

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

CÁTIA NARA TOBALDINI FRIZON

**DETERMINAÇÃO DE PARÂMETROS FÍSICOS E QUÍMICOS EM
ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis* Saint Hilaire) *IN NATURA* E
PROCESSADA UTILIZANDO FERRAMENTAS
QUIMIOMÉTRICAS**

CURITIBA
2015

CÁTIA NARA TOBALDINI FRIZON

**DETERMINAÇÃO DE PARÂMETROS FÍSICOS E QUÍMICOS EM
ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis* Saint Hilaire) *IN NATURA* E
PROCESSADA UTILIZANDO FERRAMENTAS
QUIMIOMÉTRICAS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, setor de Tecnologia da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do grau de Doutora em Engenharia de Alimentos.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Rosemary Hoffmann Ribani

CURITIBA
2015

RESUMO GERAL

DETERMINAÇÃO DE PARÂMETROS FÍSICOS E QUÍMICOS EM ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis* Saint Hilaire) *IN NATURA* E PROCESSADA UTILIZANDO FERRAMENTAS QUIMIOMÉTRICAS

Considerando que a composição físico-química da erva-mate se relaciona com sua importância nutricional e econômica, esta tese teve como objetivo avaliar parâmetros físicos e químicos da erva-mate adquirida em diferentes condições de cultivo e submetida a diversos tipos de processamento, assim como determinar a aceitação de um novo produto à base desta matéria prima. Para se obter informações de interesse nas amostras, utilizou-se a espectroscopia na região do infravermelho próximo associada a métodos quimiométricos, como a análise de componentes principais (PCA) e a regressão por mínimos quadrados parciais (PLS), de modo a avaliar o potencial da técnica NIR como ferramenta rápida e não destrutiva para a quantificação de componentes químicos da erva-mate. Inicialmente, no Capítulo 1, é apresentada uma revisão da literatura, a qual estabelece a importância da erva-mate, sua produção, formas de consumo, compostos secundários e benefícios à saúde, contemplando também uma discussão sobre a metodologia de espectroscopia no infravermelho próximo, sua aplicação na área alimentícia, suas vantagens e limitações e seus métodos multivariados. O estudo apresentado no Capítulo 2 relata que utilizando a PCA sobre os espectros NIR, as amostras de erva-mate de diferentes regiões do Estado do Paraná, Brasil (Metropolitana de Curitiba, Sudeste e Centro-Sul) foram separadas com sucesso em três grupos em relação às diferentes regiões de cultivo. Para prever o conteúdo de fenólicos totais (CFT) nas amostras de erva-mate das diferentes regiões de plantio, o melhor modelo PLS apresentou um coeficiente de correlação de 0,81 e um erro de predição de 12 %, indicando que o NIR pode ser aplicado como um método eficiente para a avaliação do CFT em erva-mate. No Capítulo 3, o teor de taninos totais foi investigado para a erva-mate proveniente de cultivo convencional e orgânico durante as seguintes etapas do processamento: folhas verdes, sapeco, pré-secagem, secagem, cancheamento e armazenamentos natural e forçado. De acordo com o método analítico de Prince *et al.* (1978), o teor de taninos aumentou durante o processamento tanto para as amostras orgânicas quanto para as convencionais. A previsão do conteúdo de taninos por NIR alcançou boa precisão pelo modelo PLS ($R^2 = 0,72$ e $RMSEP = 4,92$ usando 5 variáveis latentes - VLs). Utilizando a técnica PCA sobre os dados dos espectros NIR, foi possível constatar a autenticidade de origem de ambas as amostras (orgânica e convencional). Durante as etapas de processamento, analisando a cor por espectrofotômetro CM-5, observou-se que a croma $-a^*$, que corresponde à intensidade da cor verde na erva-mate, sofreu redução, contudo menos acentuada nas amostras orgânicas em comparação com as amostras de cultivo convencionais. No Capítulo 4, os métodos por micro-ondas e NIR, frente ao método por estufa (oficial), foram

empregados para verificar sua aplicabilidade na determinação do teor de umidade. Utilizaram-se amostras de erva-mate compostas por folha/palito e somente folhas durante armazenamento de 180 dias sob as seguintes condições: na indústria em condição natural (ANI), com temperatura (T) de 18 ± 2 °C e umidade relativa (UR) de 80 ± 2 %, também na indústria, mas em acondicionamento acelerado (AAI) (T = 45 ± 2 °C e UR = 31 ± 2 %) e em laboratório por acondicionamento acelerado (AAL) (T = 32 a 48 °C e UR = 10 a 50 %). Segundo a análise por micro-ondas, aplicando 900 W de potência por 4,3 minutos, a resposta foi similar àquela obtida pelo método oficial para amostras na faixa de 4,5 a 8,7 g.100g⁻¹ de umidade. Utilizando modelos PLS para a comparação dos dados por NIR, os valores R² e RMSEP foram de 0,54 e 0,97, respectivamente, para o método por estufa e de 0,42 e 1,08 para micro-ondas, não apresentando ainda capacidade suficiente para que sejam implantados. O teor de umidade nas amostras no período de armazenamento (180 dias) nas condições ANI e AAI na indústria foi semelhante, variando de 4,5 a 6,5 g.100g⁻¹, enquanto as amostras armazenadas sob a condição AAL em laboratório apresentaram resultados entre 1 e 6 g.100g⁻¹. O Capítulo 5 trata da aplicação da erva-mate no desenvolvimento de um novo produto, gomas de mascar *diet*, utilizando diferentes tipos de amostras de erva-mate beneficiada (verde, estacionada e tostada) com aroma de camomila, laranja e maçã-verde. A PCA gerou dois grupos de aceitação, um deles formado pelas gomas de mascar contendo os três tipos de erva-mate beneficiadas aromatizadas com camomila, e o outro grupo também composto pelos três tipos de erva, mas aromatizada com laranja e maçã-verde. A Análise Aglomerativa Hierárquica (HCA) indicou que há possibilidade de comercialização dos produtos selecionados no estudo. Os produtos com maior aceitação foram as gomas de mascar elaboradas com erva-mate estacionada e aromatizada com laranja e maçã-verde, respondendo por 67 % do total de aceitação.

Palavras-chave: compostos fenólicos, umidade, espectroscopia no infravermelho próximo (NIR), micro-ondas, PLS, PCA, análise sensorial, goma de mascar.

