT, W. A.; WEST, P. R. J. Chem. Educ., v. 51, n. 63, 1974.

<sup>13</sup> STAGG, G. V.; MILLIN, D. J. The nutritial and therapeutic value of tea – A Review. **J. Sci. Fd. Agric.**, v. 26, p. 1439-1459, 1975.

<sup>14</sup> VAZQUEZ, A.; MOYNA, P. Studies on mate drinking. **J. Ethno-pharmacol.**, v. 18, p. 267-272, 1986.

<sup>15</sup> DENADAI, B. S. Cafeína e atividade física: efeitos sobre o metabolismo e a performance. **Revista de Ciência & Tecnologia**, Universidade Metodista de Piracicaba – SP, v. 4, n. 8, p.7-14, dez. 1995.

<sup>16</sup> MAICKEL, R. P.; SNODAGRASS, W. R. Physiochemical Factors in Maternal Fetal Distribution of Drugs. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 26, p. 218-230. 1973.

<sup>17</sup> BORLEE, I.; LECHAT, M. F.; BOUCHKAERT, A.; MISSON, C. Le Café, Facteur de Risque Pendant la Grossesse? *Luovain Medical*, v. 97. 1978. p. 279.

<sup>18</sup> WATKINSON, b. FRIED, P. A. Maternal Caffeine Use Before, During and After Pregnancy and Effects Upon Offspring. *Neurobehavioral Toxicology and Teratology*, v. 7, p. 9-17. Canadá, 1985.

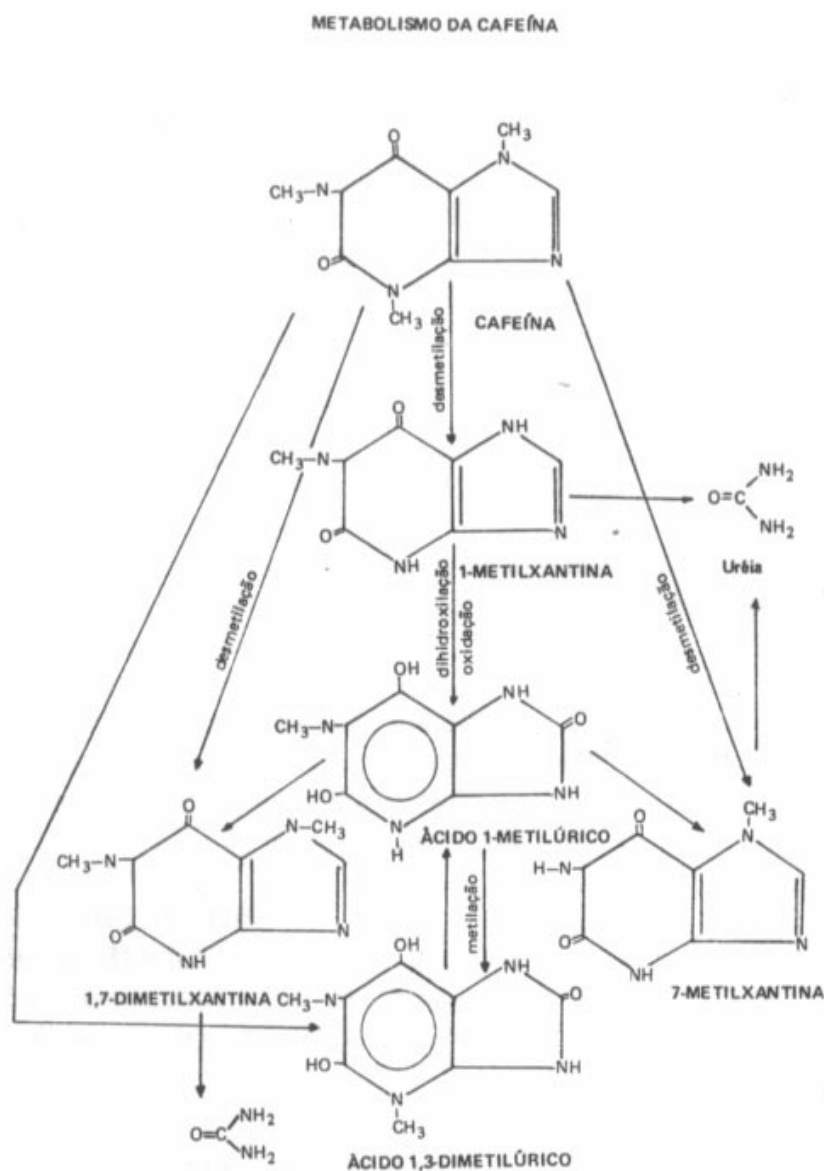
<sup>19</sup> KNUETTI, R. KURIHARA, S. Effect of Pregancy on the Pharmacokinetics of Caffeine. *European Journal of Clinical Pharmacology*, v.21, p. 121-126. 1987.

<sup>20</sup> HEANEY, R. P. ; RECKER, R. R. Effects of Nitrogen, Phosphorous and Caffèeine on Calcium Balance in Women. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, v. 99 p.46-55. 1982.

<sup>21</sup> MASSEY, L. K.; HOLLONGBERRY, P. W. Acute Effects of Dietary Caffèeine and Aspirin on Urinary Mineral Excretion in Pre and Postmenopausal Women. *Nutrition Research*, v. 8, p. 845-851. 1988.

A cafeína é metabolizada rapidamente, parece sofrer desmetilação e oxidação na posição 8, formando derivados do ácido úrico. Após 48 horas, cerca de 46% se elimina como ácido 1-metilúrico e como 1-metilxantina; em adição a esses dois produtos, também se pode encontrar na urina a 1,7-dimetilxantina, 7-metilxantina e ácido 1,3-dimetilúrico; cerca de 1% da cafeína é excretada inalterada (BRITO FILHO, 1988). Na figura 5 é apresentado o esquema da metabolização da cafeína.

FIGURA 5 – METABOLISMO DA CAFEÍNA

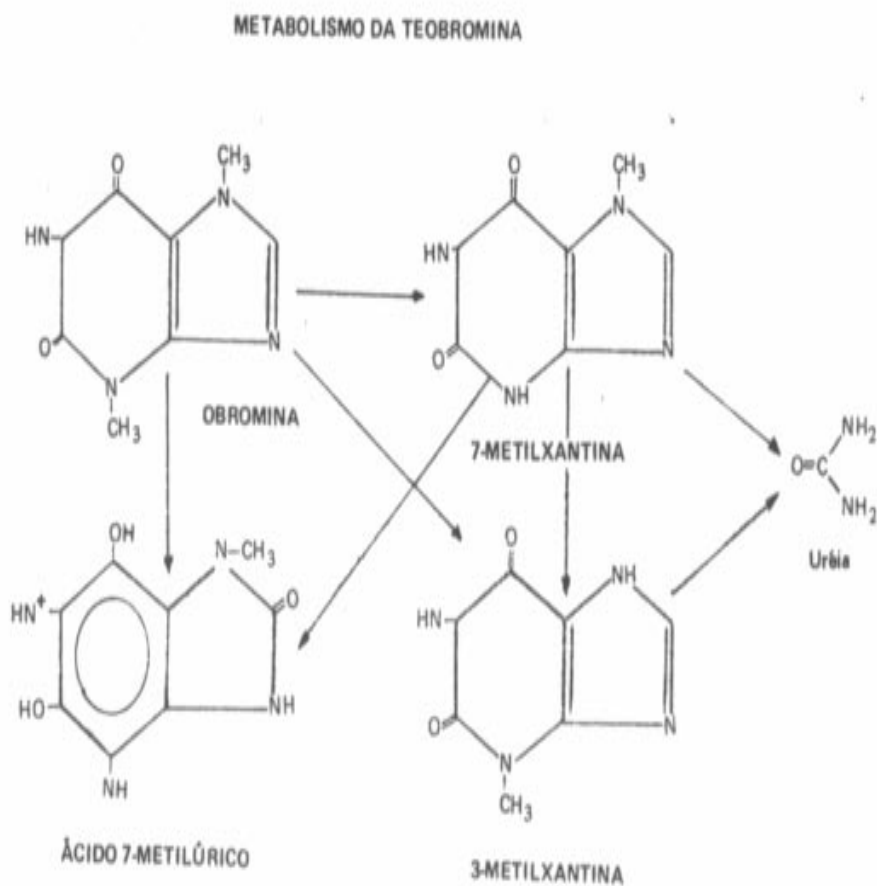


FONTE: BRITO FILHO (1988).

A teobromina sofre desmetilação para formar 7-metilxantina (30% - 35%) e 3-metilxantina (15% - 25%). Pequena parte elimina-se inalterada (9% - 10%). A 7-metilxantina é oxidada a ácido 7-metilúrico (3% - 4%) (BRITO FILHO, 1988). Na figura 6 é apresentado o esquema da metabolização da teobromina.

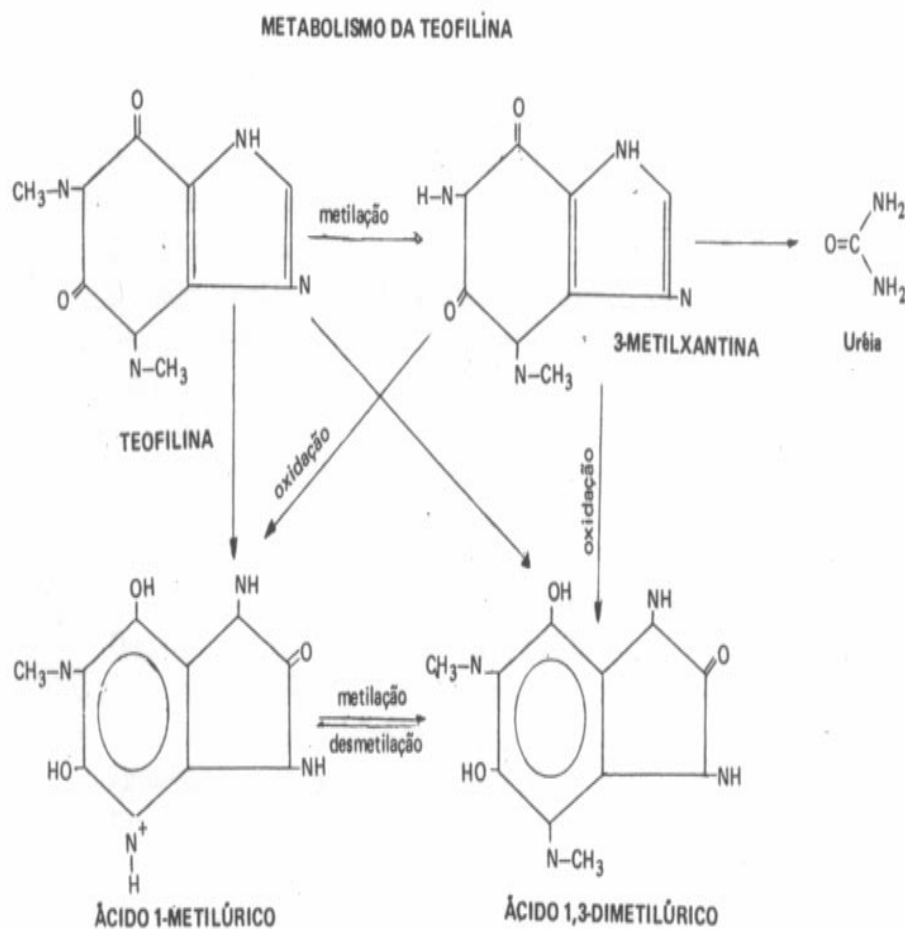
A teofilina é grandemente metabolizada pelo homem, é desmetilada e oxidada. Cerca de 40% da dose ingerida é eliminada como ácido 1,3-dimetilúrico. Cerca de 20% é eliminada como 1-metilúrico. Cerca de 12% - 14% é eliminada como 3-metilxantina. Apenas pequena quantidade (cerca de 8% - 12%) é eliminada inalterada (BRITO FILHO, 1988). Na figura 7 é apresentado o esquema da metabolização da teofilina.

FIGURA 6 – METABOLISMO DA TEOBROMINA



FONTE: BRITO FILHO (1988).

FIGURA 7 – METABOLISMO DA TEOFILINA



FONTE: BRITO FILHO (1988).

A abstinência da cafeína consiste em sensação de fadiga e sedeção. Embora a síndrome de abstinência possa ser demonstrada, poucos indivíduos relatam perda de controle da ingestão ou dificuldade em reduzir seu uso. Portanto, a cafeína não está relacionada à categoria de estimulantes viciantes (OGA, 1996).

O tanino presente na erva-mate também merece atenção pela sua ação ambígua. Como ponto positivo, há ação adstringente, hemostática (contra hemorragia), anti-séptica, tonificante e antibacteriana. Porém, os taninos, se ingeridos em doses elevadas, podem impedir a absorção de certos minerais como cálcio e o ferro.

De acordo com indicações brasileiras, são citados as seguintes aplicações e efeitos do mate: cólicas renais; anti-reumático; auxilia contra a anemia (minerais), depressões nervosas, desde que forneça vivacidade sem perda de tranqüilidade; sudorífico, benéfico nas constipações e resfriados; aplicado sobre a forma de cataplasmas, atua interna e externamente na cura de entrases e úlceras crônicas; aplicação externa da medicina popular contra inflamações (ação anti-edematosa), atribuída à ação farmacológica das saponinas (REITZ e EDWIN<sup>22</sup>; STAGG e MILLIN<sup>23</sup>; citados por GOSMANN, 1989;).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 LOCAL DE ESTUDO

As investigações foram conduzidas na Fazenda Vila Nova da ervateira Bitumirim, situada no segundo planalto do estado do Paraná (25° 15' S 50°45' W), na cidade de Ivaí do Sul. A região se caracteriza pela formação de Floresta Ombrófila Mista. O solo caracteriza-se como LATOSSOLO VERMELHO escuro álico (ferralsol) EMBRAPA (1984), sendo o clima pertencente ao tipo cfb, conforme Koeppen.

Em povoamento plantado a céu aberto, com espaçamento 2 x 3m, com idade de sete anos e com a grande maioria das plantas femininas, os morfotipos foram selecionados e reunidos em três grupos de acordo com a cor dominante das folhas maduras (REISSMANN et al., 2003):

- a) Morfotipo amarelinha: caracteriza-se por apresentar as folhas em tonalidade mais clara na região do limbo e as nervuras principais e secundárias em tonalidade amarela (figura 8).

---

<sup>22</sup> REITZ, P.R.; EDWIN, G. Aquifoliáceas. **Flora ilustrada catarinense**, Itajaí: R. Reitz, 47p. 1967.

<sup>23</sup> STAGG, G.V.; MILLIN, D. J. The nutritial and therapeutic value of tea – A Review. **J. Sci. Fd. Agric.**, v. 26, p. 1439-1459, 1975.

- b) Morfotipo cinza: as folhas apresentam o limbo com uma tonalidade cinza-esverdeada e as nervuras não tão acentuadamente amareladas como no morfotipo anterior (figura 9).
  
- c) Morfotipo sassafrás: as folhas apresentam o limbo verde escuro e as nervuras num tom mais claro. O que caracteriza esse morfotipo é o aspecto brilhante do limbo, na face adaxial da folha (figura 10).



FIGURA 8 – ERVA-MATE MORFOTIPO  
AMARELINHA (1º PLANO)



FORNTE: OLISIESKI, A. (2003).

FIGURA 9 – ERVA MATE MORFOTIPO  
CINZA



FORNTE: OLISIESKI, A. (2003).

FIGURA 10 – ERVA-MATE MORFOTIPO  
SASSAFRÁS



FORNTE: OLISIESKI, A. (2003).

## 3.2 ANÁLISE QUÍMICA FOLIAR

De cada morfotipo, foram amostrados seis indivíduos de uma população de 1245 árvores, dos quais foram coletadas folhas jovens bem como as maduras do meio da copa com exposição Norte, no mês de julho de 2002, conforme REISSMANN et al. (1983).

Após a coleta das amostras de ramos no campo, as folhas foram lavadas em água deionizada, armazenadas em cartuchos de papel devidamente identificados, separando-se as folhas jovens das folhas maduras e após levadas para secagem em estufa à temperatura de 60°C até peso constante. As amostras foram pesadas e determinadas seu peso equivalente a 100 folhas, conforme FIEDLER, *et al.*, (1973). Logo em seguida, as amostras foram moídas na forma de pó em liquidificador e armazenadas em cartuchos de plásticos bem fechados.

### 3.2.1 Determinação de N-total das Folhas de Erva-Mate

A determinação de N-total (BREMNER, 1996) foi efetuada pelo processo semi-micro-Kjeldahl. O procedimento analítico consiste em três etapas: digestão, destilação e titulação. Na digestão pesou-se 0,5 g de amostra previamente seca e moída em tubos de digestão. Foram adicionados 7,5 mL de ácido sulfúrico concentrado, catalisador (1 Sulfato de Potássio: 4 Sulfato de Cobre ) e duas esferas para digestão. Os tubos foram levados para o bloco digestor, aonde a temperatura foi elevada 50°C a cada uma hora até atingir 350°C. A temperatura foi mantida até que a coloração da solução ficasse com a tonalidade amarelada. Após o resfriamento, a solução foi filtrada, para a retirada das esferas, em balão volumétrico e aferido com água deionizada. Na destilação, foram transferidos 25 mL da amostra digerida para tubo de macro. Foram transferidos para o tubo 20 mL de ácido sulfúrico 0,02 mol/L e 3 gotas de indicador de ácido bórico. No aparelho digestor foi adicionado hidróxido de sódio 32%. Após a destilação, a amostra foi titulada com ácido sulfúrico 0,02 mol/L.

As análises de N-total das folhas foram realizadas no Laboratório de Biogeoquímica e Nutrição de Plantas do Departamento de Solos da Universidade Federal do Paraná.

### 3.2.2 Determinação da Cafeína, Teobromina e Teofilina

A determinação desses alcalóides através de HPLC foi efetuada de acordo com a metodologia descrito pela International Organization for Standardization (ISO, 2002).

Foram preparados extratos aquosos com 0,5 g de material foliar de cada amostra. O material foliar foi levado ao aquecimento em banho de 90°C sob agitação com 100 mL de água deionizada e 5 g de óxido de magnésio durante aproximadamente 30 minutos em balão de fundo chato. Posteriormente, deixou-se esfriar a temperatura ambiente e filtrou as amostras através de papel filtro qualitativo, recebendo o filtrado em balão volumétrico de 100mL. Logo em seguida, os extratos foram filtrados em membrana Schlercher Schuell de porosidade 0,45 µm e 13 ± 0,5 mm de diâmetro em frascos âmbar de 10 mL e analisados em cromatógrafo líquido de alta eficiência da marca Shimadzu (SCL-10Avp) com bomba isocrática modelo LC-10Advp e detector UV-VIS modelo SPD-10Avp equipado com uma pré-coluna Shim-pack G-ODS 1,0 cm x 4,0 mm diâmetro interno e uma coluna cromatográfica C18 da marca Shim pack CLC-ODS de 15 cm x 4,6 mm diâmetro interno com partículas de 5 µm. A fase móvel utilizada composta de água : metanol (75:25) com fluxo de 1,0 mL/min. Houve monitoramento por detecção de UV-VIS com comprimento de onda de 280nm e tempo de retenção médio para a teobromina de 3 a 4 minutos, para teofilina de 5 a 7 minutos e 8 a 10 minutos para a cafeína.

#### Preparo das curvas padrões

- **Curva padrão de cafeína:** dissolveu-se na fase móvel (água : metanol – 75:25) 200 mg de cafeína anidra (Fluka – 27602) em um balão de 1000 mL. Pipetou-se alíquotas de 10, 20, 40, 60 e 80 mL para balão volumétrico de 100 mL, completando-se o volume com a fase móvel. As concentrações foram de, respectivamente, 20, 40, 80, 120 e 160 µg/mL.
- **Curva padrão da teobromina:** dissolveu-se na fase móvel (água : metanol – 75 : 25) 200mg de teobromina (Sigma – T 4500, 99% de pureza) em um balão de 1000mL. Pipetaram-se alíquotas de 2,5; 5; 10; 20 e 40 mL para balão volumétrico de 100 mL, completando-se o volume com a fase móvel. As concentrações foram de, respectivamente, 5, 10, 20, 40, 80 µg/mL.

- **Curva padrão da teofilina:** dissolveu-se na fase móvel (água : metanol – 75:25) 200 mg de teofilina anidra (Sigma – T 1633, 99% de pureza) em um balão de 1000 mL. Pipetaram-se alíquotas de 0,5; 1; 2; 4 e 8 mL para balão volumétrico de 100 mL, completando-se o volume com a fase móvel. As concentrações foram de, respectivamente, 0,5; 1; 2; 4; 8 e 16 µg/mL.

Após o preparo das curvas de calibração, os padrões foram filtrados em membrana Schlercher Schuell de porosidade 0,45 µm e 13 ± 0,5 mm de diâmetro em frascos âmbar de 10 mL e analisados em cromatógrafo líquido de alta eficiência da marca Shimadzu equipado com detector DAD 280 nm com coluna cromatográfica C18 da Shimadzu Shim pack CLC-ODS de 15 cm, com fase móvel água : metanol (75:25) com fluxo de 1,0 mL/min.

As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Química Analítica Aplicada do Departamento de Engenharia Química – Setor de Tecnologia da Universidade Federal do Paraná.

### 3.2.3 Análise de Taninos (Polifenóis totais)

Efetuu-se análise dos taninos (polifenóis totais) de acordo com PARANÁ (1986), onde foram preparados extratos com 1 g de material foliar de cada amostra. O material foliar foi levado ao aquecimento sob refluxo com 100 mL de água deionizada durante aproximadamente 1 hora. Posteriormente, efetuou-se uma diluição 1:10 e desta pipetou-se 5 mL da solução num balão volumétrico de 100 mL contendo 75 mL de água deionizada. Adicionou-se 5 mL do reagente de Folin – Denis, 10 mL de solução saturada de carbonato de sódio e completou-se o volume com água deionizada. Após repousar por 30 minutos, determinou a absorbância da solução no comprimento de onda de 760 nm, em cubeta de quartzo de 1 cm de espessura, no espectrofotômetro de marca Micronal – B 382.

- **Preparo do reagente Folin-Denis:** 100 g de tungstato de sódio, 20 g de ácido fosfomolibdico e 50 mL de ácido fosfórico foram dissolvidos em 750 mL de água deionizada. A solução foi deixada em refluxo por duas horas, resfriada e diluída até 1 litro com água deionizada.

- **Preparo da solução saturada de carbonato de sódio:** 35 g de carbonato de sódio foram dissolvidos em 100 mL de água deionizada a 70-80°C. A solução foi deixada em repouso por uma noite e depois filtrada.
- **Preparo da curva padrão do ácido tânico:** 500 mg de ácido tânico foram dissolvidos em 500 mL de água deionizada. Alíquotas de 1,5; 2; 3; 3,5 e 4 mL da solução de ácido tânico padrão foram pipetadas para balões volumétricos de 25 ml, e adicionados 5 mL de reagente de Folin-Denis, 10 mL de solução saturada de carbonato de sódio, completado-se o volume dos balões com água deionizada. As concentrações foram de, respectivamente, 6, 8, 12, 14 e 16 µg/mL. Deixando em repouso por 30 minutos, as absorvâncias foram lidas no espectrofotômetro em 760 nm.

Os resultados dos polifenóis totais foram expressos em g/100g de amostra com equivalente de ácido tânico.

As análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Química Analítica Aplicada do Departamento de Engenharia Química – Setor de Tecnologia da Universidade Federal do Paraná.

### 3.3 ANÁLISE DE SOLO

Para amostragem de solo procedeu-se com auxílio de trado holandês, retirando amostras à profundidade 0 – 20 cm em quatro pontos da projeção da copa, em fevereiro de 2002. O solo foi seco ao ar e peneirado (TFSA). A determinação química do solo EMBRAPA (1997) foi através de amostras compostas e subdivididas por morfotipo, finalizando 18 amostras. Determinou-se o teor de nitrogênio total extraído do solo.

As análises foram realizadas no Laboratório de Biogeoquímica e Nutrição de Plantas do Departamento de Solos da Universidade Federal do Paraná.

### 3.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E TRATAMENTOS

Os dados foram analisados segundo um delineamento inteiramente casualizado com arranjo fatorial, onde foram testados seis tratamentos com seis

repetições cada (sendo estas repetições compostas de três análises laboratoriais para a cafeína e teobromina, quatro análises laboratoriais para os taninos, uma análise laboratorial para N-total das folhas e uma análise laboratorial para N-total do solo – pois as análises de N-total apresentam uma menor variabilidade). Os tratamentos apresentados na tabela 3 representam a combinação dos dois níveis do fator A (idade das folhas) com três níveis do fator B (morfotipo).

TABELA 3 – TRATAMENTOS E COMBINAÇÕES DO FATOR A (IDADE DAS FOLHA) COM O FATOR B (MORFOTIPO)

TRATAMENTOS	Níveis do Fator A	Níveis do Fator B
A1B1	1	1
A2B1	2	1
A1B2	1	2
A2B2	2	2
A1B3	1	3
A2B3	2	3

Os resultados foram submetidos à análise de variância. Inicialmente as variâncias dos tratamentos foram avaliadas quanto à sua homogeneidade pelo teste de Bartlett. Mostrando-se homogêneas tiveram as médias dos tratamentos testados por meio do teste de F. Quando os resultados revelaram existir diferenças estatísticas significantes entre as médias de tratamentos, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey no nível de 5% de probabilidade. O programa estatístico utilizado foi o MSTATC (1989) da Michigan State University, versão 2.10 em sistema DOS.

### 3.5 ANÁLISE DE CORRELAÇÕES SIMPLES

Foram estabelecidas correlações lineares simples de todas as variáveis químicas foliares e do solo. Considerou-se como sendo significativas as correlações que apresentaram probabilidade de significância de 5% .