ABSTRACT

This thesis aims to evaluate physical and chemical parameters of yerba mate acquired from different growing conditions and subjected to different processings, as well as the consumer acceptance of a new product based in this raw material. The spectroscopy in the near infrared region (NIR) associated with multivariate statistical methods (chemometrics), such as the Principal Component Analysis (PCA) and the Partial Least Squares Regression (PLS), was applied to obtain information of interest in the samples, in order to assess the potential of NIR as a fast and non-destructive tool for quantifying chemical components in yerba mate. Chapter 1 presents a literature review, establishing the importance of yerba mate, its production, forms of use, secondary compounds and health benefits, and also includes a discussion on the near infrared spectroscopy methodology, its application in the food industry, advantages and limitations and multivariate methods. Chapter 2 reports that yerba mate samples from different regions of Paraná, Brazil (Metropolitan area of Curitiba, Southeast and Center-South) were successfully separated in 3 different groups according to the growing region. To predict the total phenolic content (TPC) of yerba mate samples from different growing regions, the best PLS model presented a correlation coefficient of 0.81 and a prediction error of 12 %, suggesting that NIR can be applied as an efficient method for determining TPC in yerba mate. Chapter 3, in turn, reports the content of tannins in conventional and organic yerba mate samples collected at different stages of industrial processing: green leaves, singeing, pre-drying, drying, *cancheamento*, natural storage and forced storage. According to the analytical method of Prince *et al.* (1978), the tannin content increased during processing either for conventional or organic samples. The prediction of tannin content by NIR showed good precision according to the PLS model ($R^2 = 0.72$ and RMSEP = 4.92 using 5 leverage levels - LVs). Applying the PCA on the NIR spectra, the authenticity of origin of both samples (organic and conventional) was stated. From the spectrophotometric analysis, it was observed that the chroma coordinate $-a^*$, which corresponds to the intensity of the green tone, was reduced during processing, however less evidently for the organic samples respect to the conventional ones. Chapter 4 reports the results of moisture content as evaluated by the methods of microwave and NIR in comparison to the conventional analysis (stove drying). Samples composed of leaves and stems and only leaves stored at industry under natural conditions (NC), temperature (T) 18 ± 2 °C and relative humidity (RH) 80 ± 2 %, under accelerated conditions (AC) (T= 45 ± 2 °C and RH = 31 ± 2 %) and also in laboratory under controlled storage (CS) (T = 32 - 48 °C and UR = 10-50 %) were used in the tests. Using microwave at 900 W for 4.3 minutes, the response was similar to that obtained by the conventional method for samples in the moisture range of 4.5 to 8.7 g.100g⁻¹. The PLS models' predictive ability, however, is still not enough for them to be implemented in a real production context for the values of R^2 and RMSEP were 0.54 and 0.97, respectively, for the stove drying and 0.42 and 1.08 for the microwave method. The behavior of the samples' moisture content during 180 days under NC and AC conditions at industry was similar, varying from 4.5 to 6.5 g.100g⁻¹, whereas samples stored under NC conditions in laboratory resulted in values from 1 to 6 g.100g⁻¹.

Finally, Chapter 5 comprises the discussion on the application of yerba-mate in the development of a new product, diet chewing gum from processed yerba mate (green, parked and toasted) aromatized with chamomile, orange and green apple. The PCA generated two acceptance groups, the first one formed by chewing gums from all kinds of processed yerba mate with chamomile aroma, and the second one, comprising chewing gums added of orange and green apple aromas. The Hierarchical Cluster Analysis (HCA) indicated the possibility of marketing the products selected in this study. The products with best acceptance were the chewing gums prepared with parked yerba mate flavored with orange and green apple, accounting for 67 % of the total acceptance.

Keywords: phenolic compounds, moisture content, NIR, micro-waves, PLS, PCA, sensory analysis, chewing gum.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1- REVISÃO DE LITERATURA

- FIGURA 1.1 - (a) ÁREA DE OCORRÊNCIA NATURAL DA ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis*): (1) ARGENTINA; (2) BRASIL; (3) PARAGUAI E (4) URUGUAI. (b) FORMAS TRADICIONAIS DE CONSUMO DA ERVA-MATE NA AMERICA DO SUL: CHUMARRÃO, TERERÊ E CHÁ MATE..... 25
- FIGURA 1.2 - APLICAÇÕES INDUSTRIAIS E USOS ALTERNATIVOS PARA A ERVA-MATE. 29
- FIGURA 1.3 - ESPECTRO ELETROMAGNÉTICO. 31
- FIGURA 1.4 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DE REFLECTÂNCIA DIFUSA NO INFRAVERMELHO EM AMOSTRA SÓLIDA..... 33
- FIGURA 1.5 - (a) REPRESENTAÇÃO DOS EIXOS DAS COMPONENTES PRINCIPAIS; (b) PROJEÇÃO DOS LOADINGS (p1 e p2); (c) PROJEÇÃO DOS SCORES (t1 e t2). 35

CAPÍTULO 2 - DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS EM ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis*) COMBINANDO ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO (NIR) E ANÁLISE MULTIVARIADA

- FIGURA 2.1 – ILUSTRAÇÃO DA LOCALIZAÇÃO GEOGRAFICA DAS AMOSTRAS E ANÁLISES EMPREGADAS NO ESTUDO..... 52
- FIGURA 2.2 - ESPECTRO DE REFLECTÂNCIA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO DE AMOSTRAS DE ERVA-MATE PROVENIENTES DE DIFERENTES REGIÕES DO PARANÁ (BRASIL).....56
- FIGURA 2.3 - GRÁFICOS DE ESCORES DA ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS REALIZADA COM AMOSTRAS DE ERVA-MATE DE DIFERENTES REGIÕES DO PARANÁ (BRASIL), UTILIZANDO DOIS MODELOS DE EQUIPAMENTO. 57
- FIGURA 2.4 - (a) ESCORES PCA (PC1 x PC2 x PC3) E b) LOADINGS DAS TRÊS COMPONENTES PRINCIPAIS DOS ESPECTROS DE ERVA-MATE DE DIFERENTES REGIÕES DO PARANÁ (BRASIL) PELO TRÉ-TRATAMENTO MSC..... 59
- FIGURA 2.5 - CORRELAÇÃO ENTRE CONCENTRAÇÃO DE FENÓIS TOTAL REAL E PREVISTA PELO MODELO MULTIVARIADO PARA O CONJUNTO DE VALIDAÇÃO (N = 26)..... 64

CAPÍTULO 3 - ESPECTROSCOPIA NIR PARA PREVER TANINOS TOTAIS NA ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis*) CONVENCIONAL E ORGÂNICA DURANTE AS ETAPAS DO PROCESSAMENTO INDUSTRIAL E CONTROLE DA COR POR ESPECTROFOTOMETRIA

FIGURA 3.1 - ILUSTRAÇÃO DAS ETAPAS DO PROCESSAMENTO INDUSTRIAL DA ERVA-MATE.	76
FIGURA 3.2 - COMPRIMENTO DE ONDAS (350 nm A 740 nm) NA ANÁLISE DA COR NAS DIFERENTES ETAPAS DE PROCESSAMENTO EM AMOSTRAS DE ERVA-MATE CONVENCIONAL (C) E ORGÂNICA (O).	82
FIGURA 3.3 - CONCENTRAÇÃO DE TANINOS TOTAIS NAS DIFERENTES ETAPAS DO PROCESSAMENTO INDUSTRIAL DA ERVA-MATE CONVENCIONAL E ORGÂNICA ANALISADA PELO MÉTODO PRINCE <i>ET AL.</i> (1978) (UV/VIS).	83
FIGURA 3.4 - PERFIL DOS ESPECTROS ORIGINAIS DE NIR OBTIDOS NAS ETAPAS DE PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS DE ERVA-MATE CONVENCIONAL E ORGÂNICA.	85
FIGURA 3.5 - ESCORE DA ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS REALIZADA COM AMOSTRAS DE ERVA-MATE.	86
CAPÍTULO 4 - USO DE MICRO-ONDAS COMO UM MÉTODO ALTERNATIVO NO CONTROLE DE UMIDADE DA ERVA-MATE DURANTE O ARMAZENAMENTO E PREDIÇÃO POR ESPECTROSCOPIA NIR	
FIGURA 4.1 - SUPERFÍCIE DE RESPOSTA PARA O EFEITO DO TEMPO E DA POTÊNCIA DE MICRO-ONDAS NO TEOR DE UMIDADE	101
FIGURA 4.2 - CORRELAÇÃO DE PEARSON ENTRE A UMIDADE DA ERVA-MATE PELO MÉTODO ESTUFA (OFICIAL) E EM FORNO DE MICRO-ONDAS PARA AMOSTRAS DE FOLHA/PALITO (LINHA SÓLIDA, ▲) E SOMENTE FOLHAS (LINHA PONTILHADA, ●)	105
FIGURA 4.3 - MÉDIA DOS ESPECTROS ORIGINAIS DAS AMOSTRAS DE ERVA-MATE FOLHA/PALITO E SOMENTE FOLHAS.	107
FIGURA 4.4 - PREDIÇÃO POR PLS DO TEOR DE UMIDADE EM AMOSTRAS DE ERVA-MATE (FOLHA/PALITO E SOMENTE FOLHAS). OBTIDO POR (a) MÉTODO ESTUFA (OFICIAL) E (b) MICRO-ONDAS.	109
FIGURA 4.5 - TEOR DE UMIDADE DURANTE O ARMAZENAMENTO DA ERVA-MATE FOLHA/PALITO ARMAZENADA SOB AS CONDIÇÕES ANI (18 °C/81 UR (■)) E AAI (45 °C/31 UR(▲))	111
FIGURA 4.6 - TEOR DE UMIDADE DURANTE O ARMAZENAMENTO PARA O ACONDICIONAMENTO AAL. (a) ERVA-MATE COM PALITO E (b) ERVA-MATE SEM PALITO: 32 °C/50 % UR (■), 48 °C/50 % UR (●), 32 °C/10 % UR (▲), 48 °C/10 % UR (▼) E 40 °C/30 % UR (x).	113

CAPÍTULO 5 - APLICAÇÃO DE MÉTODOS MULTIVARIADOS PARA AVALIAR A ACEITAÇÃO DO CONSUMIDOR DE GOMA DE MASCAR SEM AÇUCAR A BASE DE ERVA-MATE VERDE, ESTACIONADA E TOSTADA

FIGURA 5.1 - ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA) DAS AMOSTRAS DE GOMAS DE MASCAR.....	126
FIGURA 5.2 - DENDROGRAMA DOS CONSUMIDORES (n=105)	127
FIGURA 5.3 - REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DAS DIMENSÕES 1 E 2 DA EXIBIÇÃO MAPA DE PREFERÊNCIA INTERNO.....	128
FIGURA 5.4 - ATITUDE DE COMPRA DOS PROVADORES EM RELAÇÃO AS GOMAS DE MASCAR.....	131

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1 - REVISÃO DE LITERATURA

TABELA 1.1 - PRINCIPAIS COMPONENTES BIOATIVOS EM PREPARAÇÕES DE <i>Ilex paraguariensis</i> E SEUS BENEFÍCIOS.	27
TABELA 1.2 - RESUMO DAS ETAPAS E CONDIÇÕES DO PROCESSAMENTO DA ERVA-MATE.....	28
TABELA 1.3 - PROPOSTAS DE APLICAÇÃO ANALÍTICA DO NIR NO SETOR ALIMENTÍCIO.	30
TABELA 1.4 – FACILIDADES E NECESSIDADES PARA APLICAÇÃO DO NIR.	31

CAPÍTULO 2 - DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS EM ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis*) COMBINANDO ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO (NIR) E ANÁLISE MULTIVARIADA

TABELA 2.1 - CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS DE ERVA-MATE PELO MÉTODO DE FOLIN-CIOCALTEU.	62
TABELA 2.2 – PARÂMETROS DOS MODELOS MULTIVARIADOS DESENVOLVIDOS EM FUNÇÃO DO TIPO DE PRÉ-TRATAMENTO E O NÚMERO DE VARIÁVEIS LATENTES (VLs).....	63
TABELA 2.3 - COMPARAÇÃO DOS RESULTADOS DE CFT (mg.g^{-1}) PARA AS AMOSTRAS DE UM CONJUNTO DE VALIDAÇÃO OBTIDO POR MÉTODOS DE REFERÊNCIA E MODELO DE REGRESSÃO PLS.....	65

CAPÍTULO 3 - ESPECTROSCOPIA NIR PARA PREVER TANINOS TOTAIS NA ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis*) CONVENCIONAL E ORGÂNICA DURANTE AS ETAPAS DO PROCESSAMENTO INDUSTRIAL E CONTROLE DA COR POR ESPECTROFOTOMETRIA

TABELA 3.1 - VARIAÇÃO MÉDIA DOS VALORES DE L^* , a^* e b^* EM AMOSTRAS DE ERVA-MATE CONVENCIONAL E ORGÂNICA OBTIDA NAS DIFERENTES ETAPAS DO PROCESSAMENTO INDUSTRIAL.....	81
TABELA 3.2 - RESULTADO DOS MODELOS MULTIVARIADOS DESENVOLVIDOS COM OS PRÉ-TRATAMENTOS E NÚMERO DE VARIÁVEIS LATENTES (VLS) UTILIZADAS.	88
TABELA 3.3 - CORRELAÇÃO DOS RESULTADOS OBTIDOS PELO MÉTODO DE UV/VIS E POR ESPECTROSCOPIA NIR PARA A DETERMINAÇÃO DE TANINOS TOTAIS.....	88

CAPÍTULO 4 - USO DE MICRO-ONDAS COMO UM MÉTODO ALTERNATIVO NO CONTROLE DE UMIDADE DA ERVA-MATE DURANTE O ARMAZENAMENTO E PREDIÇÃO POR ESPECTROSCOPIA NIR

TABELA 4.1 - ILUSTRAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO DAS AMOSTRAS DE ERVA-MATE FOLHA/PALITO E SOMENTE FOLHAS.....	102
TABELA 4.2 - ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA AMOSTRAS FOLHA/PALITO. VARIÁVEL DEPENDENTE: UMIDADE (g. 100 g ⁻¹)	102
TABELA 4.3 - ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA AMOSTRAS SOMENTE FOLHAS. VARIÁVEL DEPENDENTE: UMIDADE (g. 100 g ⁻¹)	104
TABELA 4.4 - MODELOS PLS PARA PREVER TEOR DE UMIDADE EM AMOSTRAS DE ERVA-MATE EM COMPARAÇÃO AOS VALORES OBTIDOS PELO MÉTODO ESTUFÁ (OFICIAL) E POR MICRO-ONDAS.....	108

CAPÍTULO 5 - APLICAÇÃO DE MÉTODOS MULTIVARIADOS PARA AVALIAR A ACEITAÇÃO DO CONSUMIDOR DE GOMA DE MASCAR SEM AÇÚCAR A BASE DE ERVA-MATE VERDE, ESTACIONADA E TOSTADA

TABELA 5.1 - DESCRIÇÃO DAS AMOSTRAS.....	121
TABELA 5.2 - CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS E HÁBITOS DE CONSUMO DA POPULAÇÃO DE CONSUMIDORES INQUIRIDOS (n =105)	124
TABELA 5.3 - MÉDIAS DA ACEITAÇÃO DE GOMAS DE MASCAR ELABORADAS COM ERVA-MATE E AROMATIZANTES POR SEGMENTO DE CONSUMIDORES	130

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA – Análise de variância

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AOAC – *Association of Official Analytical Chemists*

CFT - Compostos Fenólicos Totais

DBO - Demanda Bioquímica de Oxigênio

DP - Desvio padrão

HCA – Análise Aglomerativa Hierárquica

MSC - *Multiplicative Scatter Correction* (Correção do Espalhamento Multiplicativo)

NIPALS – *Nonlinear iterative partial least square*

NIR - *Near Infrared (Infravermelho Próximo)*

Parâmetros colorimétricos - L* (luminosidade), a* (intensidade de cor, +a*= vermelho e -a*= verde), b* (intensidade de cor, +b*= laranja, -b*= azul)

PC – Componente principal

PCA - *Principal Component Analysis* (Análise de Componentes Principais)

PLS - *Partial Least Squares* (Mínimos Quadrados Parciais)