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 ANÁLISE QUÍMICA FOLIAR

Quanto ao peso equivalente a 100 folhas, que representa uma unidade específica, os resultados mostraram-se maiores para as folhas maduras, sendo apresentados na tabela 4.

TABELA 4 – PESO (g) EQUIVALENTE A 100 FOLHAS EM FOLHAS JOVENS E MADURAS NOS TRÊS MORFOTIPOS DE ERVA-MATE

Morfotipo	Peso médio equivalente a 100 folhas	
	Folha Jovem (g)	Folha Madura (g)
Amarelinha	24,532	31,623
Cinza	32,522	35,228
Sassafrás	21,727	39,378

Entre os morfotipos, o sassafrás foi o que apresentou o maior valor numérico em folhas maduras, seguido do cinza e do morfotipo amarelinha (sassafrás > cinza > amarelinha) e o morfotipo cinza foi quem apresentou o maior valor numérico em folhas jovens, seguido do morfotipo amarelinha e do sassafrás (cinza > amarelinha > sassafrás). O resultado das médias de 100 folhas jovens e maduras encontram-se no anexo 2.

Os resultados deste trabalho em relação ao peso equivalente de 100 folhas maduras dos três morfotipos foram semelhantes aos encontrados por BOEGER *et al.* (2003), que analisando folhas maduras de três morfotipos de erva-mate observaram que o morfotipo amarelinha difere-se estatisticamente dos demais morfotipos na área e no peso foliar seco. As folhas do morfotipo amarelinha apresentaram-se 19,9% menores do que as folhas do morfotipo cinza e 21,3% do que as do morfotipo sassafrás. As folhas do morfotipo cinza e do morfotipo sassafrás apresentaram 21,4% e 19,5% mais massa foliar seca do que as folhas do morfotipo amarelinha, respectivamente.

#### 4.1.1 Determinação do N-total Foliar

Os resultados analíticos do N-total foliar encontram-se no anexo 3.

Os teores médios do N-total foliar obtido pelas análises estão apresentados na tabela 5.

TABELA 5 – TEORES DE N-TOTAL FOLIAR DE TRÊS MORFOTIPOS DE ERVA-MATE

Morfotipo	Idade das folhas	Média N-total foliar (g kg <sup>-1</sup> amostra)
Amarelinha	Jovens	27,06 A
Amarelinha	Maduras	28,69 A
Cinza	Jovens	29,85 A
Cinza	Maduras	29,90 A
Sassafrás	Jovens	30,31 A
Sassafrás	Maduras	31,50 A

Médias seguidas pela mesma letra na vertical, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

O teor de N-total foliar (tabela 5) não apresenta diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ) entre os morfotipos e a idade das folhas, conforme análise constante do anexo 16.

Para as folhas jovens e maduras o morfotipo sassafrás apresentou os maiores teores se comparados com o cinza e o cinza maiores teores se comparados com o morfotipo amarelinha (sassafrás > cinza > amarelinha). Entre os tipos de folhas jovens e maduras, as folhas maduras apresentaram os maiores teores nos três morfotipos.

Os teores de N-total foliar variaram entre 27,05 a 31,50 g kg<sup>-1</sup>, considerados elevados. REISSMANN e PREVEDELO (1992) encontraram teores de 29 g kg<sup>-1</sup> que consideraram elevados. De 21,9 a 24,3 g kg<sup>-1</sup> foi considerado normal por CAMPOS (1991). De 17,2 a 24,6 g kg<sup>-1</sup> foi considerado teores médios a baixo por FOSSATI (1997) baseando-se em SOSA (1992). REISSMANN et al. (1983) encontraram os teores de 15 a 22 g kg<sup>-1</sup> que foram considerados satisfatórios na ocasião, embora tenham sido os primeiros trabalhos com a espécie.

CORRÊA *et al.* (2003) analisando também os teores de N-total nas folhas em três morfotipos, observaram que os teores de nitrogênio não apresentaram diferenças estatísticas significativas entre eles, encontrando os seguintes resultados:



para o morfotipo amarelinha 20,8 g kg<sup>-1</sup> ; para o morfotipo cinza 22,8 g kg<sup>-1</sup> e para o morfotipo sassafrás 23,5 g kg<sup>-1</sup>. Apesar dos resultados do presente estudo haverem sido obtidos em fevereiro de 2002, demonstraram ser bastante semelhantes aos encontrados em janeiro de 2001 por CORRÊA *et al* (2003).

#### 4.1.2 Determinação da Cafeína, Teobromina e Teofilina

Os resultados analíticos dos teores de cafeína e teobromina encontram-se nos anexos 5, 6, 7, e 8. Os cromatogramas das análises por HPLC encontram-se no anexo 4.

A teofilina não foi detectada em nenhuma das amostras, provavelmente devido a sua baixa solubilidade em água, solvente utilizado para efetuar as extrações.

Os teores médios de cafeína e teobromina encontrados por HPLC são apresentados na tabela 6.

TABELA 6 – TEORES MÉDIOS DE CAFEÍNA E TEOBROMINA EM TRÊS MORFOTIPOS DE ERVA-MATE

<b>Morfotipo</b>	<b>Idade das folhas</b>	<b>Cafeína (g/100g de amostra ou %)</b>	<b>Teobromina (g/100 de amostra ou %)</b>
Amarelinha	Jovens	1,7201 A	0,4687 A
Amarelinha	Maduras	1,6685 A	0,2783 B
Cinza	Jovens	1,8554 A	0,4864 A
Cinza	Maduras	1,7942 A	0,3970 B
Sassafrás	Jovens	2,2255 A	0,4734 A
Sassafrás	Maduras	1,7487 A	0,1480 B

Médias seguidas pela mesma letra na vertical, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Embora não tenham sido observadas diferenças estatísticas significativas ( $p < 0,05$ ) para cafeína, conforme anexo 12, observou-se que o morfotipo da erva-mate que apresentou o maior teor de cafeína em folhas jovens foi o sassafrás, seguidos pelo cinza e depois pelo morfotipo amarelinha (sassafrás > cinza > amarelinha). Nas folhas maduras o morfotipo que apresentou maior teor de cafeína foi o cinza seguido pelo sassafrás e pelo morfotipo amarelinha (cinza > sassafrás > amarelinha).

Para a teobromina ocorreram diferenças estatísticas significativas ( $p < 0,05$ ) para a idade das folhas (folhas jovens e maduras), onde as folhas jovens apresentaram os maiores teores (conforme anexo 13). Porém entre os morfotipos não ocorreram diferenças estatísticas significativas, sendo o morfotipo que apresentou o maior teor nas folhas jovens o cinza seguido do sassafrás e do morfotipo amarelinha (cinza > sassafrás > amarelinha). Nas folhas maduras o morfotipo que apresentou o maior teor de teobromina foi o cinza seguido pelo morfotipo amarelinha e pelo sassafrás (cinza > amarelinha > sassafrás). Confirmou-se o que PAULA (1968) havia constatado: que a riqueza relativa aos alcalóides diminui com a idade das folhas.

VASQUEZ e MOYNA<sup>24</sup> determinaram através de HPLC 0,56% de cafeína, 0,03% de teobromina e 0,02% de teofilina em erva-mate (VALDUGA, 1995).

GOSMANN (1989) analisando por cromatografia em camada delgada extratos de talos e folhas de erva-mate de procedência RS, detectou a presença de cafeína e teobromina, a teofilina não foi detectada.

CHIFFORD e MARTINEZ<sup>25</sup> através de HPLC analisaram amostras comerciais de erva-mate, quantificaram teores de cafeína e teobromina, mas a teofilina não foi detectada (VALDUGA, 1995).

MAZZAFERA (1994) também analisou amostras de folhas de erva-mate crescendo a pleno sol em Campinas SP e constatou de forma semelhante a esse trabalho que o teor de cafeína em folhas jovens (0,77%) era maior se comparado com folhas velhas (0,63%). Já para teores de teobromina, foi encontrado 0,009% para folhas novas e 0,37% para as folhas velhas e neste trabalho foram encontrados os maiores teores para as folhas jovens se comparados com as folhas maduras. Quanto a teofilina, as folhas velhas apresentaram 0,016% e as folhas jovens 0,0048% e neste trabalho ela não foi detectada.

REGINATO et al. (1999) analisando por HPLC amostras de folhas jovens e maduras de erva-mate encontraram níveis de cafeína variando de 0,16% em folhas maduras a 1,4% em folhas jovens; teobromina em níveis variando de 0,02% em folhas maduras e 0,27% em folhas jovens e a teofilina não foi detectada.

SALDANÃ *et al.* (2000) determinaram através de HPLC os teores de cafeína,

---

<sup>24</sup> VAZQUEZ, A.; MOYNA, P. Studies on mate drinking. *J. Ethno-pharmacol.*, v. 18, p. 267-272, 1986.

teobromina e teofilina, usando extração com dióxido de carbono supercrítico, encontrando, respectivamente, 7474,4; 258,9 e 30 mg/kg de erva-mate.

MAZZAFERA (1999) havia constatado em plântulas de café (*Coffea arabica* L.), que o nível de cafeína é nivelado pelas condições de nutrição mineral. Neste trabalho o nível de cafeína não apresentou diferenças estatísticas significativas entre a cafeína e o nitrogênio total do solo.

PETERMANN e BAUMANN (1983) propuseram que sob condições de alta demanda de nitrogênio, que constituem a cafeína, podem estar sendo usadas como um recurso para a planta. Mas para MAZZAFERA (1990), o conteúdo é reflexo direto do nível de nitrogênio, variando como parte integrada do metabolismo de compostos nitrogenados da planta em função do fornecimento deste elemento.

CLOUGHLEY (1982) também observou que no chá (*Camelia sinensis*), o teor de cafeína varia em função do nível de nitrogênio na planta durante o ano.

ZAMPIER (2001) verificou forte influência da presença de matéria orgânica no aumento do teor foliar da cafeína (1,10% a 1,32%). Os tratamentos onde foi aplicado N-P-K não tiveram diferenças estatísticas em relação à testemunha, verificou também a alta correlação da cafeína com nitrogênio foliar ( $r=0,99$ ) dizendo poder significar que o teor de cafeína na planta é diretamente proporcional ao nitrogênio disponível, variando de acordo com o fornecimento do elemento.

Comparando os teores de cafeína e a teobromina com os dados obtidos por SCHERER et al. (2002), que encontraram para cafeína teores que variaram de 0,74% a 1,50% e para a teobromina de 0,51% a 1,12% em doze famílias investigadas, os valores obtidos na presente investigação são mais elevados para a cafeína e situam-se abaixo dos valores obtidos para a teobromina, conforme mostra a tabela 6. No entanto, aqueles autores não fazem referência à época de coleta do material, à idade das folhas e se o plantio é a céu aberto ou não.

Os teores de teobromina e principalmente os de cafeína encontrados neste trabalho foram superiores aos teores encontrados por: VALDUGA (1995); REGINATO et al. (1999); GNOATTO et al. (2000); DA CROCE (2000); DONADUZZI et al. (2000) e ZAMPIER (2001). Sabe-se, porém, que esses compostos variam dependendo da procedência do produto, condições ambientais, fatores edafo-

---

<sup>25</sup> CHIFFORD, M. N.; MARTINEZ, J. R. R. Chlorogenic acids and purine alkaloid contents of maté leaf and beverage. *J. Food Chem.*, v. 35, n. 1, p. 13-21, 1990.

climáticos, tratos culturais, variedade genética da planta, ocorrências de pragas, condições de crescimento, técnicas de cultivo e poda, idade da planta e folhas, época da colheita, tipo de processamento industrial, aspectos sazonais, tempo de armazenamento, tempo de prateleira e dos métodos extrativos usados para a quantificação (PARANÁ, 2000; ESMELINDRO *et al*, 2002). Estas podem ser algumas das justificativas para as diferenças encontradas neste trabalho.

Para a teofilina seria interessante desenvolver mais estudos sobre qual a melhor forma de extração da mesma na erva-mate, pois a teofilina apresenta baixa solubilidade em água (MILLER, 1982). No mesmo sentido, qual a melhor fase móvel para efetuar a leitura desses compostos e efetuar uma varredura para identificar qual o melhor comprimento de onda para executar a leitura.

#### 4.1.3 Determinação de Taninos

Os resultados analíticos dos taninos encontram-se nos anexos 9 e 10.

Os teores médios dos taninos obtidos pela análise no espectrofotômetro UV visível encontram-se na tabela 7.

TABELA 7 – TEORES MÉDIOS DOS TANINOS EM TRÊS MORFOTIPOS DE ERVA-MATE

Morfotipo	Idade das folhas	Média taninos (g/100g amostra ou %)
Amarelinha	Jovens	13,6958 C
Amarelinha	Maduras	12,9530 C
Cinza	Jovens	20,5911 AB
Cinza	Maduras	18,2607 ABC
Sassafrás	Jovens	22,1339 A
Sassafrás	Maduras	15,7772 BC

Médias seguidas pela mesma letra na vertical, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Observaram-se diferenças estatísticas significativas ( $p < 0,05$ ) para idade das folhas (jovens e maduras) e ( $p < 0,01$ ) para morfotipos (conforme anexo 14), sendo o morfotipo amarelinha estatisticamente diferente do cinza e do sassafrás nas concentrações de taninos (ácido tânico).

Os resultados de taninos das folhas jovens foram maiores para o morfotipo

sassafrás (22,13%) seguido do cinza (20,59%) e do morfotipo amarelinha (13,69%). Para as folhas maduras o morfotipo que apresentou um maior teor de taninos foi o cinza (18,26%) seguido pelo sassafrás (15,77%) e pelo morfotipo amarelinha (12,95%).

PAULA (1968), constatou que o teor de taninos nas folhas aumenta com a idade até tornarem as mesmas adultas, diminuindo em seguida nas folhas mais velhas, variando também em função da época de coleta do material. Assim, folhas colhidas em uma mesma árvore, em plena época de renovação vegetativa, no final da primavera, deram os seguintes resultados para taninos: 7,35% nas primeiras 2<sup>a</sup> e 3<sup>a</sup> folhas do mesmo broto; 8,30% na 3<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> folhas seguintes; 9,50% em folhas plenamente adultas e 6,80% em folhas com 2 a 3 anos de idade. No entanto nas amostras coletadas no inverno (repouso vegetativo) foram encontrados teores mais elevados dos que os obtidos na primavera, correspondendo a 11,30%; 9,50%; 9,15% e 7,60% de taninos, respectivamente.

Neste trabalho, os resultados foram semelhantes aos encontrados por PAULA (1968). Foi encontrado maior teor de taninos no inverno nas folhas jovens e não nas maduras, isso pode ser devido às plantas aqui analisadas serem plantadas a pleno sol e os taninos estarem agindo como uma forma de defesa das folhas novas ao estresse causado pelo ambiente. (COELHO *et al.*, 2000; SALATINO *et al.*, 1988; STRACK, 1997)

A coleta também foi realizada no inverno e os teores encontrados para os taninos neste trabalho foram superiores aos encontrados por PAULA (1968); VALDUGA (1995); RACHWAL *et al.* (2000) e ZAMPIER (2001). Isso pode ser devido a idade das folhas, procedência, insolação, mecanismo de defesa contra herbivoria e interação com o mecanismo vegetal (COLEY, 1986; KOZLOWSKI and PALLARDY, 1997; STRACK, 1997 )

## 4.2 ANÁLISE DO SOLO

O resultado analítico do N-total do solo encontra-se no anexo 3

Os teores médios do N-total do solo são apresentados na tabela 8.

TABELA 8 – TEORES MÉDIOS DE N-TOTAL DO SOLO

<b>Morfotipo</b>	<b>N-total do Solo (g kg<sup>-1</sup> amostra)</b>
Amarelinha	2,270 A
Cinza	2,260 A
Sassafrás	2,192 A

Médias seguidas pela mesma letra na vertical, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

O teor de nitrogênio total presente no solo (tabela 8) não apresenta diferenças estatísticas significativas entre os morfotipos conforme análise constantes no anexo 15. Portanto pode se dizer que a mineralização da matéria orgânica no solo ocorre de forma uniforme na área de plantio. Da mesma forma, o carbono orgânico (TOMÉ JR,1997) apresenta um teor médio de 2,3g.kg<sup>-1</sup>(REISSMANN *et al.*, 2003). Fazendo a relação C/N, obtemos um valor igual a 10,3, o que indica boas condições de decomposição da matéria orgânica e conseqüente liberação de nitrogênio para absorção pela planta. Isto explica os altos valores encontrados nas folhas constantes da tabela 5.

#### 4.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E TRATAMENTOS

Na tabela 9 são apresentados os resultados da análise de variância dos dados das variáveis avaliadas e os valores de Qui-quadrado ( $\chi^2$ ) referentes ao teste de Bartlett. Pode se observar que as variáveis analisadas apresentam variância dos tratamentos homogêneos, não requerendo transformação dos dados.

TABELA 9 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS DADOS REFERENTE ÀS VARIÁVEIS ANALISADAS

QUADRADOS MÉDIOS						
Fontes de variação	Graus de liberdade	Cafeína	Teobromina	Taninos	N-total no solo	N-total foliar
Fator A	1	0,348 <sup>ns</sup>	0,366*	88,934*	0,000 <sup>ns</sup>	0,082 <sup>ns</sup>
Fator B	2	0,258 <sup>ns</sup>	0,051 <sup>ns</sup>	138,320**	0,000 <sup>ns</sup>	0,286 <sup>ns</sup>
Interação AB	2	0,176 <sup>ns</sup>	0,042 <sup>ns</sup>	25,125 <sup>ns</sup>	0,000 <sup>ns</sup>	0,020 <sup>ns</sup>
Erro Experimental	30	0,442	0,056	11,861	0,000	0,211
Coef. de variação (%)		36,23	63,01	19,98	6,62	15,56
Qui-quadrado (X <sup>2</sup> )		4,411 <sup>ns</sup>	6,779 <sup>ns</sup>	6,214 <sup>ns</sup>	1,684 <sup>ns</sup>	2,621 <sup>ns</sup>

ns não significativo

\* significativo a 5% de probabilidade

\*\* significativo a 1 % de probabilidade

Por meio da tabela 9 verifica-se que para a variável cafeína, N-total no solo e N-total nas folhas não houveram diferenças estatísticas significativas ( $p < 0,05$ ).

Para a teobromina houve diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ) no fator A (idade das folhas), mas não houve diferença estatística significativa no fator B (morfotipos) e na interação dos fatores A e B, indicando que seus efeitos são independentes.

Para os taninos houve diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ) no fator A (idade das folhas) e diferença estatística significativa ( $p < 0,01$ ) no fator B (morfotipo). A interação dos fatores A e B não foi estatisticamente significativa, indicando que seus efeitos são independentes.

As médias da teobromina são apresentadas na tabela 10 e as médias dos taninos são apresentadas na tabela 11

TABELA 10 – MÉDIAS DA TEOBROMINA QUANDO SUBMETIDAS AOS DOIS NÍVEIS DO FATOR A (IDADE DAS FOLHAS) E AOS TRÊS NÍVEIS DO FATOR B (MORFOTIPOS)

	FATOR	MÉDIAS
<b>Fator A</b> (idade das folhas)	A <sub>1</sub> (folhas jovens)	0,476 A
	A <sub>2</sub> (folhas maduras)	0,274 B
<b>Fator B</b> (morfotipos)	B <sub>1</sub> (morfotipo amarelinha)	0,373 A
	B <sub>2</sub> (morfotipo cinza)	0,442 A
	B <sub>3</sub> (morfotipo sassafrás)	0,311 A
<b>Média da teobromina</b> quando submetida ao fator A e ao fator B	A <sub>1</sub> B <sub>1</sub> (jovem - amarelinha)	0,469 A
	A <sub>1</sub> B <sub>2</sub> (jovem - cinza)	0,486 A
	A <sub>1</sub> B <sub>3</sub> (jovem - sassafrás)	0,474 A
	A <sub>2</sub> B <sub>1</sub> (madura - amarelinha)	0,278 A
	A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> (madura - cinza)	0,397 A
	A <sub>2</sub> B <sub>3</sub> (madura - sassafrás)	0,148 A

Médias seguidas pela mesma letra na vertical, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

TABELA 11 – MÉDIAS DOS TANINOS QUANDO SUBMETIDAS AOS DOIS NÍVEIS DO FATOR A (IDADE DAS FOLHAS) E AOS TRÊS NÍVEIS DO FATOR B (MORFOTIPOS)

	FATOR	MÉDIAS
<b>Fator A</b> (idade das folhas)	A <sub>1</sub> (folhas jovens)	18,81 A
	A <sub>2</sub> (folhas maduras)	15,66 B
<b>Fator B</b> (morfotipos)	B <sub>1</sub> (morfotipo amarelinha)	13,32 B
	B <sub>2</sub> (morfotipo cinza)	19,43 A
	B <sub>3</sub> (morfotipo sassafrás)	18,96 A
<b>Média dos taninos</b> quando submetida ao fator A e ao fator B	A <sub>1</sub> B <sub>1</sub> (jovem - amarelinha)	13,70 C
	A <sub>1</sub> B <sub>2</sub> (jovem - cinza)	20,59 AB
	A <sub>1</sub> B <sub>3</sub> (jovem - sassafrás)	22,13 A
	A <sub>2</sub> B <sub>1</sub> (madura - amarelinha)	12,95 C
	A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> (madura - cinza)	18,26 ABC
	A <sub>2</sub> B <sub>3</sub> (madura - sassafrás)	15,78 BC

Médias seguidas pela mesma letra na vertical, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

#### 4.4 ANÁLISE DE CORRELAÇÕES SIMPLES

As correlações lineares simples estabelecidas entre as variáveis químicas e o conteúdo de nitrogênio total foliar e do solo em três morfotipos de erva-mate são apresentados nos quadros 1 e 2.



QUADRO 1 – MATRIZ DE CORRELAÇÕES ENTRE AS VARIÁVEIS QUÍMICAS EM FOLHAS JOVENS DE TRÊS MORFOTIPOS DE ERVA-MATE

	<b>Cafeína (A, C, S)</b>	<b>Teobromina (A, C, S)</b>	<b>Taninos (A, C, S)</b>	<b>N-total do solo (A, C, S)</b>
N-total nas folhas - Amarelinha	0,33 (52%)	0,20 (69%)	- 0,77 (7%)	0,48 (33%)
N-total nas folhas - Cinza	0,85 (3%)	- 0,28 (59%)	- 0,54 (27%)	0,63 (18%)
N-total nas folhas - Sassafrás	0,72(10%)	0,04 (95%)	- 0,49 (32%)	- 0,08 (88%)
Cafeína - Amarelinha	1,00	- 0,75 (8%)	- 0,03 (96%)	- 0,19 (71%)
Cafeína - Cinza	1,00	- 0,59 (21%)	- 0,74 (9%)	0,62 (18%)
Cafeína - Sassafrás	1,00	- 0,31 (54%)	- 0,28 (59%)	- 0,32 (53%)
Teobromina - Amarelinha		1,00	- 0,15 (77%)	0,26 (61%)
Teobromina - Cinza		1,00	0,60 (21%)	- 0,65 (16%)
Teobromina - Sassafrás		1,00	0,64 (17%)	- 0,19 (72%)
Taninos - Amarelinha			1,00	- 0,46 (35%)
Taninos - Cinza			1,00	- 0,82 (4%)
Taninos - Sassafrás			1,00	- 0,48 (33%)
N-total do solo - Amarelinha				1,00
N-total do solo - Cinza				1,00
N-total do solo - Sassafrás				1,00

( ) valor referente a % de probabilidade de significância do coeficiente de correlação linear ( r )  
(A, C, S) morfotipo amarelinha cinza e sassafrás

Para as folhas jovens do morfotipo amarelinha não foram observadas correlações significativas inferiores a 5% de probabilidade ( $p < 0,05$ ). Foram observadas correlações com probabilidade de 7% de significância entre os taninos e o nitrogênio das folhas ( $r = -0,77$ ); e com probabilidade de 8% de significância entre a cafeína e a teobromina ( $r = -0,75$ ).

Para o morfotipo cinza foram observadas as seguintes correlações significativas ( $p < 0,05$ ) para as folhas jovens: correlação com probabilidade de 3% de significância entre cafeína e N-total das folhas ( $r = 0,85$ ); correlação com probabilidade de 4% de significância entre taninos e N-total do solo ( $r = -0,82$ ). Também foi observada correlação com probabilidade de 9% de significância entre cafeína e taninos ( $r = 0,74$ );

Para o morfotipo sassafrás não foram observadas correlações significativas a 5% de probabilidade ( $p < 0,05$ ). Foram observadas correlações com probabilidade de 10% de significância entre cafeína e N-total das folhas ( $r = 0,72$ );

QUADRO 2 – MATRIZ DE CORRELAÇÕES ENTRE AS VARIÁVEIS QUÍMICAS EM FOLHAS MADURAS DE TRÊS MORFOTIPOS DE ERVA-MATE

	<b>Cafeína (A, C, S)</b>	<b>Teobromina (A, C, S)</b>	<b>Taninos (A, C, S)</b>	<b>N-total do solo (A, C, S)</b>
N-total nas folhas - Amarelo	0,61 (20%)	- 0,22 (68%)	0,06 (90%)	- 0,01 (98%)
N-total nas folhas - Cinza	0,92 (0,9%)	- 0,16 (76%)	- 0,64 (17%)	0,47 (35%)
N-total nas folhas - Sassafrás	- 0,19 (72%)	0,33 (52%)	0,49 (32%)	- 0,20 (70%)
Cafeína - Amarelo	1,00	- 0,65 (16%)	- 0,11 (82%)	- 0,51 (30%)
Cafeína - Cinza	1,00	- 0,34 (50%)	- 0,51 (30%)	0,59 (22%)
Cafeína - Sassafrás	1,00	0,44 (38%)	0,53 (28%)	- 0,43 (39%)
Teobromina - Amarelo		1,00	0,05 (93%)	0,07 (89%)
Teobromina - Cinza		1,00	0,64 (17%)	- 0,93 (0,8%)
Teobromina - Sassafrás		1,00	0,33 (52%)	- 0,46 (36%)
Taninos - Amarelo			1,00	- 0,07 (89%)
Taninos - Cinza			1,00	- 0,80 (5%)
Taninos - Sassafrás			1,00	- 0,82 (4%)
N-total do solo - Amarelo				1,00
N-total do solo - Cinza				1,00
N-total do solo - Sassafrás				1,00

( ) valor referente a % de probabilidade de significância do coeficiente de correlação linear ( r )  
(A, C, S) morfotipo amarelinha cinza e sassafrás

Para as folhas maduras do morfotipo amarelinha não foram observadas correlações significativas a 5% de probabilidade ( $p < 0,05$ ).