RMSEC - *Root Mean Squares Errors of Calibration*

RMSECV - *Root Mean Squares Errors of Cross Validation*

RMSEP - *Root Mean Squares Errors of Prediction*

VIS - Visível

VLs - Variáveis Latentes

5-CQA - Ácido5-cafeoilquínico

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	21
1.1 OBJETIVO GERAL	22
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	22
CAPÍTULO 1 REVISÃO DE LITERATURA	24
1 ERVA-MATE	24
1.1 Principais componentes bioativos de <i>Ilex paraguariensis</i>	26
1.2 Produtos a base de erva-mate	29
2 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO - UMA VISÃO GERAL	30
2.1 Espectro Eletromagnético	31
2.3 MÉTODOS DE ANÁLISE MULTIVARIADA	33
2.3.1 Quimiometria	33
2.3.2 Análise de Componentes Principais (PCA)	34
2.3.3 Mínimos Quadrados Parciais (PLS)	35
2.3.4 Pré-tratamentos dos dados espectrais	38
2.3.4.1 Métodos de redução de ruído.....	38
2.3.4.2 Métodos de correção de linha de base e espalhamento	39
2.3.4.3 Métodos de centralização e normalização	40
3 CONSIDERAÇÕES FINAIS	40
REFERÊNCIAS	41
CAPÍTULO 2 - DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS EM ERVA-MATE (<i>Ilex paraguariensis</i>) COMBINANDO ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO (NIR) E ANÁLISE MULTIVARIADA	47
RESUMO.....	47
ABSTRACT	48
1 INTRODUÇÃO	48
2 MATERIAL E MÉTODOS	51
2.1 Material vegetal	51
2.2 Determinação de compostos fenólicos totais	52
2.3 Análise por espectroscopia no infravermelho próximo	53
2.3.1 Aquisição dos espectros.....	53
2.3.2 Processamento multivariado	53
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	55
3.1 Caracterização espectral.....	55
3.2 Análise de componentes principais das amostras das diferentes regiões de cultivo	58
3.3 Determinação de compostos fenólicos totais (CFT).....	60
3.4 Quantificação de CFT através de modelos PLS.....	62
4 CONCLUSÃO.....	65
REFERÊNCIAS.....	66

CAPÍTULO 3 - ESPECTROSCOPIA NIR PARA PREVER TANINOS TOTAIS NA ERVA-MATE (<i>Ilex paraguariensis</i>) CONVENCIONAL E ORGÂNICA DURANTE AS ETAPAS DO PROCESSAMENTO INDUSTRIAL E CONTROLE DA COR POR ESPECTROFOTOMETRIA	71
RESUMO.....	71
ABSTRACT	72
1 INTRODUÇÃO	73
2 MATERIAL E METODOS	75
2.1 Material vegetal	75
2.2 Medição da cor.....	77
2.3 Determinação de taninos totais	77
2.4 Análise por espectroscopia no infravermelho próximo	78
2.4.1 Aquisição dos espectros.....	78
2.4.2 Métodos quimiométricos.....	78
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	79
3.1 Medição da cor.....	79
3.2 Concentração dos taninos totais	82
3.3 Calibração multivariada.....	84
3.3.1 Espectros NIR	84
3.4 Análise de PCA	85
3.5 Modelo de calibração PLS.....	87
4 CONCLUSÃO.....	89
REFERÊNCIAS.....	89
CAPÍTULO 4 - USO DE MICRO-ONDAS COMO UM MÉTODO ALTERNATIVO NO CONTROLE DE UMIDADE DA ERVA-MATE DURANTE O ARMAZENAMENTO E PREDIÇÃO POR ESPECTROSCOPIA NIR	93
RESUMO.....	93
ABSTRACT	94
1 INTRODUÇÃO	95
2 MATERIAL E MÉTODOS	96
2.1 Preparação das amostras e condições de armazenamento.....	96
2.2 Análise de umidade.....	98
2.2.1 Método oficial	98
2.2.2 Previsão de umidade por micro-ondas.....	98
2.2.3 Espectroscopia no infravermelho próximo (NIR)	99
2.2.3.1 Modelo de calibração PLS.....	100
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	100
3.1 Definição dos parâmetros operacionais no teor de umidade por micro-ondas..	100
3.2 Espectros NIR	106
3.3 Previsão da umidade por NIR	107
3.3.1 Modelos PLS	107
3.3 Avaliação da umidade (estufa) da erva-mate nas diferentes condições de armazenamento	110
4 CONCLUSÃO.....	113
REFERÊNCIAS.....	114

CAPÍTULO 5 - APLICAÇÃO DE MÉTODOS MULTIVARIADOS PARA AVALIAR A ACEITAÇÃO DO CONSUMIDOR DE GOMA DE MASCAR SEM AÇÚCAR A BASE DE ERVA-MATE VERDE, ESTACIONADA E TOSTADA	117
RÉSUMO.....	117
ABSTRACT	118
1 INTRODUÇÃO	119
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	120
2.2 Processamento da erva-mate	120
2.3 Elaboração de goma de mascar	121
2.4 Seleção dos consumidores	122
2.4.1 Aplicação da avaliação sensorial.....	122
2.5 Análise estatística.....	123
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	123
3.1 Características dos consumidores selecionados.....	123
3.2 Aceitação dos consumidores.....	125
3.3 Divisão e identificação dos clusters.....	126
3.4 Intenção de compra.....	130
4 CONCLUSÃO.....	131
REFERÊNCIAS	132
CONCLUSÕES GERAIS.....	134
ANEXO 1.....	136

F919d

Frizon, Cátia Nara Tobaldini

Determinação de parâmetros físicos e químicos em erva-mate (*Ilex paraguariensis* Saint Hilaire) in natura e processada utilizando ferramentas quimiométricas/ Cátia Nara Tobaldini Frizon. – Curitiba, 2015.

139 f. : il. color. ; 30 cm.

Tese - Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos, 2015.

Orientador: Rosemary Hoffmann Ribani .

Bibliografia: p. 132-133.

1. Erva-mate - Propriedades físico-químicas. 2. Compostos químicos. 3. Tecnologia de Alimentos. I. Universidade Federal do Paraná. II. Ribani, Rosemary Hoffmann. III. Título.

CDD: 663.96

CÁTIA NARA TOBALDINI FRIZON

**DETERMINAÇÃO DE PARÂMETROS FÍSICOS E QUÍMICOS EM
ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis* Saint Hilaire) IN NATURA E
PROCESSADA UTILIZANDO FERRAMENTAS
QUIMIOMÉTRICAS**

Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor no Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, da Universidade Federal do Paraná, pela Comissão formada pelos professores:



Orientadora: Prof^a. Dr^a. ROSEMARY HOFFMANN RIBANI
Setor de Tecnologia, UFPR



Prof^a. Dr^a. EDNA REGINA AMANTE
Centro de Ciências Agrárias, UFSC



Dr^a. ROSSANA CATIE BUENO DE GODOY
EMBRAPA Florestas



Dr. KLEBER ALVES DOS SANTOS BERTÉ
Chamel Produtos Naturais



Prof^a. Dr^a. SILVANA NISGOSKI
Setor de Ciências Agrárias, UFPR

Curitiba, 08 de maio de 2015.

Ilex paraguariensis

Música: Engenheiros do Hawaii
(ano: 1989)



Hoje eu acordei mais cedo
Tomei sozinho o chimarrão
Procurei a noite na memória..
procurei em vão
Hoje eu acordei mais leve (nem li o jornal)
Tudo deve estar suspenso...
nada deve pesar
Já vivi tanta coisa, tenho
tantas a viver
Tô no meio da estrada e nenhuma derrota
vai me vencer
Hoje eu acordei livre: não devo nada a
ninguém
Não há nada que me prenda

Ainda era noite, esperei o dia amanhecer
como quem aquece a água sem deixar ferver
Hoje eu acordei, agora eu sei viver no escuro
Até que a chama se acenda
Verde....quente...erva...
ventre...dentro....estranhas
Mate amargo noite adentro estrada estranha

Nunca me deram mole, não (melhor assim)
Não sou a fim de pactuar
(sai pra lá)
Se pensam que tenho as mãos vazias e frias
(melhor assim)
Se pensam que as minhas mãos estão presas
(surpresa)

Mãos e coração, livres e quentes:
chimarrão e leveza

Mãos e coração, livres e quentes:
chimarrão e leveza

...*Ilex paraguariensis*...

...*Ilex paraguariensis*...