Para o morfotipo cinza foram observadas as seguintes correlações significativas ( $p < 0,01$ ) para as folhas maduras: correlação com probabilidade de 0,9% de significância entre cafeína e N-total das folhas ( $r = 0,92$ ); correlação com probabilidade de 0,8% de significância entre N-total do solo e a teobromina ( $r = -0,93$ ). Também foi observada correlação significativas com probabilidade de 5% de significância entre N-total do solo e os taninos ( $r = 0,74$ );

Para o morfotipo sassafrás foi observada correlação significativa de 4% de probabilidade de significância ( $p < 0,05$ ). entre N-total do solo e os taninos ( $r = 0,72$ );

O morfotipo cinza foi o que apresentou o maior número de correlações significativas e o que demonstrou maior similaridade entre folhas jovens e maduras, tanto na quantificação dos seus componentes quanto na semelhança das correlações estabelecidas entre eles. As correlações fenotípicas entre cafeína e teobromina, bem como as correlações entre cafeína e nitrogênio também foram observadas por SCHERER (2002) e ZAMPIER (2001), respectivamente. Estes aspectos sugerem a necessidade de pesquisas direcionadas para o esclarecimento destas evidências.

Diversos estudos indicam que a concentração de alguns compostos como teobromina e cafeína na cera epicuticular é variável, o que poderia refletir na composição química da cutícula, originando diferentes padrões de coloração (ATHAYDE, *et al.* 2000).

BOEGER *et al.* (2003) analisaram folhas maduras de três morfotipos de erva-mate da ervateira Bitumirim em Ivaí do Sul – PR e observaram que as concentrações de clorofila total diferiam significativamente entre os morfotipos, o cinza com maiores concentrações e o morfotipo amarelinha com menores, o cinza e o sassafrás mostraram 58,1% e 29,4% mais clorofila que o morfotipo amarelinha, respectivamente.

A concentração de clorofila nas folhas é um dos fatores que influenciam na cor da erva-mate, que por sua vez, é um parâmetro de qualidade (MORAWICKI *et al.*, 1999). A quantidade de clorofila numa planta é influenciada pela intensidade luminosa. Folhas sob alta incidência de luz possuem maior quantidade de clorofila por cloroplastos e xantofilas por área (LAMBERS *et al.*, 1998). Entretanto, BOEGER *et al.* (2003) afirmam que as diferentes tonalidades entre os morfotipos parecem estar mais relacionadas com as características genéticas de cada morfotipo (material de procedência) do que com as condições ambientais.

Nos três morfotipos em estudo foram encontrados teores elevados para cafeína, teobromina e taninos em comparação aos trabalhos já citados na literatura. Os motivos podem ser justificados devido ao elevado teor N total foliar e do solo, os quais demonstraram correlações. Um outro motivo pode ser o plantio a céu aberto que esteja proporcionando estresse às plantas e estas em sua defesa produzem quantidades mais elevadas daqueles compostos.

## 5 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste trabalho possibilitaram as seguintes conclusões:

- Nos três morfotipos em estudo foi possível obter uma seleção rigorosa dos diferentes indivíduos de mesma espécie, crescendo no mesmo solo, com a mesma idade e sexo;
- Os teores de cafeína, teobromina e taninos pertinentes a cada morfotipo, em amostragem das brotações jovens e folhas maduras foram determinados. Sendo a cafeína mais concentrada no morfotipo sassafrás nas folhas jovens e no morfotipo cinza nas folhas maduras; A teobromina é mais concentrada no morfotipo cinza, tanto em folhas jovens quanto nas folhas maduras; Os taninos são mais concentrados nas folhas jovens do morfotipo sassafrás, enquanto no morfotipo cinza são mais concentrados nas folhas maduras;
- O nitrogênio do solo não apresenta diferença estatística significativa;
- O nitrogênio foliar não apresenta diferença estatística significativa;

Foram observadas as seguintes correlações significativas:

- Para o nitrogênio dos solos foram verificadas correlações significativas negativas ( $p < 0,05$ ) com os taninos para o morfotipo cinza, tanto nas folhas jovens quanto nas folhas maduras e para o morfotipo sassafrás nas folhas maduras; com a teobromina foi verificada correlação negativa para o morfotipo cinza nas folhas maduras;
- Para o nitrogênio nas folhas foram verificadas correlações significativas positivas com a cafeína do morfotipo cinza nas folhas jovens ( $p < 0,05$ ) e nas folhas maduras ( $p < 0,01$ ); com a cafeína do morfotipo sassafrás nas folhas jovens ( $p < 0,10$ ); e correlações negativas com os taninos nas folhas jovens do morfotipo amarelinha ( $p < 0,10$ );
- Para a cafeína foram verificadas ainda correlações significativas ( $p < 0,010$ ) negativas com a teobromina do morfotipo amarelinha nas folhas jovens e correlação positiva com os taninos do morfotipo cinza também nas folhas jovens.

## REFERÊNCIAS

ANDRADE, F. M. **Diagnóstico da cadeia produtiva da *Ilex paraguariensis* St. Hil. Erva-mate.** Disponível em <[http://www.Unicamp.br/nipe.rbma.erv\\_.htm](http://www.Unicamp.br/nipe.rbma.erv_.htm)> Acesso em: 10 abr. 2004. São Matheus do Sul, 1999.

ANUÁRIO BRASILEIRO DA ERVA MATE. Santa Cruz do Sul (RS): Gazeta Grupo de Comunicações, 1999. 63p.

ARANDA, D. **Área de distribución natural de la yerba mate.** Cerro Azul: INTA, Estacion Experimental Agropecuária Misiones, 1986. (Micelanea, 14)

ASHIHARA, H.; CROZIER, A. Caffeine: well known but little mentioned compound in plant science. **Trends in Plant Science** v. 6, n. 9, p. 407-413, 2001.

ASHIHARA, H. Purine metabolism and the biosynthesis of caffeine in maté leaves **Phytochemistry**, Bunkyo-city, Tokyo, v. 33, n. 6, p. 1427-1430, fev. 1993.

ATHAYDE, M. L.; COELHO, G. C.; SCHENKEL, E. P. Caffeine and theobromine in epicuticular wax of *Ilex paraguariensis* St. Hil. **Phytochemistry** v. 55 p. 853-857, 2000.

BADIN, P.; DEULOFEU, V. GALMARINI, O. L. Chlorogenic and chlorogenic like acids in mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). **Chem. and Ind**, p. 258-258, 1962.

BEART. J. E.; TILLEY, T. H.; HASLAM, E. Plant. Polyphenols secondary metabolism and chemical defense: some observations. **Phytochemistry**, v. 24, p. 33-38, 1985.

BEAUDIN – DUFOUR, D.; MULLER, L. E. Efect de la radiation solaire et de l'âge sur le contenu en caféine et en azote des feuilles et des fruits de trois espèces de caféiers. **Turrialba**, Costa Rica, v. 21, p. 387-392, jul. 1971.

BERTONI, M. H.; PRAT KRINCUN, S. D.; KANZIG, R. G. ; CATTANEO, P. Fresh leaves of *Ilex paraguariensis* Saint Hil. III. Effect of different stages of the traditional process for yerba mate production on the composition of fresh leaves. 1992. Buenos Aires. **Anales De La Asociación Química Argentina**. Buenos Aires v. 80, n. 6., 1992 p. 493-501.

BOEGER, M. R. T.; REISSMANN, C. B.; BORILLE, A. M. W. Análise morfológica foliar de três morfotipos de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil). In: CONGRESSO SUL AMERICANO DE ERVA-MATE, 3; FEIRA DO AGRONEGÓCIO DA ERVA-MATE, 1, 2003, Chapecó. **Anais...** Chapecó: Ed. News Print, 2003.

BOUGARDT, A. C. **Desenvolvimento de uma bebida, utilizando extrato de erva-mate verde (*Ilex paraguariensis* St. Hil.)** Curitiba, 2000. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Química) – Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná.

BRITO FILHO, D. **Toxicologia humana e geral**. 2. ed., São Paulo: Ed. Livraria Atheneu, p. 412-418, 1988.

BREMNER, J. M. Nitrogen-Total. In SPARTS, D. L. (Ed.) **Methods of Gril Analysis**. Part 3- Chemical Methods. p. 1085-1121. 1996.

CAMPOS, M. A. **Balço de biomassa e nutrientes em povoamento da *Ilex paraguariensis*. Avaliação na safra e na safrinha**. Curitiba, 1991. 107f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.

CAMPOS, M. A.; ESCOBAR, J.; LISSI, E. A. The total reactive antioxidant potential (TRAP) and total antioxidant reactivity (TAR) of *ilex paraguariensis* extracts and redwin. **J. Braz. Chem. Soc.**, [S.l.], v.7, n.1, p.43-49, 1996.

CANNAS, A. **Tannins: fascinating but sometimes dangerous molecules**, Italia, 1999. Disponível em <<http://www.ansci.cornell.edu/plants/toxicagents/tannin.htm>>. Acesso em 30 de mar. de 2004.

CARPANEZZI, A. C. Cultura da erva-mate no Brasil: conflitos e lacunas. In: REUNIÃO TÉCNICA DO CONE SUL, 1. 1995, Porto Alegre. **Erva-mate, biologia e cultura no Cone Sul**. Porto Alegre: Ed Universidade/UFRGS, 1995. p. 43-46.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira**. Curitiba: EMBRAPA/CNPF, 1994.

CLOUGHLEY, J. B. Factors influencing the caffeine content of black tea: the effect of field variables. **Food Chemistry**, v. 9, p. 269-276, 1982.

COELHO, G. C.; RACHWAL, M.; SCHNORREBERGER, E.; SCHENKEL, E. P.. Efeito do sombreamento sobre a sobrevivência, morfologia e química da erva-mate. In CONGRESSO SUL-AMERICANO DE ERVA-MATE, 2; REUNIÃO TÉCNICA DA ERVA-MATE, 3, 2000, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: Ed. dos Organizadores, 2000. p.396-399.

COLEY, P. D.; BARONE, J. A. Herbivory and plant defenses in tropical forests. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 27 p. 305-335, 1996.

CORRÊA, D. R.; REISSMANN C. B.; CRUZ. A. C. L. da; BOEGER, M. R.; RIBEIRO, M.M.; DÜNICH, O. Teores e conteúdos de N em folhas de morfotipos de erva-mate em plantios comerciais. In: CONGRESSO SUL AMERICANO DE ERVA-MATE, 3; FEIRA DO AGRONEGÓCIO DA ERVA-MATE, 1, 2003, Chapecó. **Anais...** Chapecó: Ed. News Print, 2003.

CORRÊA, M.P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: IBDF, 1969. v. 4, p. 138-143.

COSTA, A. F. **Farmacognosia**. 3. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, v. 2, 1972.

COSTA, S.G. **A erva-mate**. Curitiba: Cientia et Labor, 1989.

CRUZ, G. L. **Dicionário das plantas úteis do Brasil**. 2. ed. Rio de Janeiro: Civilização Brasileira, 1982. p. 322-325.

DA CROCE, D. M. Características físico-químicas de extratos de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil) no Estado de Santa Catarina. **Ciência Florestal**, v. 12, n. 2, p. 107-113.

DONADUZZI, C. M. et al. Teores de cafeína, polifenóis totais e taninos em amostras de erva-mate comercializadas na região de Toledo /PR. In: CONGRESSO SUL AMERICANO DE ERVA-MATE, 2; REUNIÃO TÉCNICA DA ERVA-MATE, 3, 2000, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: Ed. dos Organizadores, 2000. p. 158-161.

DUARTE, F. **Seleção, treinamento de julgadores e metodologia para análise sensorial de extrato de erva-mate**, Curitiba 2000. 63p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Química) – Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná.

EMATER – Paraná. **Manual da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.)**. Curitiba, 1991, 104p.

EMBRAPA. **Manual de métodos de análise de solo. Centro Nacional de Pesquisa de Solos** 2. ed. Rio de Janeiro, 1997, 212p.

ESMELINDRO, M. C.; TONIAZZO, G.; WACZUK, A.; DARIVA, C. OLIVEIRA, D. Caracterização físico-química da erva-mate: Influência das etapas do processamento industrial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.22, n. 2, p. 193-204, 2002.

ESMELINDRO, A. A.; GIRARDI, J. S.; MOSELE, S.; DARIVA, C. Efeito da intensidade de luz e idade de folha sobre o extrato de erva-mate obtido por CO<sub>2</sub> a altas pressões. In: CONGRESSO SUL AMERICANO DE ERVA-MATE, 3; FEIRA DO AGRONEGÓCIO DA ERVA-MATE, 1, 2003, Chapecó. **Anais...** Chapecó: Ed. News Print, 2003.

FAGUNDES, G. **Cevando mate**. Porto Alegre: Habitasul. 1980, 135p.

FELÍCIO, J. D.; YOUNG M. C. M. Dosagens de taninos e fenóis totais nos extratos etanólicos das folhas e galhos de *Vitis vinifera*. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo. v. 65, n. 1 p. 63-67. Jan./jun. 1998.

FIEDLER, H. J.; NEBE, W.; HOFFMANN, F.; ForstlichePflanzenernährung and Düngung. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag, 1973. 481p.

FERREIRA FILHO, J. C. **Cultura e preparo da erva-mate**. 2 ed. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, 1957. 64p. (Serviços de Informação Agrícola, 680).



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

FOSSATI, L. C. **Avaliação do estado nutricional e da produtividade da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St.Hil.), em função do sítio e da dioxina.** Curitiba, 1997. 113f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal). Curso de Pós-Graduação em Engenharia Florestal. Universidade Federal do Paraná

FRANKEL, A. M. **La yerba mate: producción industrialización, comercio.** Buenos Aires: Albatroz, 1983.

GILBERTI, G.C. Aquifoliaceae. **Flora del Paraguay.** Ginebra. 33p. 1994.

GNOATTO, S. C. B.; BASSANI, V. L.; COELHO, G. C.; SCHENKEL, E. P. Análise da influência de diferentes métodos de extração sobre a quantificação de metilxantinas em *Ilex paraguariensis*. In CONGRESSO SUL-AMERICANO DE ERVA-MATE, 2; REUNIÃO TÉCNICA DA ERVA-MATE, 3, 2000, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: Ed. dos Organizadores, 2000. p.400-402.

GOSMANN, G. **Saponinas de *Ilex paraguariensis* St. Hil. (erva-mate).** Porto Alegre, 1989. 108p. Dissertação (Mestrado em Farmácia), Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

GREEN, F. B.; CORCORAN, M. R. Inhibitory action de cinco tannins on growth induced by several gibberellins. **Plant Physiology**, v. 56, n. 6, p. 801-806, 1975.

HEMINGWAY, R. W. **Chemistry and significance of condensed tannins**, New York: Plenum press, 1989, 553p.

ISO. INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **Tea and instant tea in solid form: determination of caffeine content – Method using high performance liquid chromatography.** ISO 10272. Geneva: ISO, 2002.

KAWAKAMI, M.; KOBAYASHI, A. Volatile Constituents of green mate and roasted mate. **J. Agric. Food Chem.** v. 39, p. 1275-1279, 1991.

KIEHL, E. J. **Fertilizantes orgânicos.** São Paulo: Agronômica Ceres, 1985

KOZLOWSKI, T. T.; PALLARDY, S. G. **Physiology of woody plants.** Academic Press, 1997, 411p.

LAMBERS, H.; CHAPIN III, F. S.; PONS, T. L.. **Plant Physiological Ecology.** Springer Verlag, 1998. 356p.

MACCARI JUNIOR, A.; AZZOLINI, M. Erva-mate e seu uso medicinal In: MACCARI JUNIOR, A.; MAZUCOWSKI, J. Z. **Produtos alternativos e desenvolvimento da tecnologia industrial na cadeia produtiva da erva-mate.** Curitiba PR, 2000 p. 92-100.

MACCARI JUNIOR, A.; SANTOS, A. P. R. Parâmetros tecnológicos para a utilização industrial da erva-mate. In: MACCARI JUNIOR, A.; MAZUCHOWSKI, J. Z. **Produtos alternativos e desenvolvimento da tecnologia industrial na cadeia produtiva da erva-mate**. Curitiba – Paraná. p. 43-68, 2000.

MACEDO, I. C. C.; CHIEA, S. C. Flora Fanerogâmica da reserva do parque estadual das fontes do Ipiranga (SP). **Hoehnea**, v. 13, p 141-143, 1986.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. London: Academic Press, 1986, 647p.

MARTINS, R. ***Ilex – Mate, Chá Sul Americano***, 1926.

MATTOS, N. F.; Revisão taxonômica da erva-mate – *Ilex paraguayensis* St. Hil.. In: SEMINÁRIO SOBRE ATUALIDADES E PERSPECTIVAS FLORESTAIS, 10, 1985, Curitiba. **Anais...** Curitiba: EMBRAPA/CNPF, 1985. p. 37-46.

MAYOL, R. M. **Fisiologia da produção da erva-mate (*Ilex paraguayensis* St Hil.)**. Piracicaba, 1993. 39f. Trabalho de Graduação (Monografia) – Setor de Fisiologia, Universidade de Piracicaba – ESALQ.

MAZUCHOWSKI, J. Z. **A cultura da erva-mate**. Curitiba: Empresa Paranaense de Assistência Técnica e Extensão Rural, 1989. 36p.

MAZUCHOWSKI, J. Z.; RUCKER, N. G. A. **Diagnóstico e alternativas para a erva-mate *Ilex paraguayensis***. Curitiba: Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento, Departamento de Economia Rural, 1993. 141p.

MAZZAFERA, P.; YAMAOKA-YANO, D. M. VITORIA, A. P. Para que serve a cafeína em plantas? **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v. 8, n. 1, 1996, p. 67-74.

MAZZAFERA, P. Caffeine, Theobromine and Theophylline distribution in *Ilex paraguayensis* St Hil. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v. 6 n. 2, p. 149-151, set. 1994.

MAZZAFERA, P. Estudo sobre o papel da cafeína em plântulas de café (*Coffea arabica* L.). **Revista Brasileira de Botânica**, Campinas, v. 13, p. 97-102, jan. 1990.

MAZZAFERA, P. Mineral nutrition and caffeine content in coffee leaves. **Bragantia**, Campinas, v. 58, n. 2, p. 387-391, jul. 1999.

METCHE, M. **Tanins, nature et propriétés, Groupe Polyphénols**. Nancy. v. 10, p. 11-32, 1980.

MILLER, O. **Farmacologia clínica e terapêutica**. Rio de Janeiro: Livraria Ateneu, 1982 p. 74-75.

MISRA, N.; LUTHRA, R.; SINGH, K. L. ; KUMAR, S. Recent advances in biosynthesis of alkaloid. In: BARTON, S. D.; NAKANISHI, K.; METH-COHN, O.; **Comprehensive natural products chemistry**. London, v.4, 1999.

MORAWICKI, R. O.; SCHMALKO, M. E.; KÄNZIG, R.G. Chlorophyll stability in yerba maté leaves in controlled atmospheres. **Brazilian Archives of Biology and Technology** v. 42, 1999. p. 85-90.

MSTATC. MICHIGAM State University. **MSTATC versão 2.10**. East Lansing, MI, 1989, 2 disquetes 3½ pol., MSDOS.

NACZK, M.; NICHOLS, T. PINK, D. SOSULSKI, F. Condensed tannins in canola hulls. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 42, n. 10, p. 2196-2200, 1994.

NEHLIG, A.; DEBRY, G. Caffeine and sports activity: a review. **Int. J. Sports med.**, [s.l.], n.15, p. 215-223, 1994.

OGA, S. **Fundamentos de toxicologia**. São Paulo, Ed. Ateneu, p. 359-363, 1996.

OLISIESKI, A. **Morfotipos de erva-mate**, (2003). 3 fot.: color.; 10x12 cm.

OLIVEIRA, Y. M. M. de; ROTTA, E. Área de distribuição natural de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St Hil.). In: SEMINÁRIO SOBRE ATUALIDADES E PERSPECTIVAS FLORESTAIS – SILVICULTURA DA ERVA-MATE 10. 2000, Curitiba **Anais...** Curitiba, EMBRAPA/CNPQ, 1985. p. 17-35.

PARANÁ – Secretaria da Agricultura e do Abastecimento do Paraná. **Erva-mate: prospecção tecnológica da cadeia produtiva**. Curitiba: SEAB, 1997. 121p.

PARANÁ. Câmara Setorial da Cadeia Produtiva da Erva-mate. **Produtos alternativos e desenvolvimento da tecnologia industrial na cadeia produtiva da erva-mate**. Curitiba: Ed. Do autor , 2000. Série PADCT III, n. 1. 160p.

PAULA, R. D. de G. Novos estudos sobre o mate. Rio de Janeiro, Ministério da Indústria e do Comércio/Instituto Nacional de Tecnologia, 1968. p 11-46.

PETERMANN, J. B.; BAUMANN, T. W. Metabolic relations between methylxanthines and methyluric acids in *Coffea* L. **Plant Physiology**, v. 73, p. 961-964, 1983.

PIZZI, A. Tannin-Based adhesives. In: PIZZI, A. (Ed) **wood adhesives: Chemistry and technology**, New York, Marcel Dekker, 1993, p. 177-246.

RACHWAL, M. F. G. et al. Influência da luminosidade sobre os teores de macronutrientes e taninos em folha de erva-mate. In: CONGRESSO SUL-AMERICANO DE ERVA-MATE, 2.; REUNIÃO TÉCNICA ERVA-MATE, 3. 2000, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: Ed. dos Organizadores, 2000. p. 417-420.

RADOMSKI et al. Avaliação dos teores de macro e micronutrientes em folhas jovens e velhas de erva-mate nativa. In: CONGRESSO NACIONAL SOBRE ESSÊNCIAS NATIVAS: CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE, 2, 1992, São Paulo. **Anais. Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v. 4, n. único, parte 2, 1992 (b). p. 453-456.

REGINATTO, F. H. et al. Methylxanthines Accumulation in *Ilex* Species- Caffeine and Theobromine in Erva-Mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) and other *Ilex* Species. **Journal Brazilian Chemistry Society**, v. 10, n. 6, p. 443-446, 1999.

REISSMANN, C. B.; CORRÊA, D. R.; BOEGER, M. R.; MACARRI JÚNIOR, A.; CRUZ, A. C. L.; RIBEIRO, M. M.; WISNIEWISKI, C. Calibração preliminar de Fe e Mn em erva-mate utilizando a análise foliar e extração do solo com ácido cítrico 1% e ácido clorídrico 1 mol. L<sup>-1</sup>. In: CONGRESSO SUL AMERICANO DE ERVA-MATE, 3; FEIRA DO AGRONEGÓCIO DA ERVA-MATE, 1, 2003, Chapecó. **Anais...** Chapecó: Ed. News Print, 2003.

REISSMANN, C. B.; DÜNISCH, O.; BOEGER, M. R. Beziehung Zwischen Ernährungsbiologischen (Fe, Mn, Ca) und Strukturellen Merkmalen Ausgewählter Morphotypen Der Mate-Pflanze (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). In: HÜTTL, R. F. **Boden, Wald und Wasser**. Germany, 2003. p. 146-171.

REISSMANN, C. B.; KOEHLER, C. W.; ROCHA, H. O.; HILDEBRAND, E. E. Avaliação das exportações de macronutrientes pela exportação da erva-mate. In: SEMINÁRIO SOBRE ATUALIDADES E PERSPECTIVAS FLORESTAIS, 10, 1985, Curitiba. **Anais...** Curitiba: EMBRAPA/CNPF, 1985. p. 128-140.

REISSMANN, C. B.; PREVEDELLO, B. M. S. Influência da calagem no crescimento e na composição química foliar da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). In: CONGRESSO NACIONAL SOBRE ESSÊNCIAS NATIVAS: CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE, 2., 1992, São Paulo. **Anais Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v. 4, n. único, parte 4, 1992, p. 625-629.

REISSMANN, C. B.; ROCHA, H. O. da & KOEHLER, C. W. Bioelementos em folhas e hastes de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) sobre cambissolo na região de Mandirituba-PR. Curitiba. **Revista Floresta**. v. 14 n. 2 p. 49-54, 1983.

REITZ, P. R.; EDWIN, G. **Aquifoliáceas. Flora Ilustrada Catarinense**, Itajaí: R Reitz, 47p., 1967.

REITZ, R.; KLEIN, R. M.; REIS, A. **Madeiras do Brasil**. Santa Catarina. Florianópolis: Lunardeli. 1979. 320p.

ROBBERS, J. E.; ATHAYDE, M. I.; TYLER, V. E. **Farmacognosia e Farmacobiotechnologia**. São Paulo: Editorial Premier, 1997. 372p.

ROLIM, E. **Contribuição ao estudo da erva-mate**. Curitiba, 1920. 97p. Dissertação (Doutorado). Faculdade de Medicina do Paraná.

RÜCKER, N. G. de A.; CIRIO, G. M. Ecofisiologia da erva-mate e os parâmetros legais In: MACCARI JUNIOR, A.; MAZUCOWSKI, J. Z. **Produtos alternativos e desenvolvimento da tecnologia industrial na cadeia produtiva da erva-mate.** Curitiba – Paraná. p. 105-119, 2000.

SALATINO, A.; MONTEIRO, W.R.; BOMTEMPI, N. Histochemical-localization of phenolic.deposits in shoot apices of common species of asteraceae. **Annals of Botany**, v. 61, p. 557-559, 1988.

SALDAÑA, M. D. A.MOHAMED, R. S.; MAZZAFERA, P. Supercritical carbon dioxide extraction of methylxanthines from Maté Tea leaves. **Brazilian Journal of Chemistry Eng.**, v. 17, n. 3, p. 1-14, 2000.

SALUNKHE, D. K.; CHAVAN, J. K.; KADAM, S. S. **Dietary tannins: consequences and remedies.** Boca Raton: CRC Press, p.1-310, 1990.

SANTOS, H. J. dos. A erva-mate em Mato Grosso do Sul. In: SEMINÁRIO SOBRE ATUALIDADES E PERSPECTIVAS FLORESTAIS- SILVICULTURA DA ERVA-MATE, 10. 1985, Curitiba. **Anais...**, Curitiba, EMBRAPA/CNPF, 1985. p. 13-16.

SAWYNOK, J. Pharmacological rationale for the clinical use of caffeine. **Drugs**, [S.l.], v. 49, n. 1, p. 37-50, 1995.

SCHERER, R.; UFER, 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. 230-210, 2002.

SGARBIERI, V. C. **Proteínas em alimentos protéicos: propriedades – degradações – modificações.** São Paulo: Varela, 1996. Cap. 5: Deterioração e modificações químicas, físicas e enzimáticas de proteínas.

SOSA, D. A. Evaluación de la productividad del cultivo de yerba mate en relación al estado nutricional suelo/planta. In CURSO DE CAPACITACIÓN EN PRODUCCIÓN DE YERBA MATE: Cerro Azul. **Anais...**Cerro Azul: INTA, Estación Experimental Agropecuaria Cerro Azul, 1992. p.61-64.

SOSA, D. A. Fertilización química, abonos, requerimientos nutricionales In PRAT KRINCUN, S. D. **Curso de capacitación em produção de yerba-mate.** Instituto Nacional de Tecnologia Agropecuária. Estacion Experimental Agropecuária Cerro Azul, 1994.

STRACK, D.; Phenolic metabolism. In: DEY, P.M.; HARBORNE, J.B. **Plant biochemistry.** Ed. Academic Press, London, 1997.

TORQUES, S.; ANDROCZEVECZ, S. R. **Projeto: Estudo preliminar para caracterização da erva-mate.** Araucária, 1997. 32 p.

URBAN, T. **O livro do matte.** Rio de Janeiro: Salamandra, 1990. 93p.

VALDUGA, E. **Caracterização química e anatômica da folha de *Ilex paraguariensis* Saint . Hilaire e de algumas espécies utilizadas na adulteração do mate.** Curitiba, 1995. 97p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Química) – Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná.

WALLER, G. R. & NOWACKI, E. K. **Alkaloid biology and metabolism in plants.** New York, Plenum Press, 1978. 293p.

WINK, M. Special nitrogen metabolism. In: DEY, P.M.; HARBORNE, J.B. **Plant biochemistry.** Ed. Academic Press, London, 1997.

ZAMPIER, A. C. **Avaliação dos níveis dos nutrientes, cafeína e taninos em erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) após adubação e sua relação com a produtividade.** Curitiba, 2001. 94p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.

ZANON, A. **Produção de sementes de erva-mate.** Curitiba: EMBRAPA-CNF, 1988, Circular Técnica, v. 16, 8p.

## **ANEXOS**

## LISTA DE ANEXOS

Continua

Página

ANEXO 1 -	TRABALHOS DESENVOLVIDOS RELATANDO A PRESENÇA E OS TEORES DE CAFEÍNA E TEOBROMINA; A EXISTÊNCIA DA TEOFILINA; E DETERMINAÇÕES QUANTITATIVAS DE XANTINAS.....	71
ANEXO 2 -	PESO EQUIVALENTE A 100 FOLHAS JOVENS E MADURAS DE TRÊS MORFOTIPOS DE ERVA-MATE.....	73
ANEXO 3 -	MÉDIAS PARA g DE N-TOTAL EM 100g DE AMOSTRA DE FOLHAS JOVENS, MADURAS E 100g DE AMOSTRA DE SOLO DE TRÊS MORFOTIPOS DE ERVA-MATE.....	74
ANEXO 4 -	CROMATOGRAMAS DE ANÁLISE (HPLC) DA CAFEÍNA E DA TEOBROMINA EM TRÊS MORFOTIPOS DE ERVA-MATE.....	75
ANEXO 5 -	MÉDIAS PARA g DE CAFEÍNA EM 100 g DE AMOSTRA DE FOLHAS JOVENS E MADURAS DE TRÊS MORFOTIPOS DE ERVA-MATE.....	86
ANEXO 6 -	MÉDIAS PARA g DE CAFEÍNA EM 100 FOLHAS JOVENS E MADURAS DE TRÊS MORFOTIPOS DE ERVA-MATE.....	87
ANEXO 7 -	MÉDIAS PARA g DE TEOBROMINA EM 100 g DE AMOSTRA DE FOLHAS JOVENS E MADURAS DE TRÊS MORFOTIPOS DE ERVA-MATE.....	88
ANEXO 8 -	MÉDIAS PARA g DE TEOBROMINA EM 100 FOLHAS JOVENS E MADURAS DE TRÊS MORFOTIPOS DE ERVA-MATE.....	89
ANEXO 9 -	MÉDIAS PARA g DE TANINOS EM 100 g DE AMOSTRA DE FOLHAS JOVENS E MADURAS DE TRÊS MORFOTIPOS DE ERVA-MATE.....	90
ANEXO 10 -	MÉDIAS PARA g DE TANINOS EM 100 FOLHAS JOVENS E MADURAS DE TRÊS MORFOTIPOS DE ERVA-MATE.....	91
ANEXO 11 -	ANÁLISE ESTATÍSTICA DE TRÊS MORFOTIPOS DE ERVA-MATE.....	92
ANEXO 12 -	ANÁLISE ESTATÍSTICA DA CAFEÍNA EM TRÊS MORFOTIPOS DE ERVA-MATE.....	94
ANEXO 13 -	ANÁLISE ESTATÍSTICA DA TEOBROMINA EM TRÊS MORFOTIPOS DE ERVA-MATE.....	96
ANEXO 14 -	ANÁLISE ESTATÍSTICA DE TANINOS EM TRÊS MORFOTIPOS DE ERVA-MATE.....	98



	conclusão
ANEXO 15 - ANÁLISE ESTATÍSTICA DE NITROGÊNIO TOTAL NO SOLO EM TRÊS MORFOTIPOS DE ERVA-MATE.....	101
ANEXO 16 - ANÁLISE ESTATÍSTICA DO NITROGÊNIO TOTAL FOLIAR EM TRÊS MORFOTIPOS DE ERVA-MATE.....	103
ANEXO 17 - CORRELAÇÕES ENTRE FOLHAS JOVENS DO MORFOTIPO AMARELINHA.....	105
ANEXO 18 - CORRELAÇÕES ENTRE FOLHAS MADURAS DO MORFOTIPO AMARELINHA.....	106
ANEXO 19 - CORRELAÇÕES ENTRE FOLHAS JOVENS DO MORFOTIPO CINZA.....	107
ANEXO 20 - CORRELAÇÕES ENTRE FOLHAS MADURAS DO MORFOTIPO CINZA.....	108
ANEXO 21 - CORRELAÇÕES ENTRE FOLHAS JOVENS DO MORFOTIPO SASSAFRÁS.....	109
ANEXO 22 - CORRELAÇÕES ENTRE FOLHAS MADURAS DO MORFOTIPO SASSAFRÁS.....	110

**ANEXO 1- TRABALHOS DESENVOLVIDOS RELATANDO A PRESENÇA E OS TEORES DE CAFEÍNA E TEOBROMINA; A EXISTÊNCIA DA TEOFILINA; E DETERMINAÇÕES QUANTITATIVAS DE XANTINAS**

continua

<b>PESQUISADOR</b>	<b>ANO</b>	<b>DETERMINAÇÃO</b>	<b>FORMA DE DETERMINAÇÃO E AMOSTRAS DETERMINADAS</b>
CORREA	1947	Trigoleína	Amostras não beneficiadas (0,49%) Amostras comerciais do PR (0,21%)
CORTES	1953	Cafeína	Amostras comerciais (0,9%)
DOMINGUES e RAGEL	1955	Cafeína	Mate verde (1,75%) Mate queimado (1,63%) Chimarrão tipo 1 (1,50%) Mate verde (infusão) (1,20%) Mate queimado (infusão) (1,13%) Chimarrão tipo 1 (infusão) (1,00%)
CORAZZI	1958	Cafeína	Identificou a presença em cromatografia em papel
WASICKY e TESTON	1964	Cafeína	Amostras de mate comercial (média 0,5 % – 1,8%)
MARAVALHAS	1965	Cafeína Teobromina Teofilina	Determinou por cromatografia em papel que estes alcalóides eram constituintes do fruto do mate
SHIMITZ e SHIMITZ	1967	Cafeína	Analizaram amostras comerciais do RS comparativamente por dois métodos: Método de BEHRER (método gravimétrico) (0,88%) Método de CORTES (método gravimétrico) (0,86%)
PAULA	1968	Cafeína	Erva-mate verde (1,10%) – infusão (0,016%) Erva queimada (0,96%) – infusão (0,015%) Tipo chá da Índia (2,10%) – infusão (0,043%) Chimarrão do Paraná (0,92%) – infusão (0,020%) Chimarrão do Mato Grosso do Sul (1,18%) – infusão (0,025%)
PAULA	1968	Cafeína  Teobromina	Analizou amostras de erva-mate Folhas novas (2,39%) Folhas mais desenvolvidas (2,05%) Folhas plenamente adultas, ± 1 ano (1,60%) Folhas velhas, 3 anos ou mais (0,68%) Erva-mate (0,30%) – infusão (0,04-0,005g/100mL)
PAULA	1968	Cafeína  Teobromina	Analizou folhas ± novas Talo branco (1,72%) Talo roxo (1,34%) Peluda ou timoneira (0,43%) Talo branco (0,190%) Talo roxo (0,160%) Peluda ou timoneira (0,096%)
SOLDI	1972	Cafeína e Teobromina	Separou estes alcalóides através de cromatografia em papel e por técnicas eletroforéticas
POKORNY et al.	1975	Cafeína	Identificaram a presença por cromatografia em gel
BALTASSAT et al	1984	Cafeína	Determinaram quantitativamente através de HPLC as xantinas. Usaram coluna C18 como fase estacionária e metanol + água (40:60) como fase móvel e detecção a 280 nm. (0,78 – 1,2% de cafeína)

PESQUISADOR	ANO	DETERMINAÇÃO	FORMA DE DETERMINAÇÃO E AMOSTRAS DETERMINADAS
BALTASSAT et al	1984	Cafeína	Determinaram quantitativamente através de HPLC as xantinas. Usaram coluna C18 como fase estacionária e metanol + água (40:60) como fase móvel e detecção a 280 nm. (0,78 – 1,2% de cafeína)
VERGNES e ALARY	1986	Cafeína	Determinaram quantitativamente através de HPLC as xantinas. Usaram coluna C18 como fase estacionária e metanol + água (40:60) como fase móvel e detecção a 280 nm. (0,6 – 1,6% de cafeína)
VASQUEZ e MOYNA	1986	Cafeína Teobromina Teofilina	Determinaram quantitativamente através de HPLC as xantinas. Usaram coluna C18 como fase estacionária e metanol + água (40:60) como fase móvel e detecção a 280 nm. Encontraram 0,56% de cafeína Encontraram 0,03% de teobromina Encontraram 0,02% de teofilina
GOSMANN	1989	Cafeína e Teobromina	Analisou por cromatografia em camada delgada extratos aquosos de talos e folhas de <i>Ilex paraguariensis</i> de procedência do Rio Grande do Sul . Talo roxo – presença de cafeína e teobromina no talo Talo branco – presença de cafeína no talo e nas folhas Piriquita – presença de cafeína e teobromina no talo e teobromina nas folhas. A teofilina não foi detectada
CHIFFORD e MARTINEZ	1990	Cafeína Teobromina	Analisaram amostras comerciais de erva-mate por HPLC, fase reversa com detecção a 276 nm. Mate seco Alemanha (1,09% de cafeína) Chá de erva-mate Brasil (0,89% de cafeína) Mate verde Alemanha (1,73% de cafeína) Chá de mate-Brasil (1,44% de cafeína) Mate tipo 1 Brasil (1,22% de cafeína) Mate seco Alemanha (0,66% de teobromina) Chá de erva mate Brasil (0,45% de teobromina) Mate verde Alemanha (0,88% de teobromina) Chá de mate Brasil (0,71% de teobromina) Mate tipo 1 Brasil (0,45% de teobromina) A teofilina não foi detectada

FONTE: revisão bibliográfica de VALDUGA (1995)

ANEXO 2 - PESO EQUIVALENTE A 100 FOLHAS JOVENS E MADURAS DE  
TRÊS MORFOTIPOS DE ERVA-MATE

FOLHAS JOVENS		FOLHAS MADURAS	
Amostra	Peso de 100 folhas	Amostra	Peso de 100 folhas
A1J	20,66	A1M	28,11
A2J	20,88	A2M	51,13
A3J	19,23	A3M	20,44
A4J	23,37	A4M	30,62
A5J	25,54	A5M	24,97
A6J	37,51	A6M	34,47
C1J	37,25	C1M	31,56
C2J	36,88	C2M	27,04
C3J	39,25	C3M	29,88
C4J	20,65	C4M	28,84
C5J	22,68	C5M	34,15
C6J	38,42	C6M	59,90
S1J	21,02	S1M	39,76
S2J	24,28	S2M	45,48
S3J	13,47	S3M	27,86
S4J	23,03	S4M	41,79
S5J	28,32	S5M	55,51
S6J	20,24	S6M	25,87

ANEXO 3 - MÉDIAS PARA G (GRAMAS) DE N-TOTAL EM 100G DE AMOSTRA DE FOLHAS JOVENS, MADURAS E 100G DE AMOSTRA DE SOLO DE TRÊS MORFOTIPOS DE ERVA-MATE

Folhas Jovens

Amostras	N-total nas folhas	N-total do solo
A1J	2,6710	0,227
A2J	2,2160	0,221
A3J	2,8770	0,232
A4J	2,7230	0,246
A5J	2,2710	0,207
A6J	3,4760	0,229
C1J	2,7520	0,240
C2J	2,6490	0,197
C3J	3,0110	0,218
C4J	3,0360	0,238
C5J	2,7070	0,218
C6J	3,7540	0,245
S1J	3,3680	0,210
S2J	3,0700	0,243
S3J	3,2230	0,211
S4J	2,7600	0,210
S5J	2,6490	0,220
S6J	3,1180	0,221

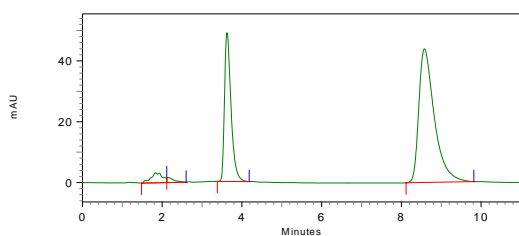
Folhas Maduras

Amostras	N-total nas folhas	N-total do solo
A1M	2,4740	0,227
A2M	2,7110	0,221
A3M	2,5850	0,232
A4M	2,8000	0,246
A5M	2,8890	0,207
A6M	3,7540	0,229
C1M	3,0590	0,240
C2M	2,2600	0,197
C3M	3,8180	0,218
C4M	2,7300	0,238
C5M	2,6030	0,218
C6M	3,4720	0,245
S1M	2,8780	0,210
S2M	2,5780	0,243
S3M	3,0400	0,211
S4M	2,9600	0,210
S5M	3,3710	0,220
S6M	4,0720	0,221

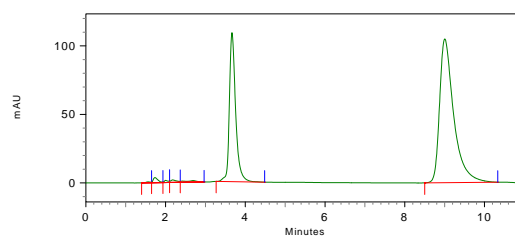
## ANEXO 4 - CROMATOGRAMAS DE ANÁLISE (HPLC) DA CAFEÍNA E DA TEOBROMINA EM TRÊS MORFOTIPOS DE ERVA-MATE