AGRADECIMENTOS

Há sempre muito a agradecer as pessoas ao nosso redor. Especialmente quando se termina uma tese de doutorado. Durante quatro anos de trabalho duro, para ser capaz de escrever estas páginas, muitas pessoas contribuíram com ideias, comentários, sugestões e amizade ...

Gostaria de agradecer:

Minha família

..... por compreender minha ausência e pela força em todos os momentos.

A **Rosemary Hoffmann Ribani**, minha orientadora

.....pela sua experiência de vida e profissional que foram determinantes ao longo da construção desta tese de doutorado. A sua disponibilidade irrestrita, sua forma crítica, inteligente e criativa me fez ver onde o conhecimento deve enriquecer... Meus sinceros agradecimentos.

Aos membros da banca, **Dra. Edna Regina Amante** (UFSC), **Dra. Silvana Nisgoski** (UFPR), **Dra. Rossana Catie Bueno de Godoy** (Embrapa-Florestas), **Dr. Kleber Alves dos Santos Berté** (Empresa CHAMEL/ABIFISA)

.....pelas valiosas sugestões na melhoria deste trabalho.

As alunas- **Mariana Perreira** (IC) e **Giovana Gonçalves Dusi** (voluntária)

..... por toda ajuda na parte experimental. Vocês foram fundamentais.

Às empresas **Triunfo** (São João do Triunfo-PR) e **Baldo S/A** (São Mateus do Sul - PR)

.....pelo incentivo e fornecimento da matéria-prima para realização da pesquisa.

A empresa **Proaroma** (Diadema - SP)

.....pela disponibilização da planta piloto para realização dos meus testes e também pela doação de matérias primas.

A **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária** (EMBRAPA-Florestas) (Colombo-PR)

..... pelo apoio na realização da análise sensorial.

As **pessoas que participaram** da análise sensorial

.....obrigada pela colaboração.

A empresa **Tradbor** (Iperó-SP)

.....pelas embalagens cedidas.

A **todos os amigos** que fiz no PPGEAL e fora do PPGEAL. Para não correr o risco de não enumerar algum não vou identificar ninguém, aqueles a quem este agradecimento se dirige sabê-lo-ão

.....pelo ambiente amigo e fraterno durante todo o curso, amizades que certamente se perpetuarão.

Aos funcionários e técnicos de laboratório, em especial Laboratório de Anatomia e Identificação da Madeira- Engenharia Florestal (**Professora Dra. Silvana**), Laboratório de Espectroscopia de Infravermelho-Química (**Grazielli**), Laboratório de Química Analítica e Alimentos- Engenharia de Alimentos (**Marcelo**), Laboratório de Química Analítica Aplicada-EngenhariaQuímica (**Iverli**), Laboratório de Pesquisa Experimental I- Engenharia Química (**Ivan**), Laboratório de Química Fina-Tecpar (**Dr. Marcelo**) e Laboratório de Análise Sensorial- Engenharia de Alimentos (**Silvana**)

..... que colaboraram com esta pesquisa.

À capes

..... pela bolsa de doutorado recebida.

À UFPR e o PPGEAL, em especial ao funcionário **Paulo Roberto Krainski**.

..... obrigada por tudo.

À Deus

.....pela presença constante em minha vida, por ter abençoado todos os dias da minha vida, colocando pessoas boas em meu caminho e por me dar forças para seguir sempre em frente.

A todos o meu sincero e profundo **Muito Obrigado!**

Cátia Nara Tobaldini Frizon

1. INTRODUÇÃO GERAL

A erva-mate como matéria prima, é principalmente encontrada na América do Sul ocorrendo naturalmente na Argentina, Brasil e Paraguai. O processo de elaboração do produto erva-mate começa com a colheita, sapeco ou inativação enzimática, secagem e cancheamento ou fragmentação. As principais formas de consumo são o chimarrão (mate quente), tererê (mate gelado) e chá de mate tostado.

A planta é conhecida em virtude da sua variedade de compostos fenólicos, tais como a rutina e o ácido 5-cafeoilquínico (5-CQA), os quais atuam como antioxidantes, possui considerável conteúdo de saponinas, as quais são responsáveis pelo amargor e espuma do mate e também é muito conhecida por suas propriedades antioxidantes, pela propriedade estimulante atribuída ao seu conteúdo de alcalóides metilxantínicos, tal como a cafeína. Além disso, a erva-mate apresenta vitaminas e minerais, apresentando amplo perfil nutricional para a saúde humana. Devido às suas propriedades funcionais e sensoriais, procura-se por meio dos estudos, incentivar o aumento do consumo da erva-mate, alterando seu status de produto regional para produto de apreciação mundial.

Com relação à avaliação e/ou monitoramento da erva-mate, os métodos padronizados convencionais são geralmente lentos e requerem a utilização de numerosos reagentes e experimentos conduzidos em laboratório, que demandam tempo para a coleta, preparação e análise da amostra. Uma das alternativas para resolver estes inconvenientes seria a utilização da técnica de espectroscopia no infravermelho próximo (NIR), a qual permite analisar a amostra de uma forma não destrutiva, rápida, sem uso de reagentes e sem produzir resíduos, sendo capaz de determinar vários parâmetros físicos e/ou químicos simultaneamente. No entanto, a complexidade de sinal na região do NIR necessita de técnicas quimiométricas para modelar os dados no que tange à identificação e quantificação das amostras de interesse. Considerando ainda que a composição química se relaciona com a importância terapêutica da erva-mate, este trabalho se propôs a avaliar o potencial da técnica NIR como

ferramenta rápida e não destrutiva para quantificar parâmetros físicos e químicos na erva-mate.

1.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo principal a ser alcançado neste trabalho inclui a avaliação de parâmetros físicos e químicos de interesse em erva-mate e seus produtos com o suporte da quimiometria e da técnica de espectroscopia no infravermelho próximo (NIR).

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

A fim de cumprir o objetivo geral, foram propostos os seguintes objetivos específicos:

- Desenvolvimento e avaliação de modelos de previsão multivariados para quantificar compostos fenólicos totais em amostras de erva-mate de diferentes regiões do Paraná: Metropolitana de Curitiba, Sudeste e Centro Sul;
- Investigação do teor de taninos totais em amostras de erva-mate convencional e orgânica, coletadas nas diferentes etapas do processamento industrial, quantificando-os por método físico-químico convencional e pela técnica NIR;
- Avaliação e comparação de métodos de determinação de umidade por micro-ondas e por espectroscopia NIR frente ao método oficial em estufa para amostras de erva-mate folha/palito e somente folhas cancheada (fragmentada), armazenadas sob condições controladas de umidade relativa (UR) e temperatura;

- Elaboração de goma de mascar sem açúcar à base de erva-mate verde, estacionada e tostada, avaliada sensorialmente por meio do uso de métodos multivariados, PCA e HCA.

CAPÍTULO 1

REVISÃO DE LITERATURA

1 ERVA-MATE

A erva-mate, *Ilex paraguariensis* (Aquifoliaceae), é popular por séculos na América do Sul, nas regiões que compreendem o Paraguai, o Uruguai, o Norte da Argentina e o Sul do Brasil, na preparação de bebidas seja pelo seu poder estimulante ou por suas propriedades terapêuticas. A industrialização é restrita às suas folhas e pequenos ramos (com um diâmetro inferior a 10 mm), que compõem as principais bebidas preparadas com infusões diferentes. A bebida nominada chimarrão ou mate (infusão a quente) é muito consumida no Brasil, na Argentina e no Uruguai e o tererê (infusão gelada) no Paraguai (ISOLABELA *et al.*, 2010). No sudeste do Brasil, a erva é consumida na forma de chá-mate, em que as folhas passam por um processo de torrefação, atribuindo à bebida um sabor mais adocicado, muito popular nas cidades de São Paulo e Rio de Janeiro, onde nasceu o hábito de consumir chá-mate gelado puro ou misturado com suco de limão nas praias cariocas (BRACESCO *et al.*, 2011) (Figura 1.1).