continua

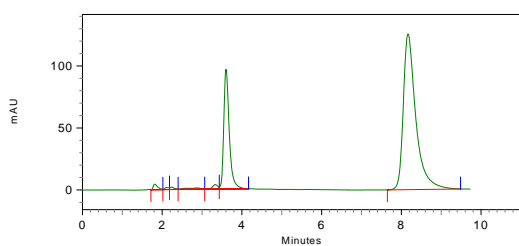
A1J



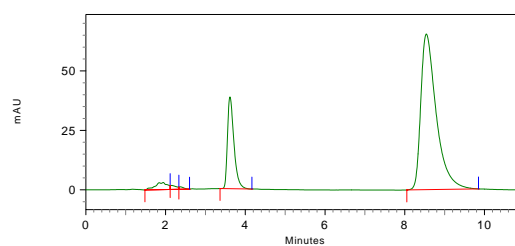
A1J



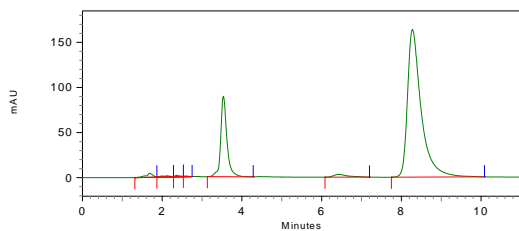
A1J



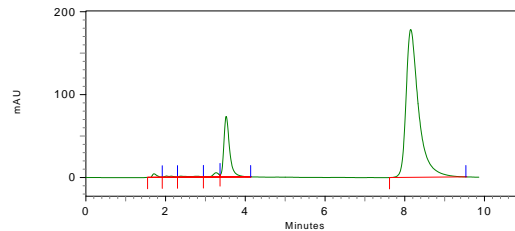
A2J



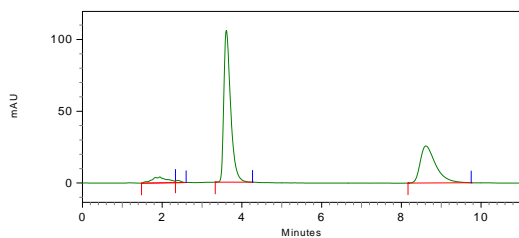
A2J



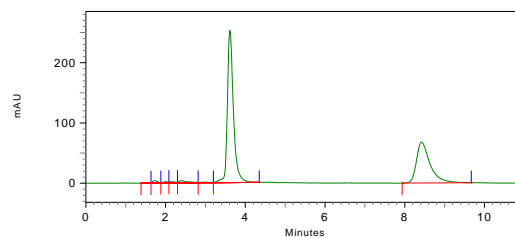
A2J



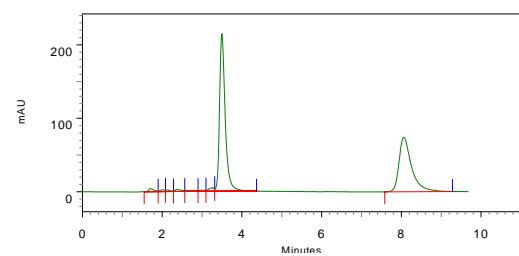
A3J



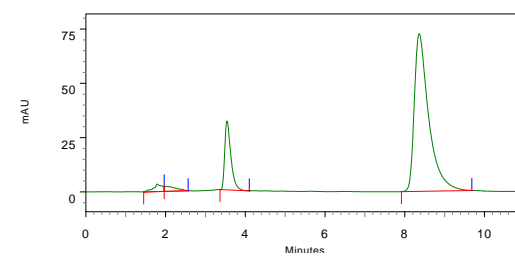
A3J



A3J

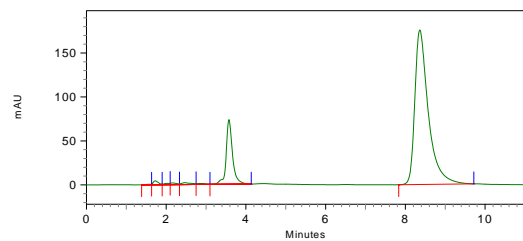


A4J

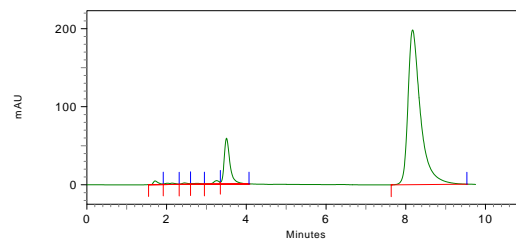


continuação

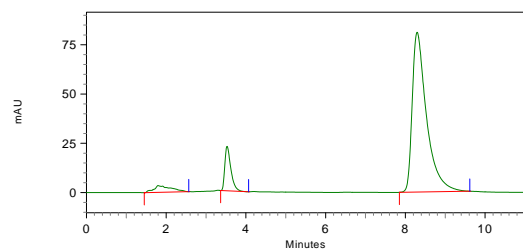
A4J



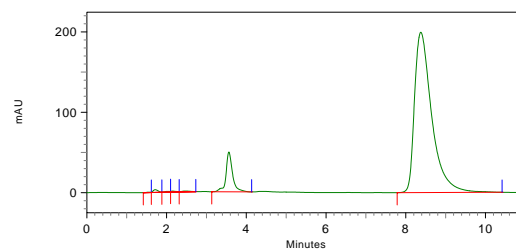
A4J



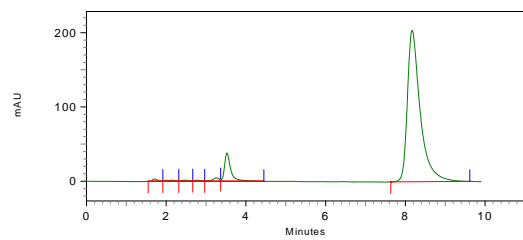
A5J



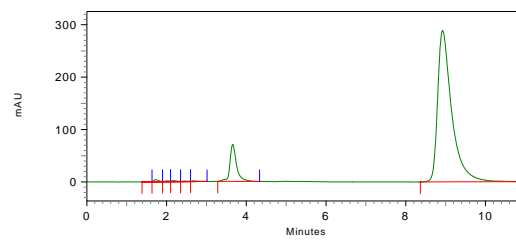
A5J



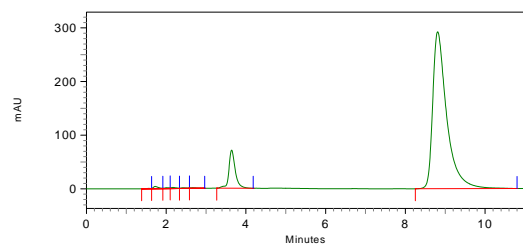
A5J



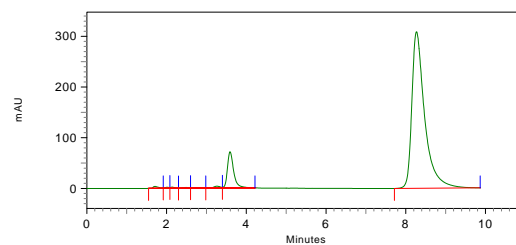
A6J



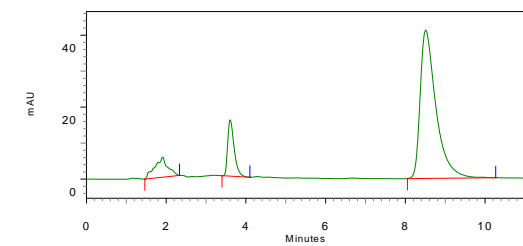
A6J



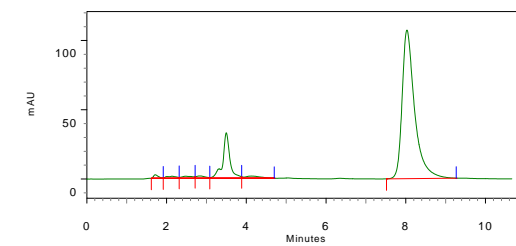
A6J



A1M

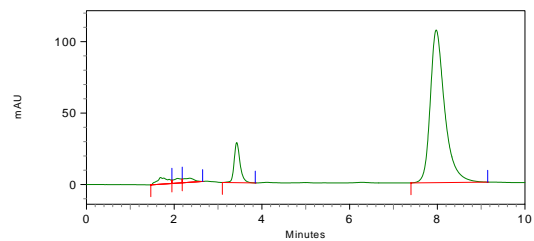


A1M

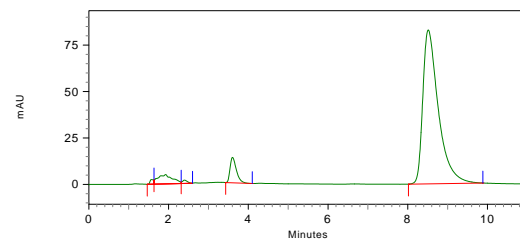


continuação

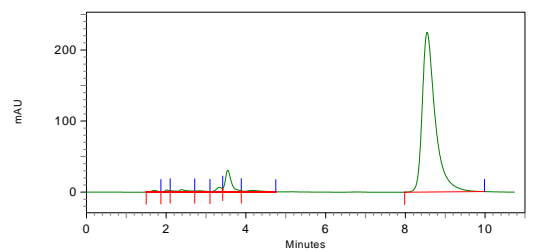
A1M



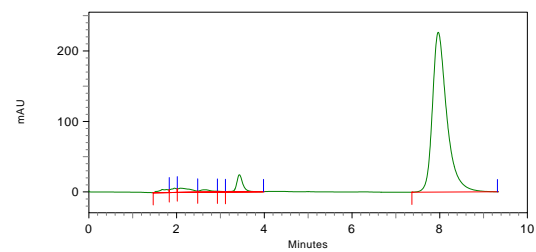
A2M



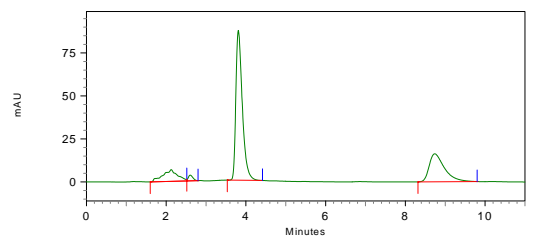
A2M



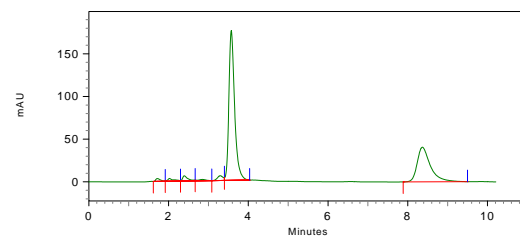
A2M



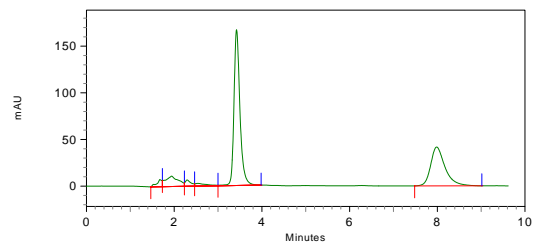
A3M



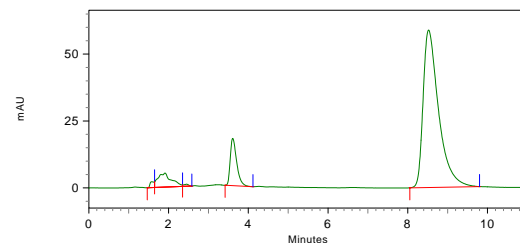
A3M



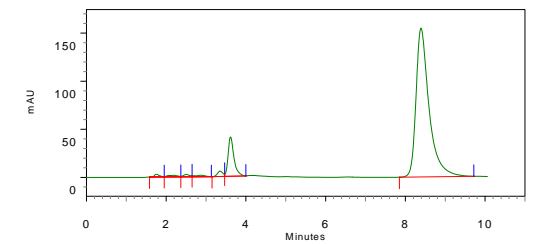
A3M



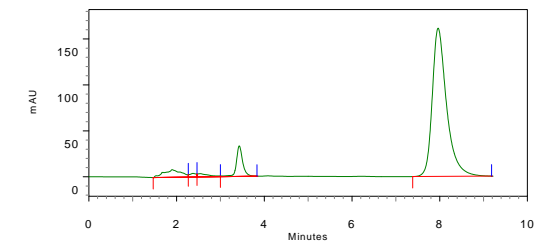
A4M



A4M



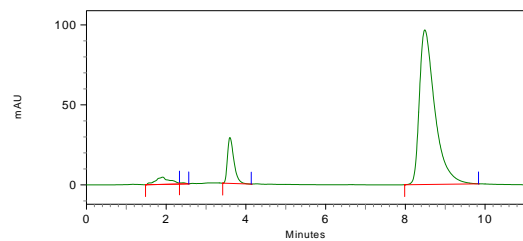
A4M



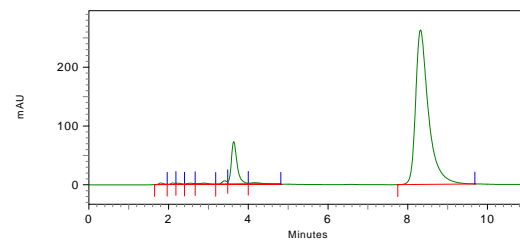


continuação

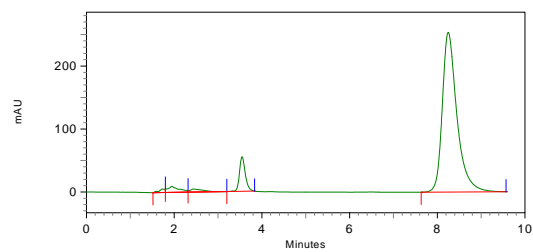
A5M



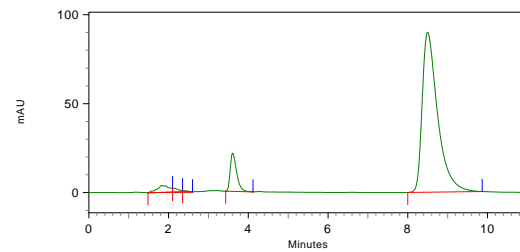
A5M



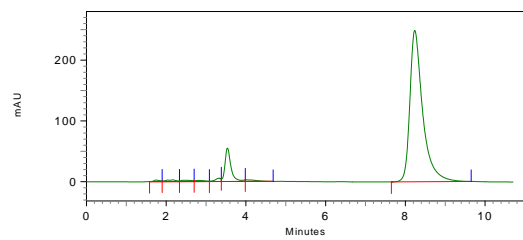
A5M



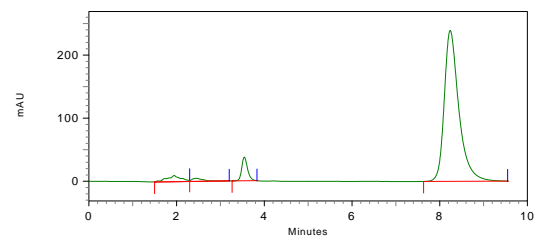
A6M



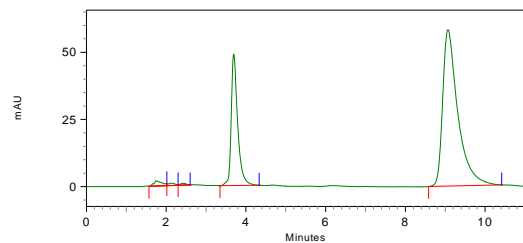
A6M



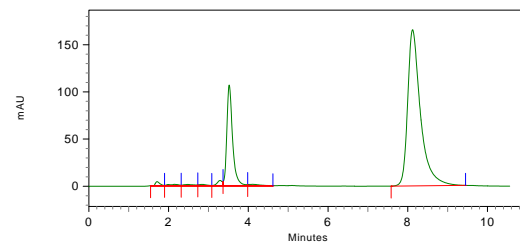
A6M



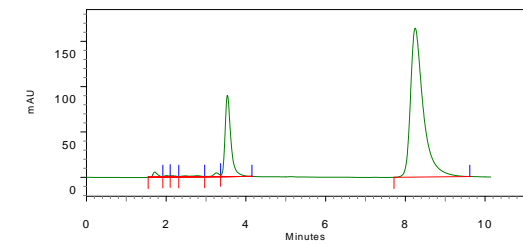
C1J



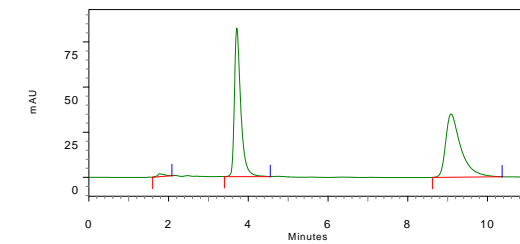
C1J



C1J

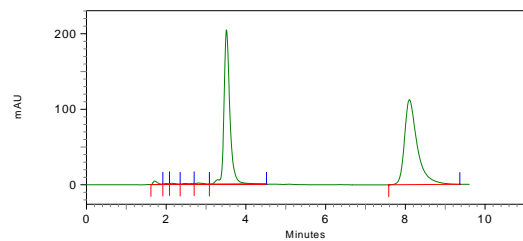


C2J

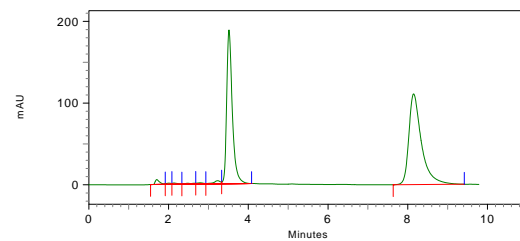


continuação

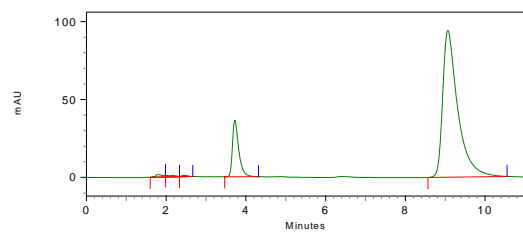
C2J



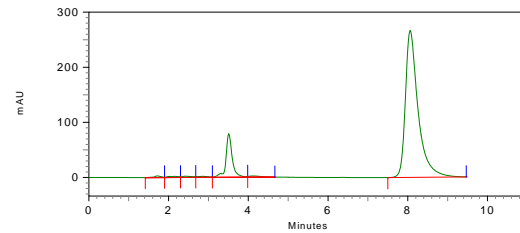
C2J



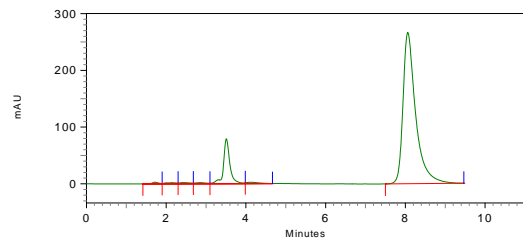
C3J



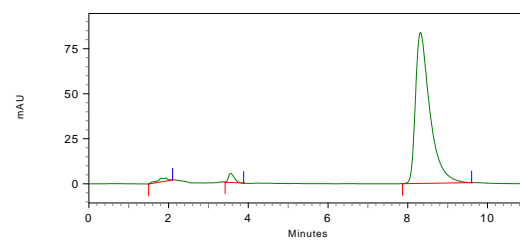
C3J



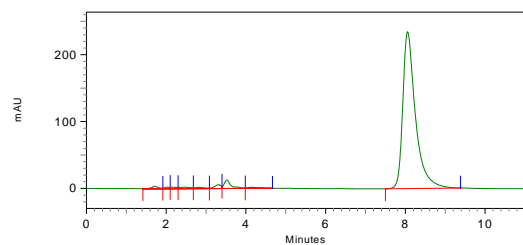
C3J



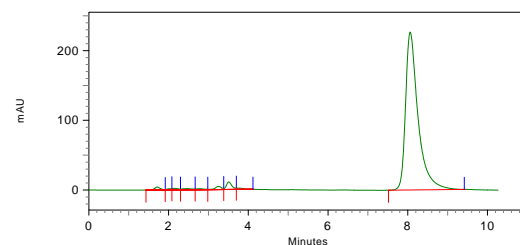
C4J



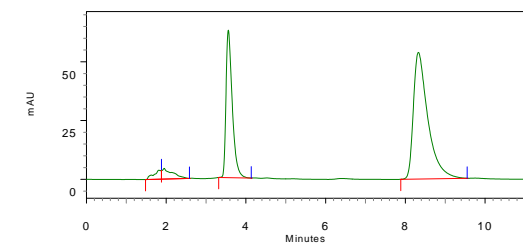
C4J



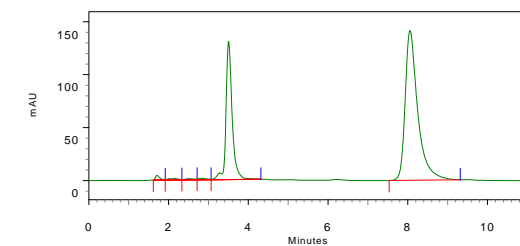
C4J



C5J

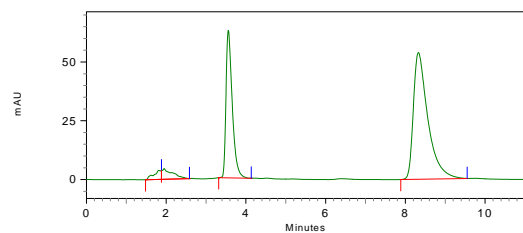


C5J

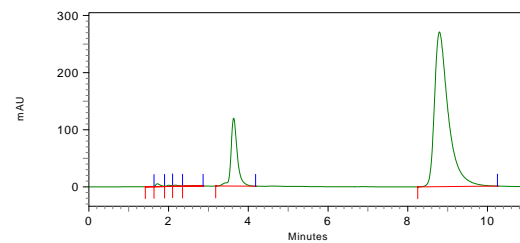


continuação

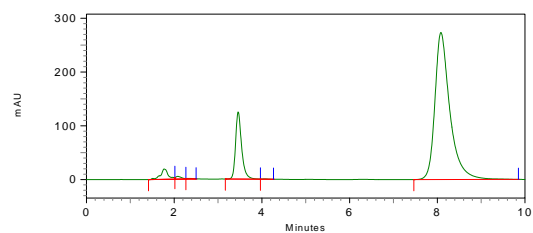
C5J



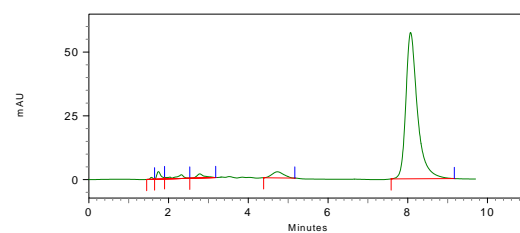
C6J



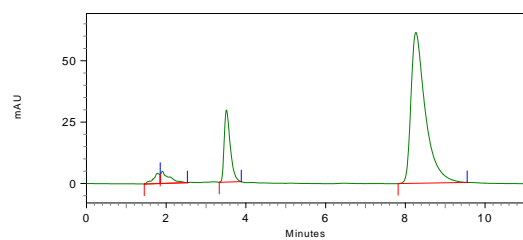
C6J



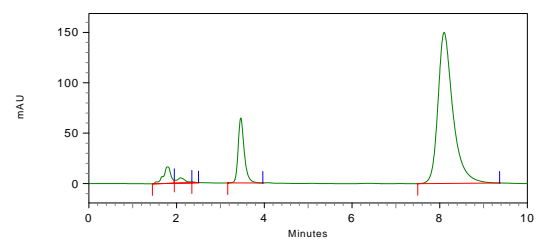
C6J



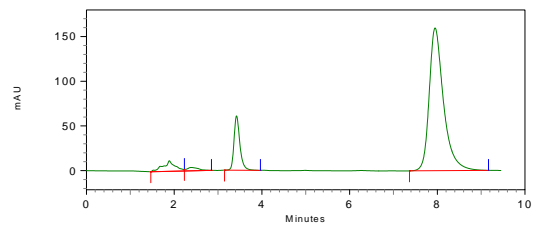
C1M



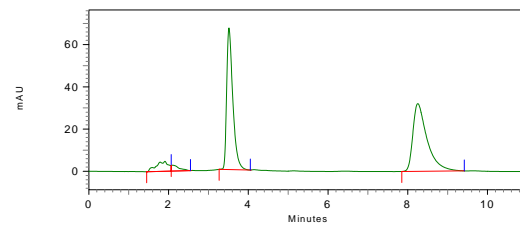
C1M



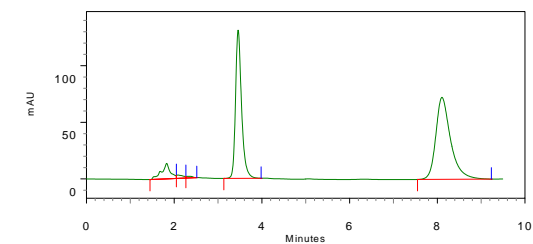
C1M



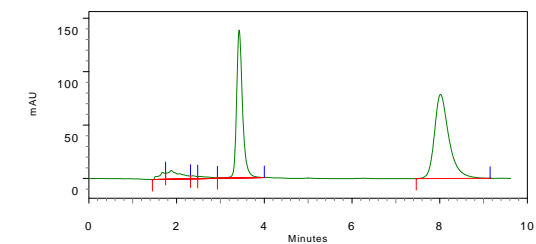
C2M



C2M

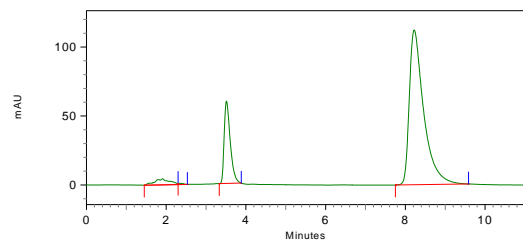


C2M

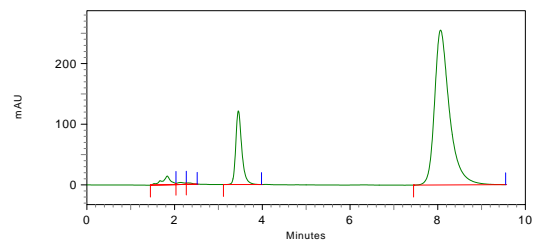


continuação

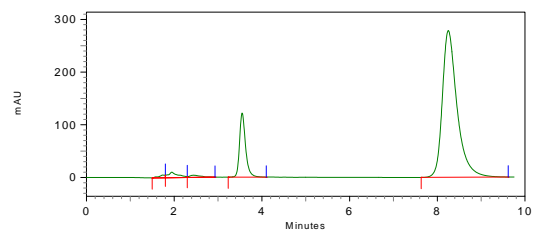
C3M



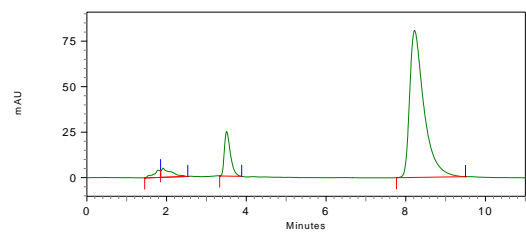
C3M



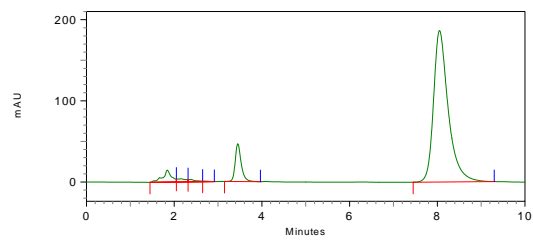
C3M



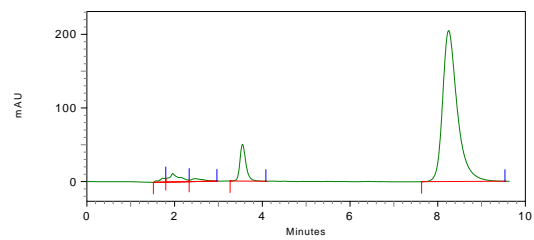
C4M



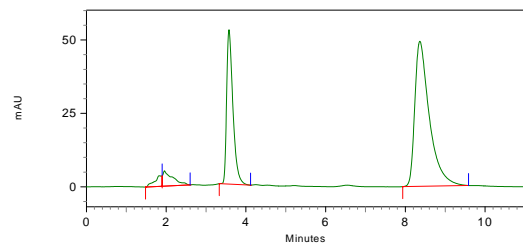
C4M



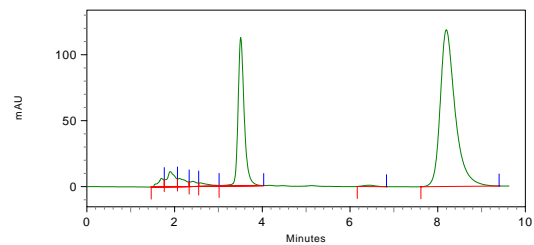
C4M



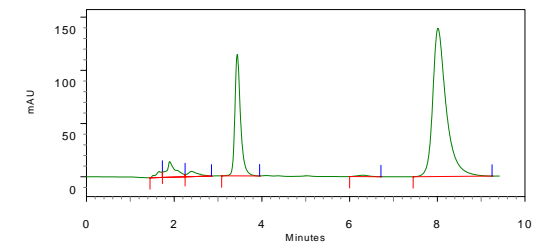
C5M



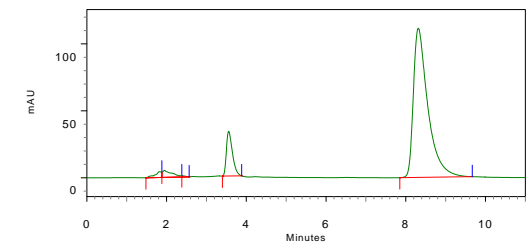
C5M



C5M

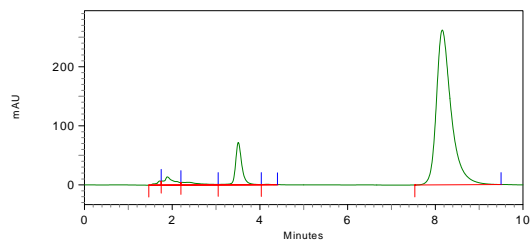


C6M

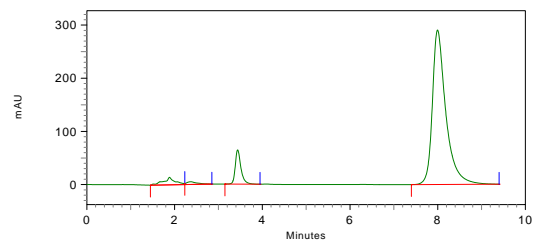


continuação

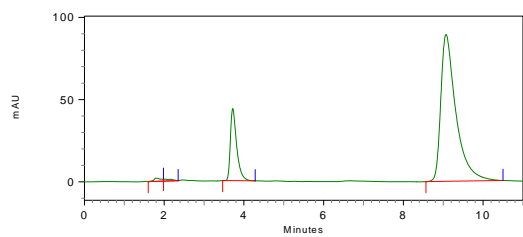
C6M



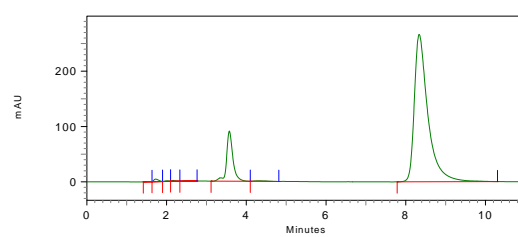
C6M



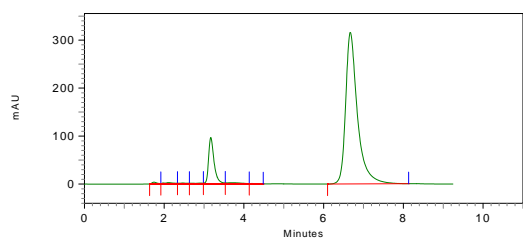
S1J



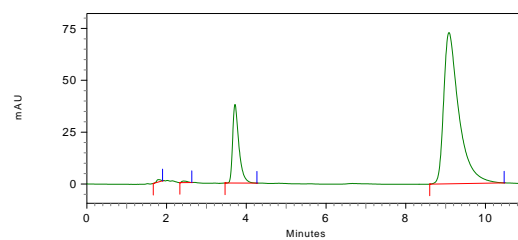
S1J



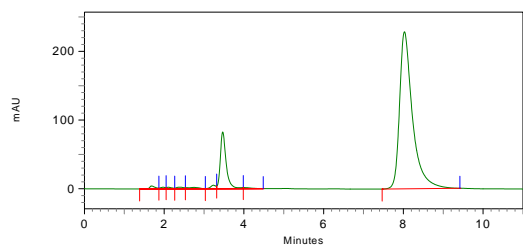
S1J



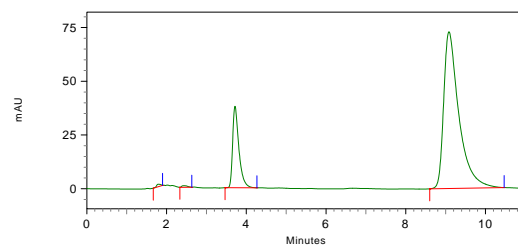
S2J



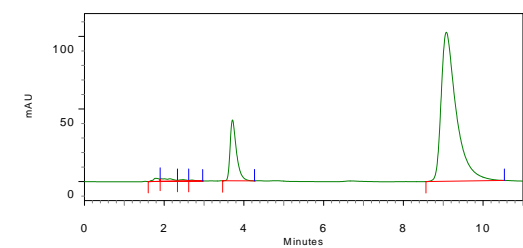
S2J



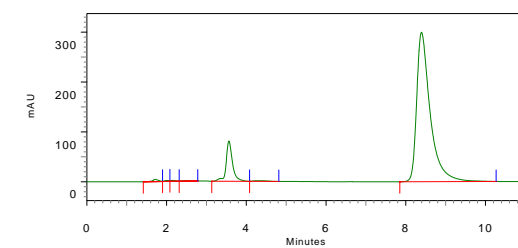
S2J



S3J

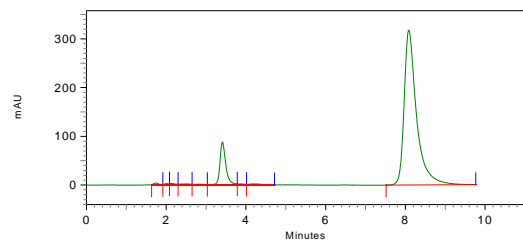


S3J

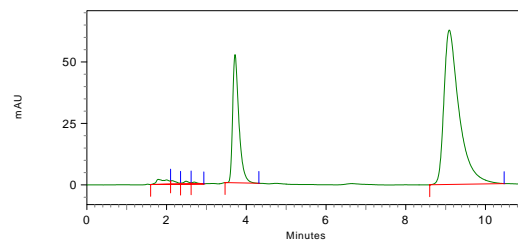


continuação

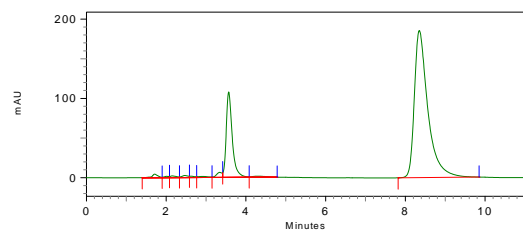
S3J



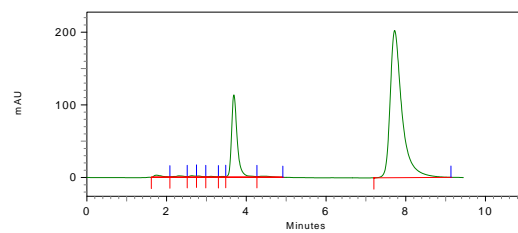
S4J



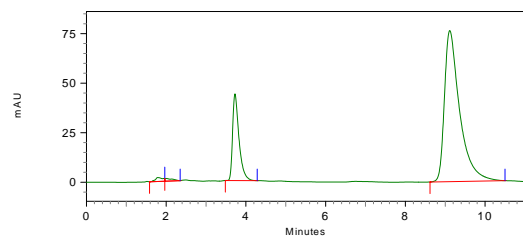
S4J



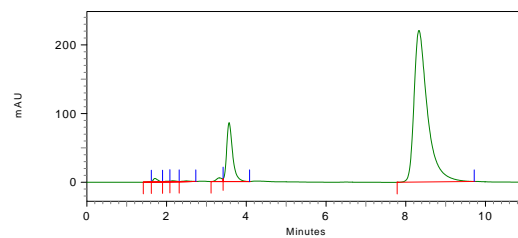
S4J



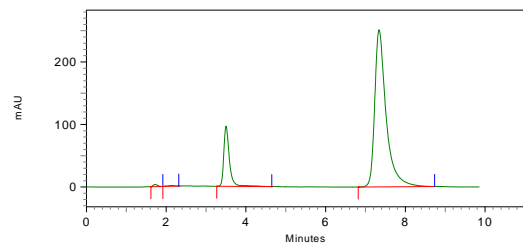
S5J



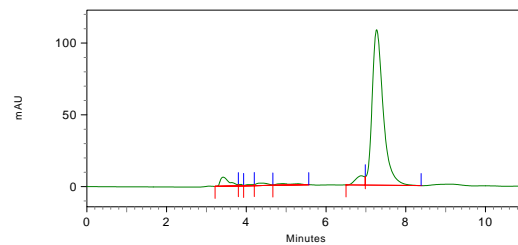
S5J



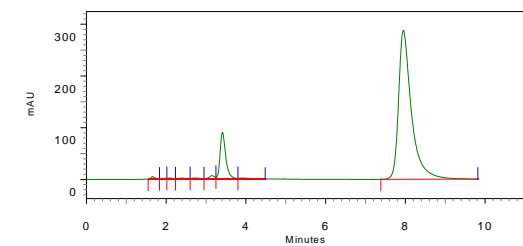
S5J



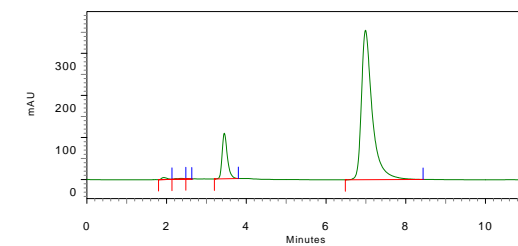
S6J



S6J

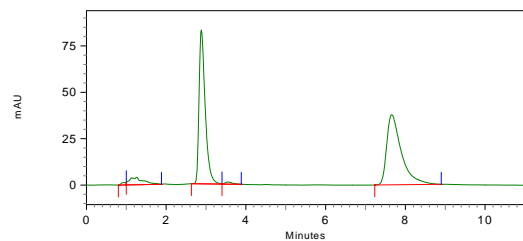


S6J

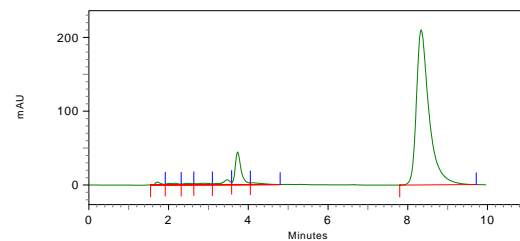


continuação

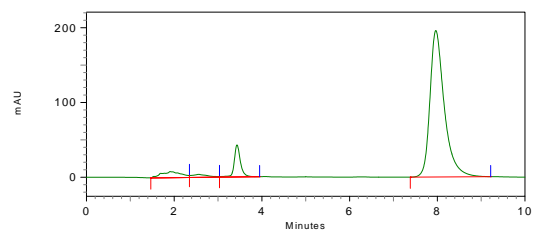
S1M



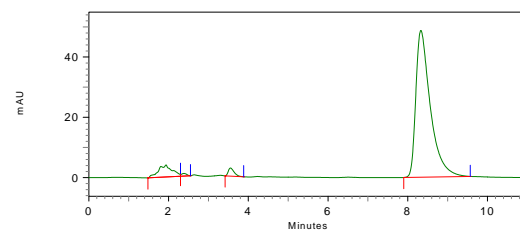
S1M



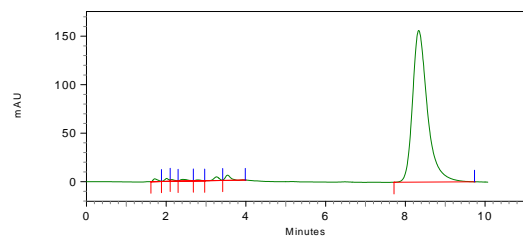
S1M



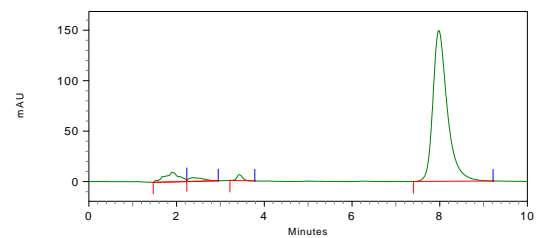
S2M



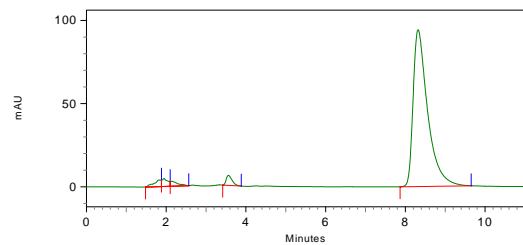
S2M



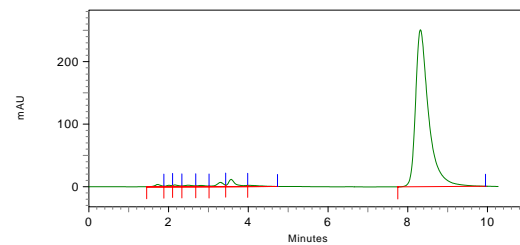
S2M



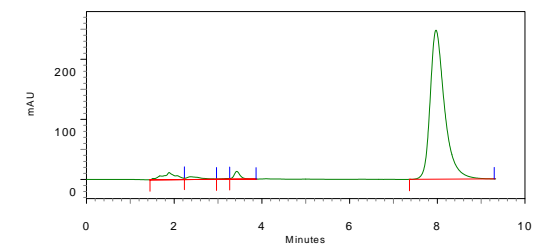
S3M



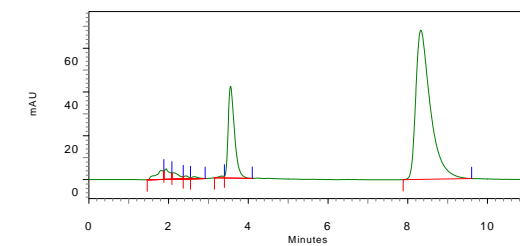
S3M



S3M

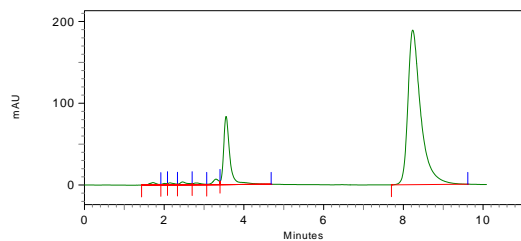


S4M

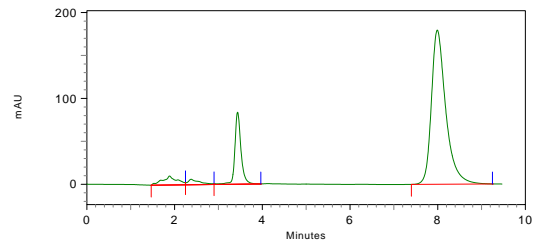


## conclusão

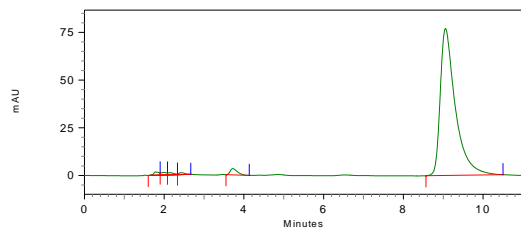
S4M



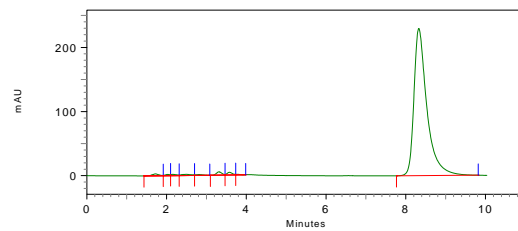
S4M



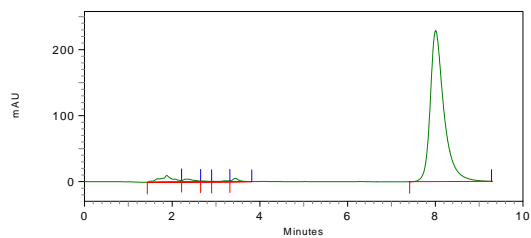
S5M



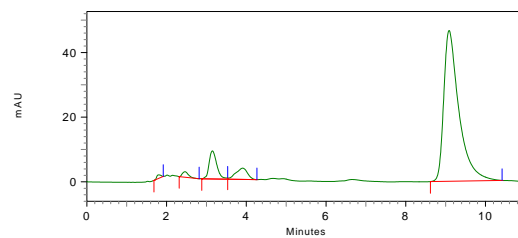
S5M



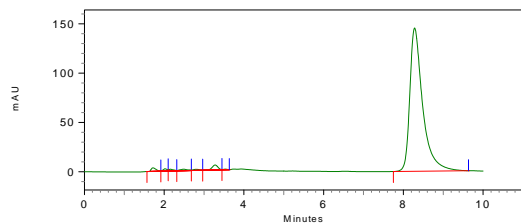
S5M



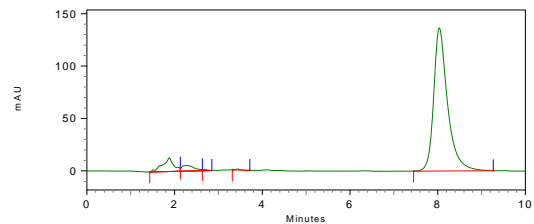
S6M



S6M



S6M



NOTA: mAU – significa Absorbância  $\times 10^{-3}$ .

1º pico em tempo de retenção  $\pm 3$  a 4 minutos se refere a teobromina.

2º pico em tempo de retenção  $\pm 8$  a 10 minutos se refere a cafeína.



ANEXO 5 - MÉDIAS PARA g DE CAFEÍNA EM 100 g DE AMOSTRA DE FOLHAS JOVENS E MADURAS DE TRÊS MORFOTIPOS DE ERVA-MATE

Folhas Jovens

Amostras	1ª leitura	2ª leitura	3ª leitura	Média por indiv.
A1J	1,2285	1,0596	1,1269	1,1383
A2J	1,8174	1,6038	1,6087	1,6766
A3J	0,7224	0,6620	0,6702	0,6849
A4J	1,8783	1,6978	1,7660	1,7807
A5J	2,0826	2,4600	1,8764	2,1397
A6J	2,9236	2,9390	2,8382	2,9003
C1J	1,5845	1,5201	1,4998	1,5348
C2J	0,9592	1,0283	1,0084	0,9986
C3J	2,5444	2,4186	2,4780	2,4803
C4J	2,1689	2,1296	2,0348	2,1111
C5J	1,3996	1,2730	1,3344	1,3356
C6J	2,6795	2,6646	2,6710	2,6717
S1J	2,4223	2,5846	2,6655	2,5575
S2J	1,9884	2,1119	2,0498	2,0500
S3J	2,7801	2,8958	2,8189	2,8316
S4J	1,7124	1,7906	1,7095	1,7375
S5J	2,0790	2,1198	2,0572	2,0853
S6J	0,8597	2,6594	2,7547	2,0913

Folhas Maduras

Amostras	1ª leitura	2ª leitura	3ª leitura	Média por indiv.
A1M	1,1700	0,9629	1,0053	1,0461
A2M	2,3077	2,0918	2,1214	2,1736
A3M	0,4526	0,3861	0,3917	0,4101
A4M	1,6359	1,4492	1,5057	1,5303
A5M	2,6765	2,4169	2,4113	2,5016
A6M	2,4911	2,2853	2,2719	2,3494