Segundo FAOSTAT (2013), o Brasil foi o maior produtor (515.451 toneladas) de erva-mate, seguido da Argentina (245.184 toneladas) e do Paraguai (85.834 toneladas), totalizando 846.470 toneladas produzidas nos três países. Em relação à exportação a Argentina é o primeiro exportador de erva-mate, enquanto o Uruguai é o maior consumidor, correspondendo a 6-8 kg de consumo por pessoa ao ano. O consumo na Argentina e no Brasil é de 5 e 1,2 kg/pessoa ao ano, respectivamente (GÖRGEN *et al.*, 2005; BRACESCO *et al.*, 2011). No Brasil 70 % dos consumidores de mate estão localizados nos estados do Rio Grande do Sul, Paraná, Santa Catarina e Mato Grosso, que são consumidores diários da bebida chimarrão (BRACESCO *et al.*, 2011).

No Rio Grande do Sul, em novembro de 2014 ocorreu um pedido por parte da Ibrameta (Instituto Brasileiro da Erva Mate) junto à Seape (Sistema Estadual de Avaliação Participativa) de inclusão da erva-mate como item da cesta básica do estado (LOPES, 2014).



FIGURA 1.1 - (a) ÁREA DE OCORRÊNCIA NATURAL DA ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis*): (1) ARGENTINA; (2) BRASIL; (3) PARAGUAI E (4) URUGUAI. (b) FORMAS TRADICIONAIS DE CONSUMO DA ERVA-MATE NA AMERICA DO SUL: CHIMARRÃO, TERERÊ E CHÁ MATE. FONTE: Adaptado de CARVALHO (2003).

Na Argentina, Uruguai e sul do Brasil a erva-mate tem um papel social muito importante, o ato de oferecê-la e partilhá-la têm conotações semelhantes aos da cerimônia do chá para algumas culturas orientais. Seu consumo acontece durante todo o dia, podendo ocorrer que um litro da bebida chimarrão ou tererê seja bebido em um período médio de 1 hora (BRACESCO *et al.*, 2011).

Meinhart *et al.* (2010) simularam as extrações das bebidas de erva-mate e compararam o conteúdo de metilxantinas (cafeína e teobromina) e de compostos fenólicos totais no consumo de chimarrão e tererê em cuia. Com base neste estudo, relataram que o consumo de tererê proporciona 2,5 vezes a quantidade de cafeína que o chimarrão, extraindo também mais compostos fenólicos. Os autores atribuem este resultado à forma de preparação do tererê (50 g de erva-mate), onde toda porção de erva é imersa completamente 30 vezes na água fria (11 ± 2 °C) de extração e succionada a cada 2 minutos durante o consumo. No consumo de chimarrão (85 g de erva-mate), apesar da água de extração ser aquecida (75 ± 2 °C) e succionada (a cada 2 minutos por 30 vezes), o contato repetido da água de extração ocorre parcialmente com a erva-mate, pois uma porção desta fica seca no topo da cuia.

1.1 Principais componentes bioativos de *Ilex paraguariensis*

A erva-mate apresenta propriedades fisiológicas relacionadas ao seu conteúdo de compostos secundários dentre as quais destacam-se metilxantinas, flavonóides, taninos, ácidos clorogênicos e seus derivados, e saponinas (BASTOS, OLIVEIRA e MATSUMOTO, 2007; HECK e de MEIJA, 2007). Estes compostos mantêm-se na erva verde e na erva tostada (conforme consumida no Sul e Sudeste do Brasil, respectivamente), porém na erva tostada ocorre à formação de melanoidina, composto com propriedades bioativas (BASTOS, OLIVEIRA e MATSUMOTO, 2007). Segundo Bracesco *et al.* (2011) considerando os principais compostos orgânicos extraídos no preparo da bebida chimarrão a concentração de ácidos clorogênicos e de metilxantinas (cafeína e teobromina) representam 42 %, 8 % e 2 % do extrato, respectivamente. Atualmente várias pesquisas (Tabela 1.1) têm indicado o alto potencial funcional da erva-mate.

TABELA 1.1 - PRINCIPAIS COMPONENTES BIOATIVOS EM PREPARAÇÕES DA *Ilex paraguariensis* E SEUS BENEFÍCIOS.

COMPOSTO	BENEFÍCIO	REFERÊNCIA
Ácidos clorogênicos (5-CQA)	Diminui a oxidação de ácidos graxos insaturados no fígado	Martins <i>et al.</i> (2009)
Rutina	Atividade antifúngica	Filip, Davicino e Anesini (2010)
Saponinas	Anti-inflamatórias	Puangpraphant, Berhow e de Meija (2011)
Cafeína	Antioxidante, diurética	Heck e de Meija (2007)
Teobromina	Estimulante, diurética, possui efeito anti-obesidade	Heck e de Meija (2007) Arcari <i>et al.</i> (2009); Pang, Choi e Park (2008)
Quercetina	Anti-inflamatória	Puangpraphant e de Meija (2009)

Entre alguns dos fatores que podem levar à modificação metabólica da planta erva-mate, podem-se citar o local de cultivo, a época de colheita e a idade da planta (BORRILE, REISSMANN e FREITAS, 2005), que resultam em diferenças na composição química da erva-mate principalmente nos seus compostos secundários. Também alteram a composição química da erva-mate os sistemas de processamento como a industrialização, que envolve uma série de operações típicas (Tabela 1.2) (ESMELINDRO *et al.*, 2002).

Estes fatores interferem diretamente nos componentes físico-químicos da erva-mate, além de determinarem a qualidade e as características sensoriais do produto final (DA CROCE, HIGA e FLOSS, 1994).

TABELA 1.2 - RESUMO DAS ETAPAS E CONDIÇÕES DO PROCESSAMENTO DA ERVA-MATE.

ETAPAS	DESCRIÇÃO DO PROCESSAMENTO
1-Colheita	A poda das folhas <i>in natura</i> e pequenos ramos é realizada uma vez ao ano dentro de práticas tradicionais nos ervais, com uso de facão ou tesoura elétrica. Em seguida, os ramos com as folhas são transportados para a área de processamento.
2-Sapeco/inativação enzimática	O sapeco, branqueamento, ou inativação enzimática é feito o mais rapidamente possível, no máximo em 24 horas, após a colheita. A erva-mate entra em contato diretamente com a chama produzida pela queima de lenha (500 a 600 °C) em um cilindro giratório por 2 a 3 min. Esta prática retira a umidade superficial do produto, inativando enzimas que causam sua oxidação, evitando que as folhas tornem-se escuras e de sabor desagradável.
3-Pré-secagem	A pré-secagem consiste em desidratar as folhas por meio do uso de uma temperatura entre 200 a 280 °C por um período de 3 min até que essas adquiram textura quebradiça e crespa. A matéria prima deixa o secador com perda de 80 % de umidade. O excesso de água pode provocar a deterioração microbiana e a degradação de seus compostos.
4-Secagem	Durante a secagem, a erva é disposta sobre esteiras de forma uniforme de modo a fazer com que o calor se distribua de maneira proporcional em toda a sua superfície, até que se atinja o teor de umidade desejado. Esta etapa pode variar de 4 a 6 horas, utilizando uma temperatura entre 100 a 110 °C na esteira.
5-Cancheamento/ fragmentação	O cancheamento compreende a fragmentação da folha e dos palitos/pecíolos ou ramos mais grossos das folhas.
6-Armazenamento Natural	O armazenamento natural é o período de tempo necessário para que o produto adquira sabor aroma e cor adequados ao consumidor.
7-Armazenamento Forçado	Durante o armazenamento forçado, o produto seco é armazenado em condições controladas de temperatura e umidade relativa durante 30 a 60 dias a fim de adquirir sabor, aroma e cor desejados em menor tempo.

FONTE: Adaptado de VIEIRA (2009).

1.2 Produtos a base de erva-mate

As características nutritivas e funcionais conferem à erva-mate potencial de aproveitamento como ingrediente na indústria alimentícia, cosmética e farmacêutica para o desenvolvimento de novos produtos, conforme apresentado na Figura 1.2. O interesse expressivo pelas folhas de erva-mate na elaboração de produtos está associado às substâncias contidas na planta, tais como alcalóides, compostos fenólicos, vitaminas e minerais, que exercem ações benéficas à saúde humana. A linha de produtos ditos práticos, saudáveis, energéticos, com baixo teor calórico e ecologicamente conduzidos, representa um ramo de mercado em crescimento que está perfazendo um novo perfil do consumidor moderno, contudo, a introdução e permanência de novos produtos no mercado estão atrelados aos elementos de marketing, qualidade, custo e grau de inovação, visto que os consumidores apresentam tendência conservadora e só estão dispostos a mudar de hábito se tiverem boa razão para tanto (NANTES, 2001). Dado o exposto, existe potencial para mais novos produtos oriundos de erva-mate, visando a valorização da cultura e a ampliação do seu mercado de consumo.

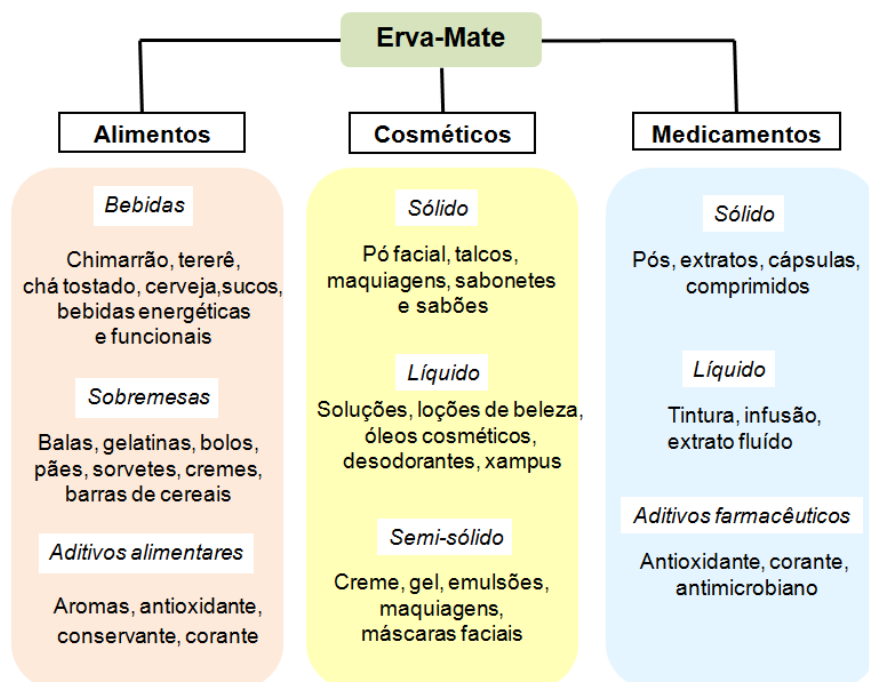


FIGURA 1.2 - APLICAÇÕES INDUSTRIAIS E USOS ALTERNATIVOS PARA A ERVA-MATE.

FONTE: Adaptado de BERTÉ (2011).

2 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO - UMA VISÃO GERAL

A espectroscopia no infravermelho próximo (NIR) tem uma capacidade muito diversificada de análise quando aplicada a diferentes constituintes orgânicos. Atualmente é utilizada nos mais variados setores das cadeias produtivas, sendo empregada diretamente na linha de produção, no controle de qualidade de matérias primas e produtos, podendo ser aplicada às amostras dos mais variados tipos, tais como produtos da indústria de fármacos (LANGERON *et al.*, 2007; BLANCO e ALCALA, 2006), de polímeros (QU, YANG e CHENG, 2006), de produtos petroquímicos (PRA e CHAMPAGNE, 2005) e agrícolas em geral (HOLLER, SKOOG e CROUCH, 2009). Na Tabela 1.3 é apresentada a atual aplicação do NIR na indústria de alimentos.

TABELA 1.3 - PROPOSTAS DE APLICAÇÃO ANALÍTICA DO NIR NO SETOR ALIMENTÍCIO.

ALIMENTOS	ANÁLISE	REFERÊNCIAS
Frutas	Teor de sólidos solúveis totais e acidez titulável; conteúdo de carotenóides	Oliveira <i>et al.</i> (2014); Louw e Theron (2010); Davey <i>et al.</i> (2009)
Sementes	Ácido linoléico e linolênico	Ribeiro <i>et al.</i> (2013)
Erva-mate	Metilxantinas	Mazur <i>et al.</i> (2014)
Café	Capacidade antioxidante, fenólico total, flavonóides; metilxantinas	Páscoa, Magalhães e Lopes, (2013); Huck, Guggenbichler e Bonn (2005)
Chá	Cafeína e polifenóis totais	Chen <i>et al.</i> (2006); Chen <i>et al.</i> (2008); Sinija e Mishra (2009)
Carne	Atributos da qualidade; composição química	Andrés <i>et al.</i> (2008); Maja <i>et al.</i> (2010)

As razões para a popularidade e ampla gama de aplicação do NIR são muitas. Na Tabela 1.4 são citadas algumas facilidades e necessidades para aplicação desta técnica conforme relatadas na literatura.

TABELA 1.4 – FACILIDADES E NECESSIDADES PARA APLICAÇÃO DO NIR.

FACILIDADES	NECESSIDADES
- Pode ser usado em laboratório, bem como em indústrias	-Exige métodos quimiométricos para modelar os dados e quantificar as propriedades de interesse
- Não utiliza produtos químicos	- A calibração requer grande quantidade de amostras
- Consiste em uma técnica não invasiva e com baixo custo de análise	-Torna-se difícil analisar uma amostra que apresente variabilidade (física ou química) não prevista na etapa de calibração
- Determina simultaneamente vários constituintes da amostra	
- Minimiza ou anula a necessidade de preparação da amostra	
- A abordagem online é possível	
- O controle do processo pela tomada de decisão em tempo real é possível	

FONTE: Adaptado de BLANCO e VILLARROYA (2002).

2.1 Espectro Eletromagnético

No espectro eletromagnético a região do infravermelho é muito extensa, localizando-se em três regiões que recebem os nomes conforme sua proximidade do visível, como ilustra a Figura 1.3, infravermelho próximo (NIR), vai de 12.800 a 4.000 cm^{-1} , médio (MIR), correspondente à faixa entre 4.000 e 200 cm^{-1} , e distante (FIR), que compreende de 200 a 10 cm^{-1} .

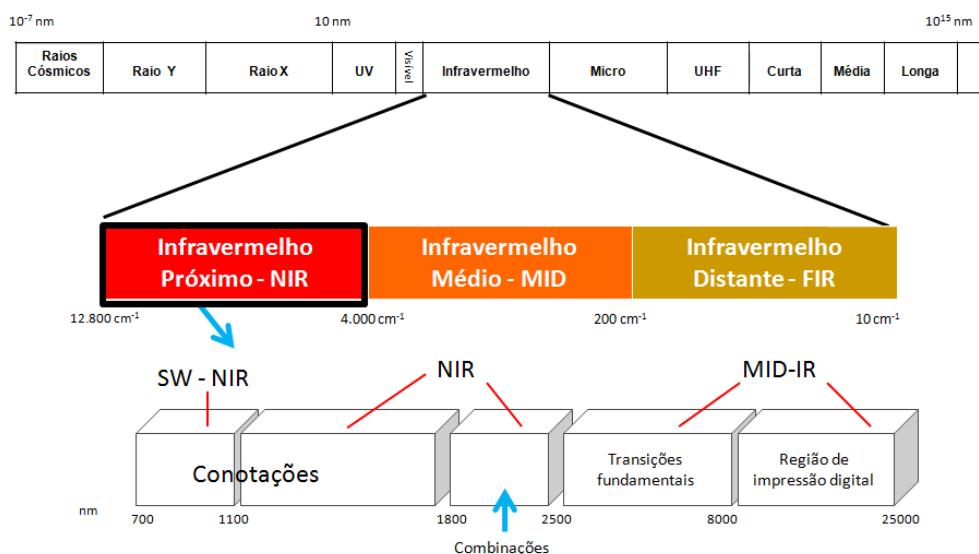


FIGURA 1.3 - ESPECTRO ELETROMAGNÉTICO.
FONTE: MONTEIRO (2011).