C1M	1,5927	1,4589	1,4913	1,5143
C2M	0,8196	0,7004	0,7450	0,7550
C3M	2,8953	2,4791	2,6636	2,6793
C4M	2,0708	1,7909	1,9573	1,9396
C5M	1,2909	1,1555	1,2254	1,2239
C6M	2,8904	2,5162	2,5531	2,6532
S1M	0,9967	1,9039	1,8314	1,5773
S2M	1,2682	1,6648	1,4024	1,4451
S3M	2,4524	2,3423	2,3236	2,3728
S4M	1,7857	1,7376	1,6817	1,7350
S5M	2,0827	2,1238	2,0383	2,0816
S6M	1,2718	1,3370	1,2334	1,2807

ANEXO 6 - MÉDIAS PARA g DE CAFEÍNA EM 100 FOLHAS JOVENS E MADURAS DE TRÊS MORFOTIPOS DE ERVA-MATE

Folhas Jovens

Amostras	1ª leitura	2ª leitura	3ª leitura	Média por indivíduo
A1J	0,2538	0,2189	0,2328	0,2352
A2J	0,3795	0,3349	0,3359	0,3501
A3J	0,1389	0,1273	0,1289	0,1317
A4J	0,4390	0,3968	0,4127	0,4161
A5J	0,5319	0,6283	0,4792	0,5465
A6J	1,0967	1,1024	1,0646	1,0879
C1J	0,5902	0,5662	0,5587	0,5717
C2J	0,3537	0,3792	0,3719	0,3683
C3J	0,9987	0,9493	0,9726	0,9735
C4J	0,4479	0,4398	0,4202	0,4359
C5J	0,3174	0,2887	0,3026	0,3029
C6J	1,0295	1,0237	1,0262	1,0265
S1J	0,5092	0,5433	0,5603	0,5376
S2J	0,4828	0,5128	0,4977	0,4977
S3J	0,3745	0,3901	0,3797	0,3814
S4J	0,3944	0,4124	0,3937	0,4001
S5J	0,5888	0,6003	0,5826	0,5906
S6J	0,1740	0,5383	0,5576	0,4233

Folhas Maduras

Amostras	1ª leitura	2ª leitura	3ª leitura	Média por indivíduo
A1M	0,3289	0,2707	0,2826	0,2940
A2M	1,1799	1,0695	1,0847	1,1114
A3M	0,0925	0,0789	0,0801	0,0838
A4M	0,5009	0,4437	0,4611	0,4686
A5M	0,6683	0,6035	0,6021	0,6246
A6M	0,8587	0,7877	0,7831	0,8098
C1M	0,5027	0,4604	0,4706	0,4779
C2M	0,2216	0,1894	0,2014	0,2042
C3M	0,8651	0,7408	0,7959	0,8006
C4M	0,5972	0,5165	0,5645	0,5594
C5M	0,4408	0,3946	0,4185	0,4180
C6M	1,7313	1,5072	1,5293	1,5893
S1M	0,3963	0,7570	0,7282	0,6271
S2M	0,5768	0,7572	0,6378	0,6572
S3M	0,6832	0,6526	0,6474	0,6611
S4M	0,7463	0,7261	0,7028	0,7251
S5M	1,1561	1,1789	1,1314	1,1555
S6M	0,3290	0,3459	0,3191	0,3313

ANEXO 7 - MÉDIAS PARA g DE TEOBROMINA EM 100 g DE AMOSTRA DE FOLHAS JOVENS E MADURAS DE TRÊS MORFOTIPOS DE ERVA-MATE:

Folhas Jovens

Amostras	1ª leitura	2ª leitura	3ª leitura	Média por indivíduo
A1J	0,5604	0,4988	0,3853	0,4815
A2J	0,4278	0,4032	0,2999	0,3769
A3J	1,3242	1,1455	0,9104	1,1267
A4J	0,3237	0,3366	0,2394	0,2999
A5J	0,2123	0,2285	0,1635	0,2015
A6J	0,3364	0,3225	0,3185	0,3258
C1J	0,5522	0,4469	0,3762	0,4585
C2J	0,9508	0,9028	0,7912	0,8816
C3J	0,3879	0,3620	0,3744	0,3747
C4J	0,0081	0,0470	0,0257	0,0269
C5J	0,7003	0,5963	0,6480	0,6482
C6J	0,5512	0,5058	0,5283	0,5285
S1J	0,4796	0,4161	0,4475	0,4477
S2J	0,4029	0,3462	0,3744	0,3745
S3J	0,4559	0,3689	0,3709	0,3986
S4J	0,5719	0,4733	0,4727	0,5060
S5J	0,4843	0,3687	0,3941	0,4157
S6J	0,6939	0,6890	0,7104	0,6978

Folhas Maduras

Amostras	1ª leitura	2ª leitura	3ª leitura	Média por indivíduo
A1M	0,1448	0,1592	0,0952	0,1331
A2M	0,1169	0,1234	0,0853	0,1085
A3M	1,0221	0,7459	0,6710	0,8130
A4M	0,1684	0,1627	0,1250	0,1521
A5M	0,3020	0,3072	0,2028	0,2707
A6M	0,2140	0,2313	0,1315	0,1923
C1M	0,2910	0,2536	0,2285	0,2577
C2M	0,7376	0,5277	0,5510	0,6054
C3M	0,6456	0,4910	0,4857	0,5408
C4M	0,2343	0,1756	0,1879	0,1993
C5M	0,5804	0,4613	0,4297	0,4905
C6M	0,3363	0,2947	0,2343	0,2884
S1M	0,1717	0,1778	0,1653	0,1716
S2M	0,0074	0,0023	0,0037	0,0045
S3M	0,0199	0,0435	0,0373	0,0336
S4M	0,4562	0,3724	0,3344	0,3876
S5M	0,0066	0,0027	0,0027	0,0040
S6M	0,2870	0,2870	0,2870	0,2870

ANEXO 8 - MÉDIAS PARA g DE TEOBROMINA EM 100 FOLHAS JOVENS E MADURAS DE TRÊS MORFOTIPOS DE ERVA-MATE

Folhas Jovens

Amostras	1ª leitura	2ª leitura	3ª leitura	Média por indivíduo.
A1J	0,1158	0,1031	0,0796	0,0995
A2J	0,0893	0,0842	0,0626	0,0787
A3J	0,2546	0,2203	0,1751	0,2167
A4J	0,0757	0,0787	0,0560	0,0701
A5J	0,0542	0,0584	0,0418	0,0515
A6J	0,1262	0,1210	0,1195	0,1222
C1J	0,2057	0,1665	0,1401	0,1708
C2J	0,3507	0,3330	0,2918	0,3251
C3J	0,1522	0,1421	0,1469	0,1471
C4J	0,0017	0,0097	0,0053	0,0056
C5J	0,1588	0,1352	0,1470	0,1470
C6J	0,2118	0,1943	0,2030	0,2030
S1J	0,1008	0,0875	0,0941	0,0941
S2J	0,0978	0,0840	0,0909	0,0909
S3J	0,0614	0,0497	0,0500	0,0537
S4J	0,1317	0,1090	0,1089	0,1165
S5J	0,1371	0,1044	0,1116	0,1177
S6J	0,1622	0,1614	0,1658	0,1631

Folhas Maduras

Amostras	1ª leitura	2ª leitura	3ª leitura	Média por indivíduo
A1M	0,0407	0,0448	0,0268	0,0374
A2M	0,0597	0,0631	0,0436	0,0555
A3M	0,2089	0,1525	0,1372	0,1662
A4M	0,0516	0,0498	0,0383	0,0466
A5M	0,0754	0,0767	0,0506	0,0676
A6M	0,0738	0,0797	0,0453	0,0663
C1M	0,0918	0,0800	0,0721	0,0813
C2M	0,1994	0,1427	0,1490	0,1637
C3M	0,1929	0,1467	0,1451	0,1616
C4M	0,0676	0,0506	0,0542	0,0575
C5M	0,1982	0,1575	0,1468	0,1675
C6M	0,2014	0,1765	0,1403	0,1728
S1M	0,0683	0,0707	0,0657	0,0682
S2M	0,0034	0,0010	0,0017	0,0020
S3M	0,0056	0,0121	0,0104	0,0094
S4M	0,1906	0,1556	0,1397	0,1620
S5M	0,0037	0,0015	0,0015	0,0022
S6M	0,0075	0,0074	0,0074	0,0074

ANEXO 9 - MÉDIAS PARA g DE TANINOS EM 100 g DE AMOSTRA DE FOLHAS JOVENS E MADURAS DE TRÊS MORFOTIPOS DE ERVA-MATE

Folhas Jovens

Amostras	1ª leitura	2ª leitura	3ª leitura	4ª leitura	Média por indivíduo
A1J	10,7284	10,7531	11,4859	11,5056	11,1183
A2J	16,2576	16,4357	15,8091	15,6063	16,0272
A3J	13,6337	13,6188	13,8723	13,8080	13,7332
A4J	13,9994	13,6579	13,6826	13,6826	13,7556
A5J	16,5907	16,4472	15,4938	15,5284	16,0150
A6J	11,7874	11,8319	11,3199	11,1616	11,5252
C1J	17,1927	16,9354	16,3252	16,3400	16,6983
C2J	27,3400	27,6023	26,6135	26,1532	26,9272
C3J	18,1106	18,0067	18,0139	17,9991	18,0326
C4J	21,8230	21,9615	18,7004	18,7796	20,3161
C5J	24,4607	24,2530	23,3218	23,3267	23,8405
C6J	17,5518	17,4430	17,9389	17,9933	17,7317
S1J	20,7351	20,5025	20,3821	20,5602	20,5450
S2J	16,7573	16,7474	16,3252	16,3994	16,5573
S3J	20,9429	20,6312	20,8085	20,7838	20,7916
S4J	23,8423	23,8423	23,0014	22,8085	23,3736
S5J	25,8110	25,9248	25,5982	25,5685	25,7256
S6J	25,4205	25,3958	26,0586	26,3654	25,8101

Folhas Maduras

Amostras	1ª leitura	2ª leitura	3ª leitura	4ª leitura	Média por indivíduo
A1M	13,9455	13,6881	13,2574	13,2030	13,5235
A2M	15,0941	15,1683	15,1089	15,1139	15,1213
A3M	13,6139	13,7871	13,5050	13,5594	13,6163
A4M	10,9010	10,9010	10,5135	10,3651	10,6701
A5M	10,6124	10,7510	10,9554	10,9307	10,8124
A6M	13,6200	13,6497	14,3132	14,3132	13,9740
C1M	11,1621	11,1324	10,7241	10,7389	10,9394
C2M	25,8364	25,3613	24,9158	24,7921	25,2264
C3M	18,2848	18,2402	16,8976	17,0510	17,6184
C4M	20,5157	20,6939	19,1161	18,9677	19,8233
C5M	21,3020	21,3416	20,6485	20,6733	20,9913
C6M	15,6634	15,6188	14,2397	14,3387	14,9652
S1M	14,8030	14,9762	15,1394	15,2631	15,0454
S2M	10,3989	10,5078	10,0554	9,9911	10,2383
S3M	20,1513	20,1562	19,1903	19,1508	19,6621
S4M	17,0096	17,0541	16,9057	16,7919	16,9403
S5M	15,5501	15,5798	15,3738	15,4678	15,4929
S6M	17,0000	17,0842	17,5291	17,5241	17,2843

ANEXO 10 - MÉDIAS PARA g DE TANINOS EM 100 FOLHAS JOVENS E MADURAS DE TRÊS MORFOTIPOS DE ERVA-MATE

Folhas Jovens

Amostras	1ª leitura	2ª leitura	3ª leitura	4ª leitura	Média por indivíduo
A1J	2,2165	2,2216	2,3730	2,3771	2,2970
A2J	3,3946	3,4318	3,3009	3,2586	3,3465
A3J	2,6218	2,6189	2,6676	2,6553	2,6409
A4J	3,2716	3,1919	3,1976	3,1976	3,2147
A5J	4,2373	4,2006	3,9571	3,9660	4,0902
A6J	4,4214	4,4381	4,2461	4,1867	4,3231
C1J	6,4043	6,3084	6,0811	6,0866	6,2201
C2J	10,0830	10,1797	9,8151	9,6453	9,9308
C3J	7,1084	7,0676	7,0705	7,0646	7,0778
C4J	4,5064	4,5351	3,8616	3,8780	4,1953
C5J	5,5477	5,5006	5,2894	5,2905	5,4070
C6J	6,7434	6,7016	6,8921	6,9130	6,8125
S1J	4,3585	4,3096	4,2843	4,3218	4,3186
S2J	4,0687	4,0663	3,9637	3,9818	4,0201
S3J	2,8210	2,7790	2,8029	2,7996	2,8006
S4J	5,4909	5,4909	5,2972	5,2528	5,3829
S5J	7,3097	7,3419	7,2494	7,2410	7,2855
S6J	5,1451	5,1401	5,2743	5,3364	5,2240

Folhas Maduras

Amostras	1ª leitura	2ª leitura	3ª leitura	4ª leitura	Média por indivíduo
A1M	3,9201	3,8477	3,7267	3,7114	3,8015
A2M	7,7176	7,7556	7,7252	7,7277	7,7315
A3M	2,7827	2,8181	2,7604	2,7715	2,7832
A4M	3,3379	3,3379	3,2192	3,1738	3,2672
A5M	2,6499	2,6845	2,7356	2,7294	2,6999
A6M	4,6948	4,7051	4,9338	4,9338	4,8169
C1M	3,5228	3,5134	3,3845	3,3892	3,4525
C2M	6,9862	6,8577	6,7372	6,7038	6,8212
C3M	5,4635	5,4502	5,0490	5,0949	5,2644
C4M	5,9167	5,9681	5,5131	5,4703	5,7171
C5M	7,2746	7,2882	7,0515	7,0599	7,1685
C6M	9,3824	9,3557	8,5296	8,5889	8,9641
S1M	5,8857	5,9545	6,0194	6,0686	5,9821
S2M	4,7294	4,7789	4,5732	4,5439	4,6564
S3M	5,6141	5,6155	5,3464	5,3354	5,4779
S4M	7,1083	7,1269	7,0649	7,0173	7,0794
S5M	8,6318	8,6483	8,5340	8,5862	8,6001
S6M	4,3979	4,4197	4,5348	4,5335	4,4715

## ANEXO 11- ANÁLISE ESTATÍSTICA DE TRÊS MORFOTIPOS DE ERVA-MATE

continua

Title : Erva-mate em tres morfotipos

Function : PRLIST

Data case no. 1 to 59

List Of Variables

Var Type Name / Description

- 1 NUMERIC TRATAMENTOS
- 2 NUMERIC REPETICOES
- 3 NUMERIC MORFOTIPO
- 4 NUMERIC TIPO DE FOLHA
- 5 NUMERIC CAFEINA
- 6 NUMERIC TEOBROMINA
- 7 NUMERIC TANINOS
- 8 NUMERIC N no solo
- 9 NUMERIC N nas folhas

CASE

CASE NO.	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	1.0	1.0	1.0	1.0	1.138	0.481	11.118	0.227	2.671
2	1.0	2.0	1.0	1.0	1.677	0.377	16.027	0.221	2.216
3	1.0	3.0	1.0	1.0	0.685	1.127	13.733	0.232	2.877
4	1.0	4.0	1.0	1.0	1.781	0.300	13.756	0.246	2.723
5	1.0	5.0	1.0	1.0	2.140	0.201	16.015	0.207	2.271
6	1.0	6.0	1.0	1.0	2.900	0.326	11.525	0.229	3.476
7	2.0	1.0	1.0	2.0	1.046	0.133	13.523	0.227	2.474
8	2.0	2.0	1.0	2.0	2.174	0.108	15.121	0.221	2.711
9	2.0	3.0	1.0	2.0	0.410	0.813	13.616	0.232	2.585
10	2.0	4.0	1.0	2.0	1.530	0.152	10.670	0.246	2.800
11	2.0	5.0	1.0	2.0	2.501	0.271	10.812	0.207	2.889
12	2.0	6.0	1.0	2.0	2.349	0.192	13.974	0.229	3.754
13	3.0	1.0	2.0	1.0	1.535	0.458	16.698	0.240	2.752
14	3.0	2.0	2.0	1.0	0.999	0.882	26.927	0.197	2.649
15	3.0	3.0	2.0	1.0	2.480	0.375	18.032	0.218	3.011
16	3.0	4.0	2.0	1.0	2.111	0.026	20.316	0.238	3.036
17	3.0	5.0	2.0	1.0	1.336	0.648	23.840	0.218	2.707
18	3.0	6.0	2.0	1.0	2.671	0.528	17.732	0.245	3.754
19	4.0	1.0	2.0	2.0	1.514	0.258	10.939	0.240	3.059
20	4.0	2.0	2.0	2.0	0.754	0.605	25.226	0.197	2.260
21	4.0	3.0	2.0	2.0	2.679	0.541	17.618	0.218	3.818
22	4.0	4.0	2.0	2.0	1.940	0.199	19.823	0.238	2.730
23	4.0	5.0	2.0	2.0	1.224	0.490	20.991	0.218	2.603
24	4.0	6.0	2.0	2.0	2.653	0.288	14.965	0.245	3.472
25	5.0	1.0	3.0	1.0	2.557	0.448	20.545	0.210	3.368
26	5.0	2.0	3.0	1.0	2.050	0.375	16.557	0.243	3.070
27	5.0	3.0	3.0	1.0	2.831	0.398	20.792	0.211	3.223
28	5.0	4.0	3.0	1.0	1.737	0.506	23.374	0.210	2.760
29	5.0	5.0	3.0	1.0	2.085	0.416	25.726	0.220	2.649
30	5.0	6.0	3.0	1.0	2.091	0.698	25.810	0.221	3.118
31	6.0	1.0	3.0	2.0	1.577	0.171	15.045	0.210	2.878
32	6.0	2.0	3.0	2.0	1.445	0.004	10.238	0.243	2.578
33	6.0	3.0	3.0	2.0	2.373	0.034	19.662	0.211	3.040
34	6.0	4.0	3.0	2.0	1.735	0.388	16.940	0.210	2.960
35	6.0	5.0	3.0	2.0	2.082	0.004	15.493	0.220	3.371
36	6.0	6.0	3.0	2.0	1.281	0.287	17.284	0.221	4.072

## conclusão

CASE NO.	1	2	3	4	5	6	7	8	9
37	1.0				1.720	0.469	13.696	0.227	2.706
38	2.0				1.668	0.278	12.953	0.227	2.869
39	3.0				1.855	0.486	20.591	0.226	2.985
40	4.0				1.794	0.397	18.260	0.226	2.990
41	5.0				2.225	0.474	22.134	0.219	3.031
42	6.0				1.749	0.148	15.777	0.219	3.150
43				1.0	1.934	0.476	18.807	0.224	2.907
44				2.0	1.737	0.274	15.663	0.224	3.003
45					0.157	0.056	0.812	0.003	0.108
46									
47			1.0		1.694	0.373	13.324	0.227	2.787
48			2.0		1.825	0.442	19.426	0.226	2.988
49			3.0		1.987	0.311	18.955	0.219	3.091
50					0.192	0.068	0.994	0.004	0.133
51									
52			1.0	1.0	1.720	0.469	13.696	0.227	2.706
53			2.0	1.0	1.855	0.486	20.591	0.226	2.985
54			3.0	1.0	2.225	0.474	22.134	0.219	3.031
55			1.0	2.0	1.668	0.278	12.953	0.227	2.869
56			2.0	2.0	1.794	0.397	18.260	0.226	2.990
57			3.0	2.0	1.749	0.148	15.777	0.219	3.150
58					0.271	0.097	1.406	0.006	0.188



## ANEXO 12 - ANÁLISE ESTATÍSTICA DA CAFEÍNA EM TRÊS MORFOTIPOS DE ERVA-MATE

Title: Erva-mate em tres morfotipos  
 Function: ANOVA-1  
 Data case no. 1 to 36  
 One way ANOVA grouped over variable 1 (TRATAMENTOS)  
 with values from 1 to 6.

### Variable 5 (CAFEINA)

A N A L Y S I S   O F   V A R I A N C E   T A B L E	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-value	Prob.
Between	5	1.216	0.243	0.550	
Within	30	13.266	0.442		
Total	35	14.482			

Coefficient of Variation = 36.23%

Var.	V A R I A B L E   No. 5				
1	Number	Sum	Average	SD	SE
1	6.00	10.321	1.720	0.77	0.27
2	6.00	10.010	1.668	0.82	0.27
3	6.00	11.132	1.855	0.67	0.27
4	6.00	10.764	1.794	0.78	0.27
5	6.00	13.351	2.225	0.40	0.27
6	6.00	10.493	1.749	0.41	0.27
Total	36.00	66.071	1.835	0.64	0.11
Within				0.66	

Bartlett's test

-----  
 Chi-square = 4.411  
 Number of Degrees of Freedom = 5  
 Approximate significance = 0.000  
 $\alpha = 49,18\%$  (obtido do probabíl)

=====

Title: Erva-mate em três morfotipos  
 Function: FACTOR  
 Experiment Model Number 1:  
 Two Factor Completely Randomized Design  
 Data case no. 1 to 36.  
 Factorial ANOVA for the factors:  
 Replication (Var 2: REPETICOES) with values from 1 to 6  
 Factor A (Var 4: IDADE DAS FOLHAS) with values from 1 to 2  
 Factor B (Var 3: MORFOTIPO) with values from 1 to 3

### Variable 5: CAFEINA

Grand Mean = 1.835    Grand Sum = 66.071    Total Count = 36

T A B L E			O F	M E A N S	
2	4	3	5		Total
*	1	*	1.934	A	34.804
*	2	*	1.737	A	31.267
*	*	1	1.694	A	20.331
*	*	2	1.825	A	21.896
*	*	3	1.987	A	23.844
*	1	1	1.720	A	10.321
*	1	2	1.855	A	11.132
*	1	3	2.225	A	13.351
*	2	1	1.668	A	10.010
*	2	2	1.794	A	10.764
*	2	3	1.749	A	10.493

A N A L Y S I S   O F   V A R I A N C E   T A B L E						
K	Source	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob
2	Factor A	1	0.348	0.348	0.7859	ns
4	Factor B	2	0.516	0.258	0.5837	ns
6	AB	2	0.353	0.176	0.3986	ns
-7	Error	30	13.266	0.442		
	Total	35	14.482			

ns não significativo

Coefficient of Variation: 36.23%

s\_ for means group 2:    0.1567    Number of Observations: 18  
 y

s\_ for means group 4:    0.1920    Number of Observations: 12  
 y

s\_ for means group 6:    0.2715    Number of Observations: 6  
 y

=====

## ANEXO 13 - ANÁLISE ESTATÍSTICA DA TEOBROMINA EM TRÊS MORFOTIPOS DE ERVA-MATE

Title: Erva-mate em tres morfotipos  
 Function: ANOVA-1  
 Data case no. 1 to 36  
 One way ANOVA grouped over variable 1 (TRATAMENTOS)  
 with values from 1 to 6.

### Variable 6 (TEOBROMINA)

ANALYSIS OF VARIANCE TABLE					
	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-value	Prob.
Between	5	0.553	0.111	1.979	0.1106
Within	30	1.677	0.056		
Total	35	2.230			

Coefficient of Variation = 63.01%

Var.	VARIABLE No. 6				
1	Number	Sum	Average	SD	SE
1	6.00	2.812	0.469	0.34	0.10
2	6.00	1.669	0.278	0.27	0.10
3	6.00	2.917	0.486	0.29	0.10
4	6.00	2.381	0.397	0.17	0.10
5	6.00	2.841	0.474	0.12	0.10
6	6.00	0.888	0.148	0.16	0.10
Total	36.00	13.508	0.375	0.25	0.04
Within				0.24	

Bartlett's test

-----  
 Chi-square = 6.779  
 Number of Degrees of Freedom = 5  
 Approximate significance = 0.000  
 $\alpha = 23,73\%$  (obtido do probabíl)

=====

Title: Erva-mate em três morfotipos  
 Function: FACTOR  
 Experiment Model Number 1:  
 Two Factor Completely Randomized Design  
 Data case no. 1 to 36.  
 Factorial ANOVA for the factors:  
 Replication (Var 2: REPETICOES) with values from 1 to 6  
 Factor A (Var 4: IDADE DAS FOLHAS) with values from 1 to 2  
 Factor B (Var 3: MORFOTIPO) with values from 1 to 3

### Variable 6: TEOBROMINA

Grand Mean = 0.375    Grand Sum = 13.508    Total Count = 36

#### T A B L E   O F   M E A N S

	2	4	3	6	Total
*	1	*		0.476A	8.570
*	2	*		0.274 B	4.938
*	*	1		0.373A	4.481
*	*	2		0.442A	5.298
*	*	3		0.311A	3.729
*	1	1		0.469A	2.812
*	1	2		0.486A	2.917
*	1	3		0.474A	2.841
*	2	1		0.278A	1.669
*	2	2		0.397A	2.381
*	2	3		0.148A	0.888

#### A N A L Y S I S   O F   V A R I A N C E   T A B L E

K Value	Source	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob
2	Factor A	1	0.366	0.366	6.5543*	0.0157
4	Factor B	2	0.103	0.051	0.9179 ns	
6	AB	2	0.084	0.042	0.7534 ns	
-7	Error	30	1.677	0.056		
	Total	35	2.230			

\* significativo a 5% de probabilidade  
 ns não significativo

Coefficient of Variation: 63.01%

s\_ for means group 2:    0.0557    Number of Observations: 18  
 y

s\_ for means group 4:    0.0683    Number of Observations: 12  
 y

s\_ for means group 6:    0.0965    Number of Observations: 6  
 y

=====

## ANEXO 14 - ANÁLISE ESTATÍSTICA DE TANINOS EM TRÊS MORFOTIPOS DE ERVA-MATE

Title: Erva-mate em tres morfotipos  
 Function: ANOVA-1  
 Data case no. 1 to 36  
 One way ANOVA grouped over variable 1 (TRATAMENTOS)  
 with values from 1 to 6.

### Variable 7 (TANINOS)

A N A L Y S I S   O F   V A R I A N C E   T A B L E					
	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-value	Prob.
Between	5	415.825	83.165	7.012	0.0002
Within	30	355.821	11.861		
Total	35	771.646			

Coefficient of Variation = 19.98%

Var. 1	V A R I A B L E Number	No. 7 Sum	Average	SD	SE
1	6.00	82.174	13.696	2.11	1.41
2	6.00	77.716	12.953	1.81	1.41
3	6.00	123.545	20.591	4.02	1.41
4	6.00	109.562	18.260	4.97	1.41
5	6.00	132.804	22.134	3.56	1.41
6	6.00	94.662	15.777	3.16	1.41
Total	36.00	620.463	17.235	4.70	0.78
Within				3.44	

Bartlett's test

-----  
 Chi-square = 6.214  
 Number of Degrees of Freedom = 5  
 Approximate significance = 0.000  
 $\alpha = 28,59\%$  (obtido do probabil)

=====

Title: Erva-mate em três morfotipos  
 Function: FACTOR  
 Experiment Model Number 1:  
 Two Factor Completely Randomized Design  
 Data case no. 1 to 36.  
 Factorial ANOVA for the factors:  
 Replication (Var 2: REPETICOES) with values from 1 to 6  
 Factor A (Var 4: IDADE DAS FOLHAS) with values from 1 to 2  
 Factor B (Var 3: MORFOTIPO) with values from 1 to 3

### Variable 7: TANINOS

Grand Mean = 17.235    Grand Sum = 620.463    Total Count = 36

#### T A B L E   O F   M E A N S

	2	4	3	7	Total
*	1	*		18.807A	338.523
*	2	*		15.663.B	281.940
*	*	1		13.324 B	159.890
*	*	2		19.426A	233.107
*	*	3		18.956A	227.466
*	1	1		13.696 C	82.174
*	1	2		20.591 AB	123.545
*	1	3		22.134 A	132.804
*	2	1		12.953 C	77.716
*	2	2		18.260 ABC	109.562
*	2	3		15.777 BC	94.662

#### A N A L Y S I S   O F   V A R I A N C E   T A B L E

K Value	Source	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob
2	Factor A	1	88.934	88.934	7.4982*	0.0103
4	Factor B	2	276.641	138.320	11.6621**	0.0002
6	AB	2	50.250	25.125	2.1183 ns	0.1379
-7	Error	30	355.821	11.861		
	Total	35	771.646			

\* significativo a 5% de probabilidade

\*\* significativo a 1% de probabilidade

ns não significativo

Coefficient of Variation: 19.98%

s\_ for means group 2:    0.8117    Number of Observations: 18  
 Y

s\_ for means group 4:    0.9942    Number of Observations: 12  
 Y

s\_ for means group 6:    1.4060    Number of Observations: 6  
 Y

=====

Title : Erva-mate em tres morfotipos

### Variable 7 : TANINOS

Case Range : 47 - 49

Function : RANGE

Error Mean Square = 11.86

Error Degrees of Freedom = 30

No. of observations to calculate a mean = 12

Tukey's Honestly Significant Difference Test

$s_{\bar{x}} = 0.9941$  at  $\alpha = 0.050$

x

	Original Order			Ranked Order		
Mean	1 =	13.32	B	Mean	2 =	19.43 A
Mean	2 =	19.43	A	Mean	3 =	18.96 A
Mean	3 =	18.96	A	Mean	1 =	13.32 B

=====

### Variable 7 : TANINOS

Case Range : 52 - 57

Function : RANGE

Error Mean Square = 11.86

Error Degrees of Freedom = 30

No. of observations to calculate a mean = 6

Tukey's Honestly Significant Difference Test

$s_{\bar{x}} = 1.406$  at  $\alpha = 0.050$

x

\_&k2S

	Original Order			Ranked Order		
Mean	1 =	13.70	C	Mean	3 =	22.13 A
Mean	2 =	20.59	AB	Mean	2 =	20.59 AB
Mean	3 =	22.13	A	Mean	5 =	18.26 ABC
Mean	4 =	12.95	C	Mean	6 =	15.78 BC
Mean	5 =	18.26	ABC	Mean	1 =	13.70 C
Mean	6 =	15.78	BC	Mean	4 =	12.95 C

## ANEXO 15 - ANÁLISE ESTATÍSTICA DE NITROGÊNIO TOTAL NO SOLO EM TRÊS MORFOTIPOS DE ERVA-MATE

Title: Erva-mate em tres morfotipos  
 Function: ANOVA-1  
 Data case no. 1 to 36  
 One way ANOVA grouped over variable 1 (TRATAMENTOS)  
 with values from 1 to 6.

### Variable 8 (N no solo)

A N A L Y S I S   O F   V A R I A N C E   T A B L E					
	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-value	Prob.
Between	5	0.000	0.000	0.396	
Within	30	0.007	0.000		
Total	35	0.007			

Coefficient of Variation = 6.62%

Var. 1	V A R I A B L E Number	No. 8 Sum	Average	SD	SE
1	6.00	1.362	0.227	0.01	0.01
2	6.00	1.362	0.227	0.01	0.01
3	6.00	1.356	0.226	0.02	0.01
4	6.00	1.356	0.226	0.02	0.01
5	6.00	1.315	0.219	0.01	0.01
6	6.00	1.315	0.219	0.01	0.01
Total	36.00	8.066	0.224	0.01	0.00
Within				0.01	

Bartlett's test

-----  
 Chi-square = 1.684  
 Number of Degrees of Freedom = 5  
 Approximate significance = 0.657  
 $\alpha = 89,09\%$  (obtido do probabil)

=====



Title: Erva-mate em três morfotipos  
 Function: FACTOR  
 Experiment Model Number 1:  
 Two Factor Completely Randomized Design  
 Data case no. 1 to 36.  
 Factorial ANOVA for the factors:  
 Replication (Var 2: REPETICOES) with values from 1 to 6  
 Factor A (Var 4: IDADE DAS FOLHAS) with values from 1 to 2  
 Factor B (Var 3: MORFOTIPO) with values from 1 to 3

### Variable 8: N no solo

Grand Mean = 0.224    Grand Sum = 8.066    Total Count = 36

#### T A B L E    O F    M E A N S

	2	4	3	8	Total
*	1	*		0.224A	4.033
*	2	*		0.224A	4.033
*	*	1		0.227A	2.724
*	*	2		0.226A	2.712
*	*	3		0.219A	2.630
*	1	1		0.227A	1.362
*	1	2		0.226A	1.356
*	1	3		0.219A	1.315
*	2	1		0.227A	1.362
*	2	2		0.226A	1.356
*	2	3		0.219A	1.315

#### A N A L Y S I S    O F    V A R I A N C E    T A B L E

K Value	Source	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob
2	Factor A	1	0.000	0.000	0.0000	ns
4	Factor B	2	0.000	0.000	0.9906	ns
6	AB	2	0.000	0.000	0.0000	ns
-7	Error	30	0.007	0.000		
	Total	35	0.007			

ns não significativo

Coefficient of Variation: 6.62%

s\_ for means group 2:    0.0035    Number of Observations: 18  
 y

s\_ for means group 4:    0.0043    Number of Observations: 12  
 y

s\_ for means group 6:    0.0061    Number of Observations: 6  
 y

=====

## ANEXO 16 - ANÁLISE ESTATÍSTICA DO NITROGÊNIO TOTAL FOLIAR EM TRÊS MORFOTIPOS DE ERVA-MATE

Title: Erva-mate em tres morfotipos  
 Function: ANOVA-1  
 Data case no. 1 to 36  
 One way ANOVA grouped over variable 1 (TRATAMENTOS)  
 with values from 1 to 6.

### Variable 9 (N-total foliar)

ANALYSIS OF VARIANCE TABLE					
	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-value	Prob.
Between	5	0.693	0.139	0.656	
Within	30	6.342	0.211		
Total	35	7.035			

Coefficient of Variation = 15.56%

Var. 1	VARIABLE Number	No. 9 Sum	Average	SD	SE
1	6.00	16.234	2.706	0.46	0.19
2	6.00	17.213	2.869	0.46	0.19
3	6.00	17.909	2.985	0.41	0.19
4	6.00	17.942	2.990	0.58	0.19
5	6.00	18.188	3.031	0.28	0.19
6	6.00	18.899	3.150	0.52	0.19
Total	36.00	106.385	2.955	0.45	0.07
Within				0.46	

Bartlett's test

-----  
 Chi-square = 2.621  
 Number of Degrees of Freedom = 5  
 Approximate significance = 0.240  
 $\alpha = 75,81\%$  (obtido do probabil)

=====

Title: Erva-mate em três morfotipos  
 Function: FACTOR  
 Experiment Model Number 1:  
 Two Factor Completely Randomized Design  
 Data case no. 1 to 36.  
 Factorial ANOVA for the factors:  
 Replication (Var 2: REPETICOES) with values from 1 to 6  
 Factor A (Var 4: IDADE DAS FOLHAS) with values from 1 to 2  
 Factor B (Var 3: MORFOTIPO) with values from 1 to 3

### Variable 9: N-total foliar

Grand Mean = 2.955    Grand Sum = 106.385    Total Count = 36

#### T A B L E   O F   M E A N S

	2	4	3	9	Total
*	1	*		2.907A	52.331
*	2	*		3.003A	54.054
*	*	1		2.787A	33.447
*	*	2		2.988A	35.851
*	*	3		3.091A	37.087
*	1	1		2.706A	16.234
*	1	2		2.985A	17.909
*	1	3		3.031A	18.188
*	2	1		2.869A	17.213
*	2	2		2.990A	17.942
*	2	3		3.150A	18.899

#### A N A L Y S I S   O F   V A R I A N C E   T A B L E

K Value	Source	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Prob
2	Factor A	1	0.082	0.082	0.3901	ns
4	Factor B	2	0.571	0.286	1.3505	ns    0.2744
6	AB	2	0.040	0.020	0.0937	ns
-7	Error	30	6.342	0.211		
	Total	35	7.035			

ns não significativo

Coefficient of Variation: 15.56%

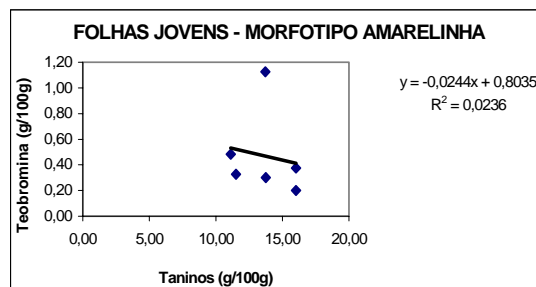
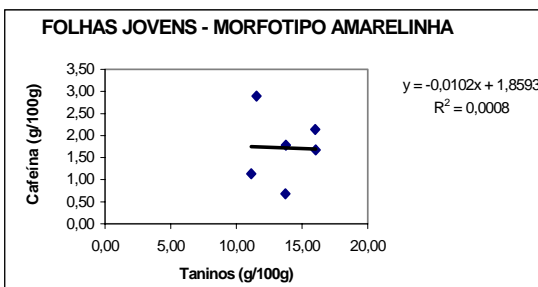
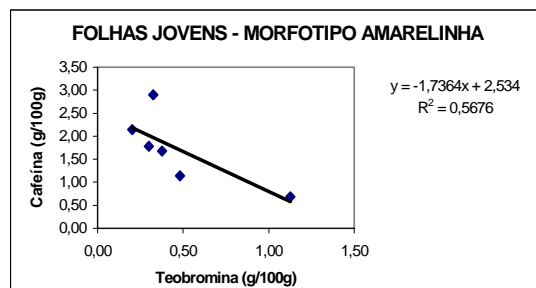
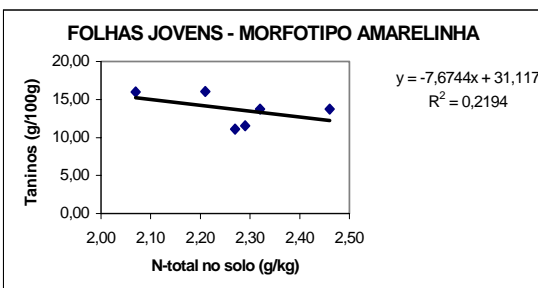
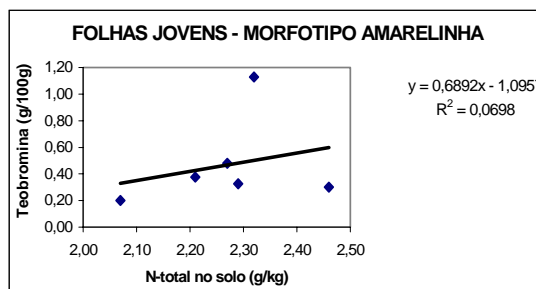
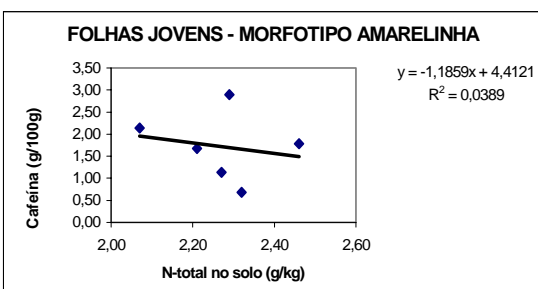
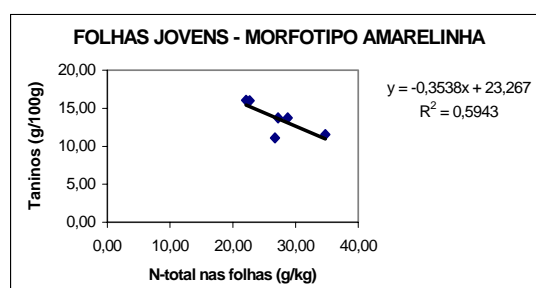
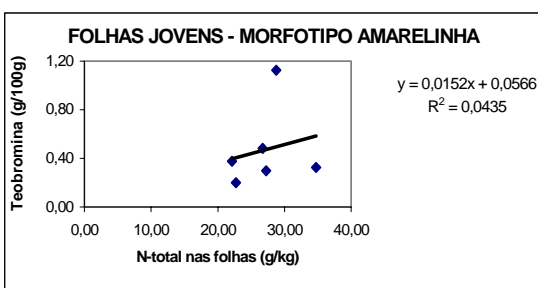
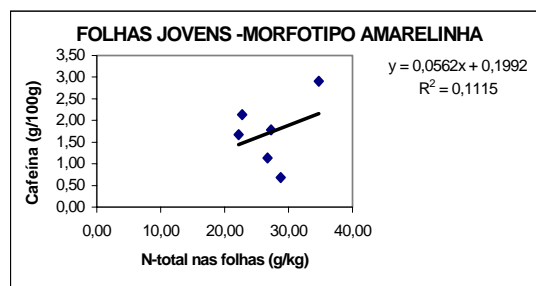
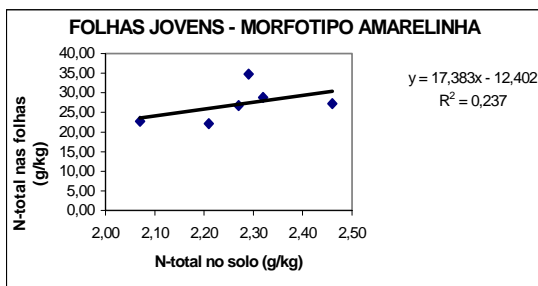
s\_ for means group 2:    0.1084    Number of Observations: 18  
 y

s\_ for means group 4:    0.1327    Number of Observations: 12  
 y

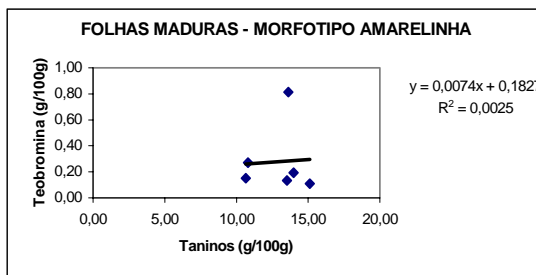
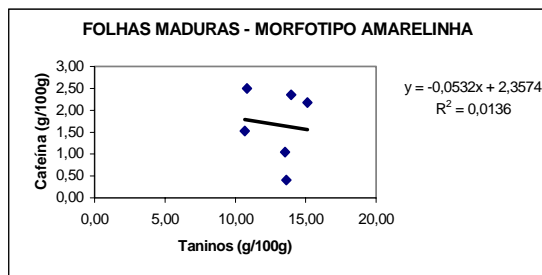
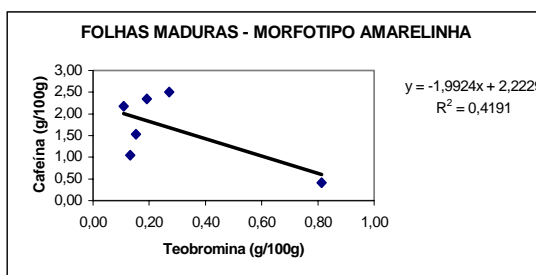
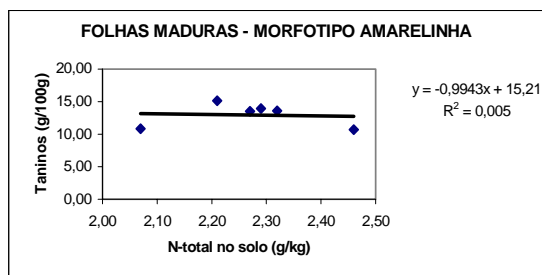
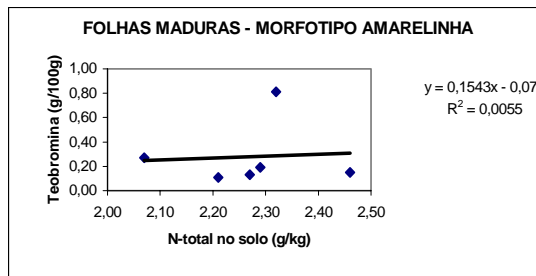
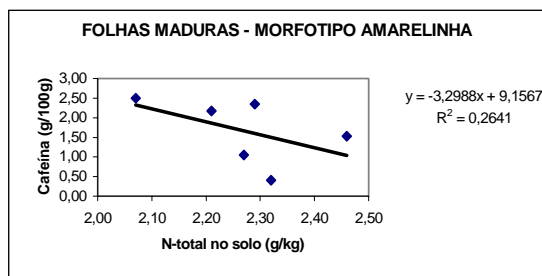
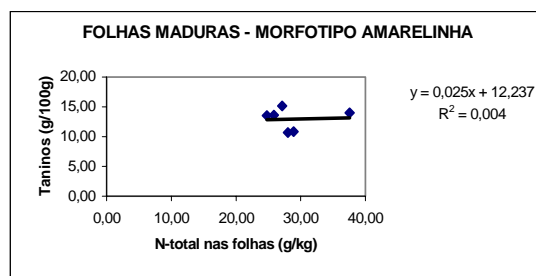
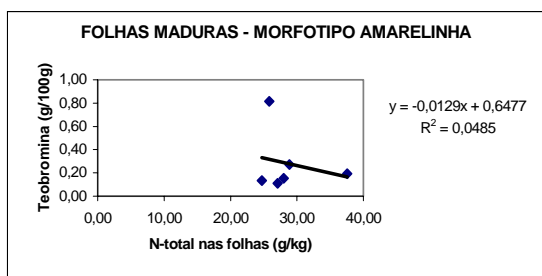
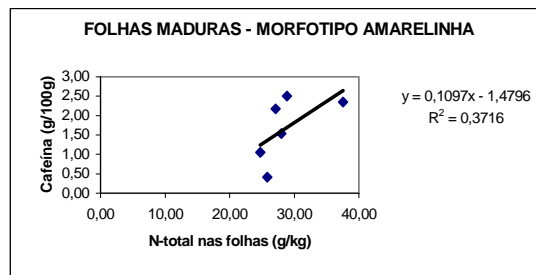
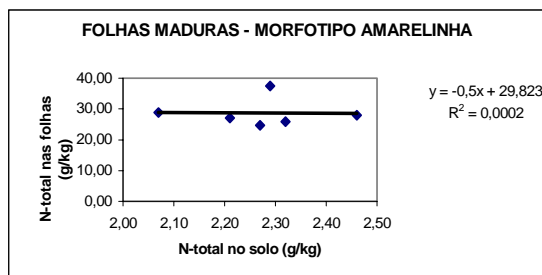
s\_ for means group 6:    0.1877    Number of Observations: 6  
 y

=====

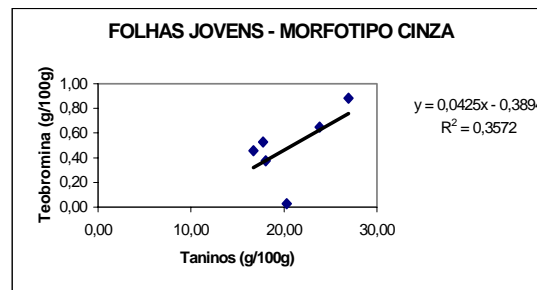
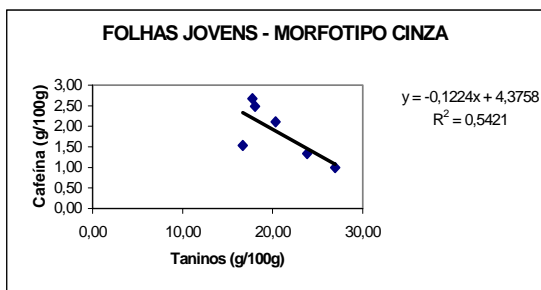
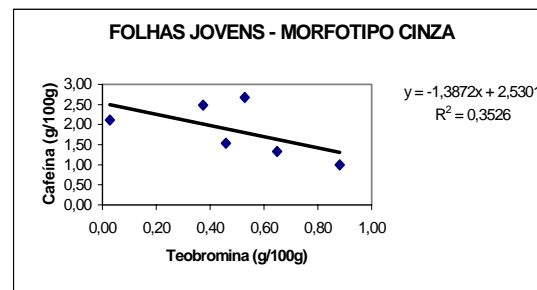
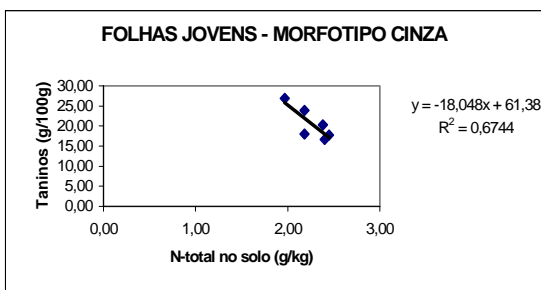
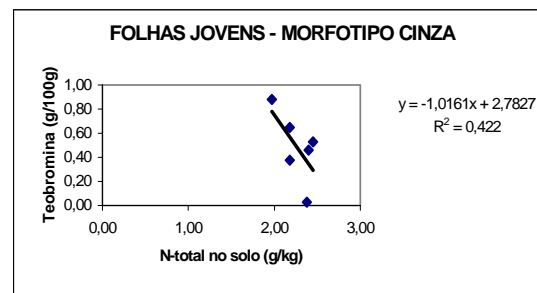
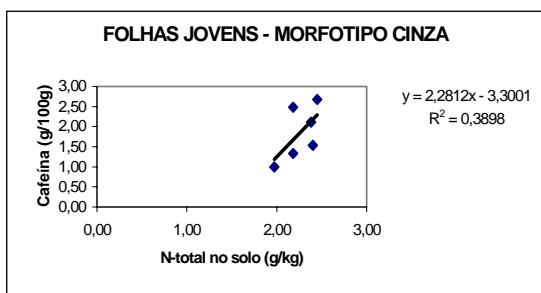
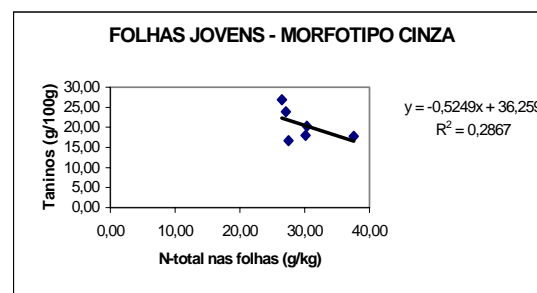
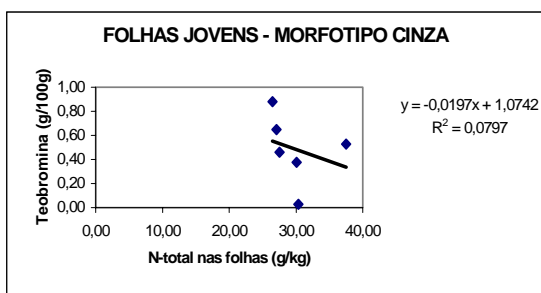
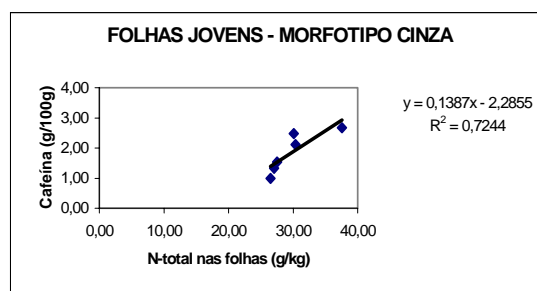
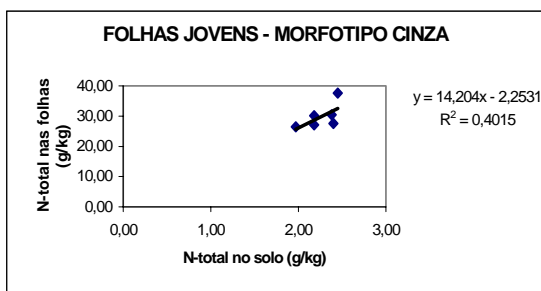
## ANEXO 17 - CORRELAÇÕES ENTRE FOLHAS JOVENS DO MORFOTIPO AMARELINHA



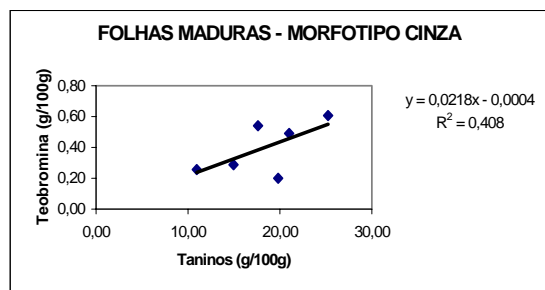
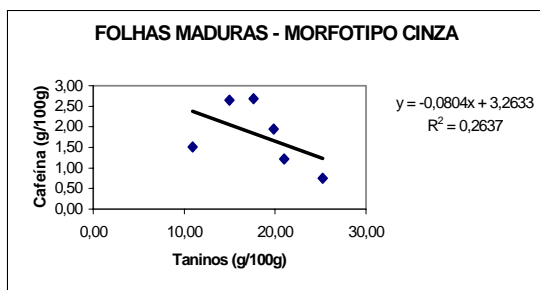
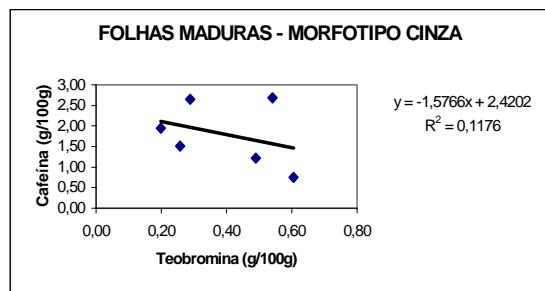
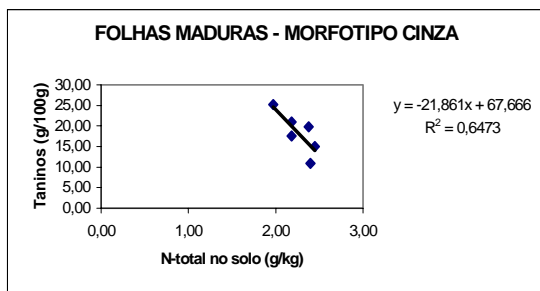
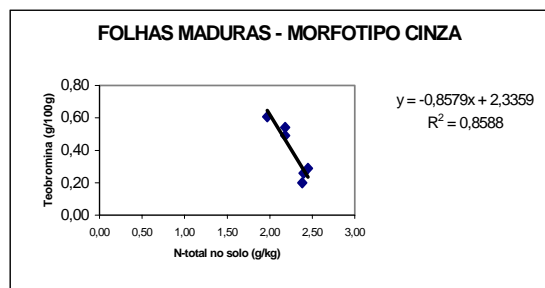
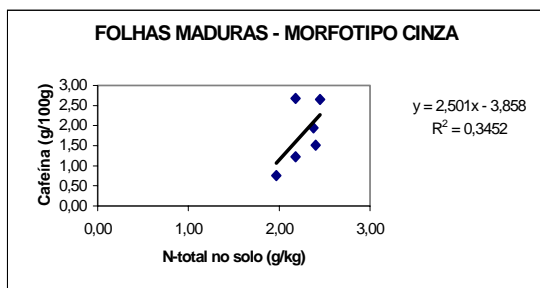
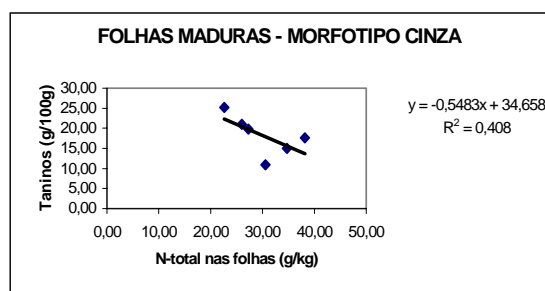
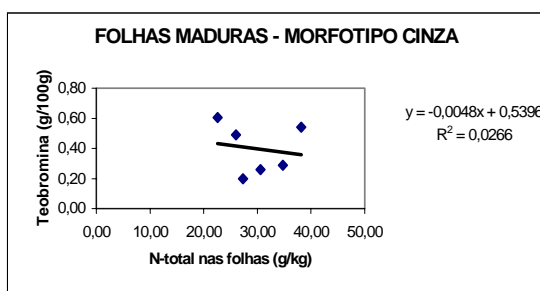
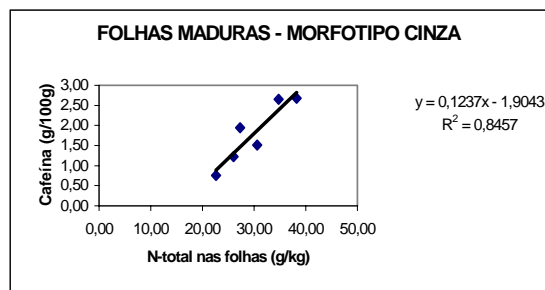
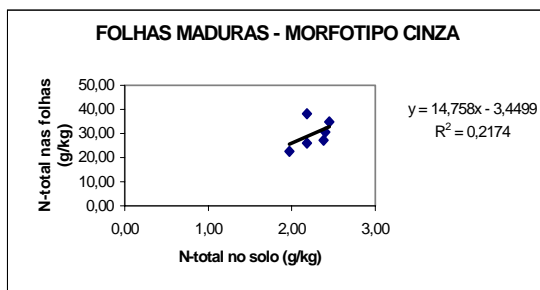
## ANEXO 18 - CORRELAÇÕES ENTRE FOLHAS MADURAS DO MORFOTIPO AMARELINHA



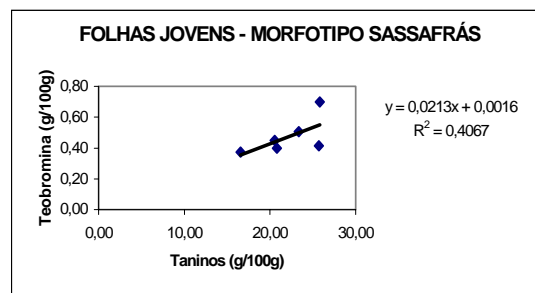
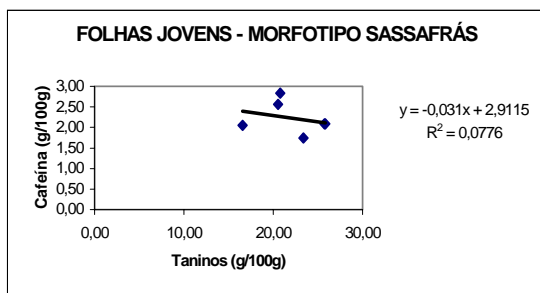
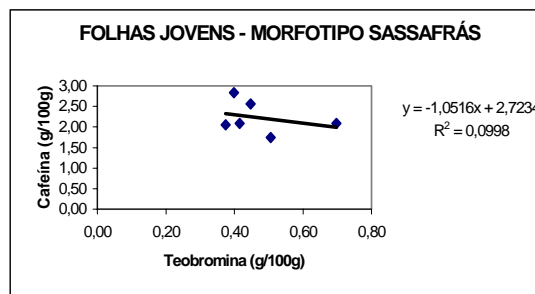
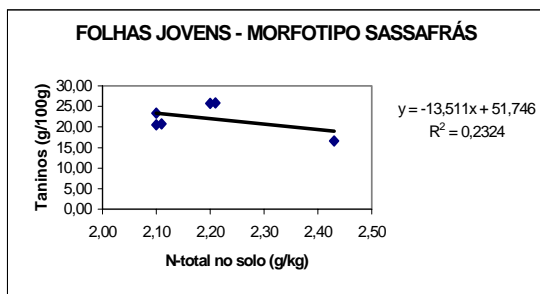
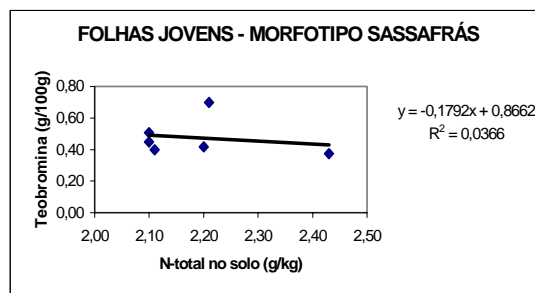
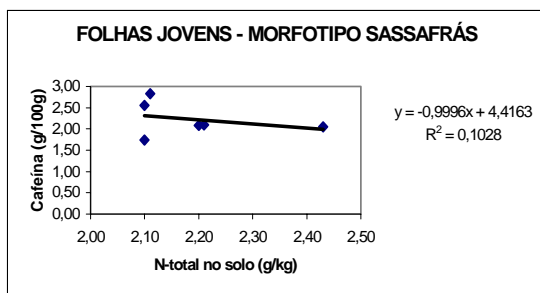
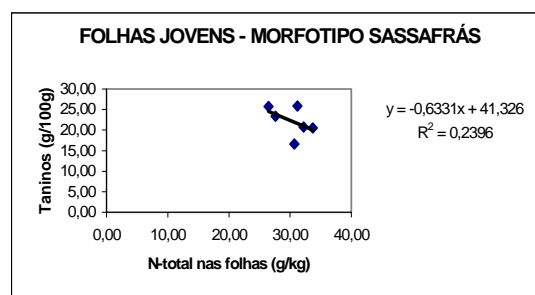
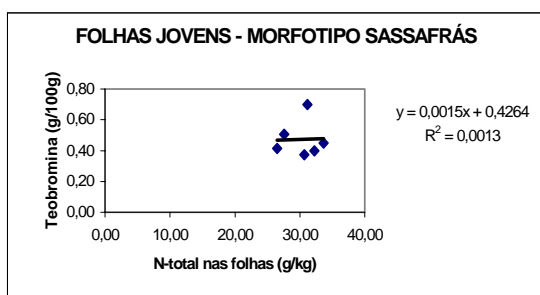
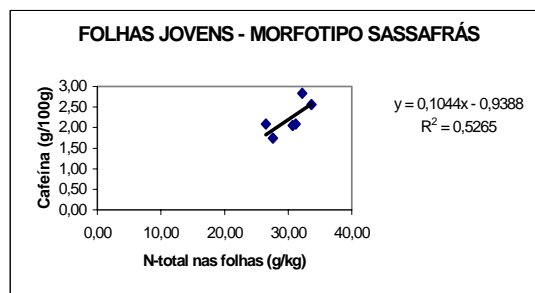
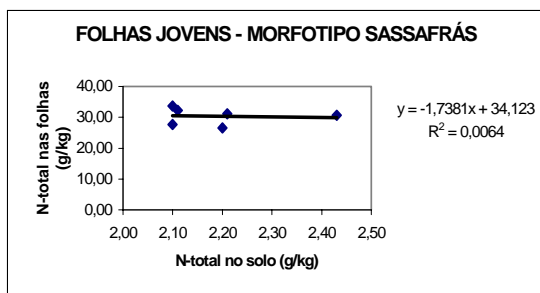
## ANEXO 19 - CORRELAÇÕES ENTRE FOLHAS JOVENS DO MORFOTIPO CINZA



## ANEXO 20 - CORRELAÇÕES ENTRE FOLHAS MADURAS DO MORFOTIPO CINZA



## ANEXO 21 - CORRELAÇÕES ENTRE FOLHAS JOVENS DO MORFOTIPO SASSAFRÁS





## ANEXO 22 - CORRELAÇÕES ENTRE FOLHAS MADURAS DO MORFOTIPO SASSAFRÁS