O NIR, de menor comprimento de onda no infravermelho, é a região onde são estudados os harmônicos das vibrações moleculares (PASQUINI, 2003). Nesta região as principais aplicações encontram-se na análise quantitativa em amostras sólidas, líquidas e gasosas de materiais industriais e agrícolas e no controle de processos (BURNS e CIURCZAK, 2001).

No MID e FIR estudam-se, respectivamente, os espectros de rotação das moléculas e os espectros de vibração molecular. A maioria das aplicações do MID consiste na identificação de compostos orgânicos, pois nessa região ocorrem essencialmente transições fundamentais e existe uma faixa espectral conhecida como região de impressão digital (4000 a 200 cm^{-1}) (COASTES, 1999). Já a região distante, FIR, é utilizada principalmente para estudos de compostos inorgânicos, onde as absorções devido às vibrações de estiramento e deformação angular de átomos metálicos e ligantes, tanto inorgânicos como orgânicos, podem ser observados em 200 a 10 cm^{-1} (SKOOG, HOLLER e NEIMAN, 2002).

A absorção no infravermelho não é energética o suficiente para causar transições eletrônicas como em outras regiões espectrais (ultravioleta, visível, raios X) e a absorção dessa radiação é muito restrita às espécies que possuem pequenas diferenças de energia entre os vários estados rotacionais e vibracionais. Para que haja absorção da radiação na região do infravermelho, é necessário que a molécula apresente variações no momento de dipolo como consequência do movimento vibracional ou rotacional. Apenas nessas situações o campo elétrico alternado da radiação é capaz de interagir com a molécula e causar variações na amplitude de um de seus movimentos (SKOOG, HOLLER e NEIMAN, 2002).

As características citadas não constituem desvantagens da técnica NIR, pois além de permitir o seu uso em medidas de amostras que apresentam um alto teor de umidade, garante alta penetração da radiação em medidas de reflectância difusa de amostras sólidas. Além disso, quase todos os compostos orgânicos absorvem na região NIR (PASQUINI, 2003; SKOOG e LEARY, 1992; WORKMAN, 1996). No caso da reflectância difusa, a radiação penetra na camada superficial das partículas e excita os modos vibracionais das moléculas do composto de interesse, assim a energia refletida emerge aleatoriamente e se espalha em todas as direções (Figura 1.4). A energia refletida difusamente

pela amostra carrega informação suficiente para gerar o espectro da amostra na região do infravermelho (MENDHAM *et al.*, 2002).

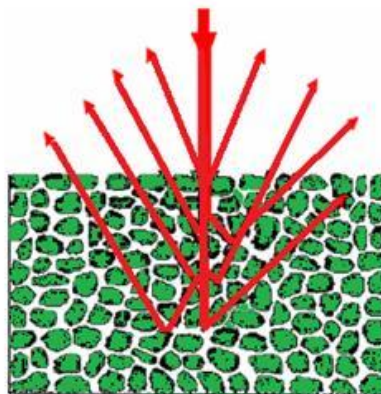


FIGURA 1.4 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DE REFLECTÂNCIA DIFUSA NO INFRAVERMELHO EM AMOSTRA SÓLIDA.
FONTE: NATALINO (2006).

Conforme o exposto pode-se afirmar que a espectrometria NIR apresenta-se como uma ferramenta poderosa para determinações analíticas, mostrando-se capaz de realizar medidas com rapidez e precisão. Entretanto, as bandas espectrais de baixa intensidade e muito sobrepostas, geradas por matrizes complexas, dificultam a obtenção de uma boa correlação entre grupos de átomos presentes em uma molécula e a sua composição nas amostras (PASQUINI, 2003). Por isso, as metodologias analíticas desenvolvidas usando a espectrometria NIR geralmente requerem a utilização de métodos quimiométricos de análise para auxiliar na elucidação dos perfis espectrais.

2. 3 MÉTODOS DE ANÁLISE MULTIVARIADA

2.3.1 Quimiometria

A quimiometria é a disciplina química que usa métodos matemáticos e estatísticos para projetar ou selecionar procedimentos e experiências ótimas a fim de proporcionar o máximo de informações químicas por meio da análise de dados químicos (OTTO, 1999).

As linhas de pesquisa dentro da quimiometria envolvem áreas como reconhecimento de padrões, planejamento e otimização de experimentos,

processamento de sinais analíticos, métodos de inteligência artificial e calibração multivariada, sendo esta última de grande importância, consistindo na principal linha de pesquisa dentro da quimiometria (SENA, COLLINS e COLLINS, 2001). Esta descrição contempla uma breve introdução sobre o método de calibração multivariada mais utilizado atualmente, o método dos mínimos quadrados parciais (PLS) (THOMAS, 1994). Para uma melhor explicação do PLS, será inicialmente introduzida a análise de componentes principais (PCA), pois o PCA é a base para o PLS. Entretanto, antes de se realizar a análise dos dados, estes são frequentemente avaliados para se certificar que o pré-tratamento é necessário. Existem vários tipos de pré-tratamentos, alguns dos quais estão descritos na seção 2.3.4.

2.3.2 Análise de Componentes Principais (PCA)

A análise de componentes principais (PCA) é um método matemático usado para maximizar as informações que podem ser extraídas de um conjunto de dados e, assim, reduzir o número de variáveis da matriz original dos dados envolvidos na modelagem (MORGANO, QUEIROZ e FERREIRA, 1999; ROGGO *et al.*, 2007). O método PCA também é usado para examinar similaridades ou diferenças entre as amostras e como consequência eliminar grande parte dos ruídos experimentais (ROGGO *et al.*, 2007). Para efetuar tal redução sem perda de informações, a matriz original passa a ser representada por novas variáveis, ortogonais entre si e direcionadas em função da distribuição espacial dos dados. Essas novas variáveis são chamadas de Componentes Principais (PC) (*Principal Components*) (REIS, 1997), sendo necessárias poucas PC's para que toda a variância dos dados seja explicada (FERREIRA, 1999; BEEBE, PELL e SEASHOLTZ, 1998).

Da mesma forma que as amostras têm coordenadas definidas pelas variáveis originais, elas também possuem coordenadas relativas aos novos eixos PC's, que são denominadas *scores*. A contribuição que cada variável original exerce sobre uma determinada PC é denominada *loading*, que, matematicamente, pode ser definida como sendo o cosseno do ângulo entre o eixo da variável e o eixo da PC (Figura 1.5). Se um determinado número de

PC's não for capaz de descrever toda a variância dos dados, então essa parte não descrita será representada em uma nova matriz chamada de matriz de resíduos (FERREIRA, 1999; BEEBE, PELL e SEASHOLTZ, 1998).

Outro ponto importante quanto à determinação do número de PC's é a detecção de amostras anômalas (*outliers*), apresentando características não explicadas pelas ferramentas, as quais podem afetar os resultados obtidos, razão pela qual podem ser descartadas do conjunto de dados (FERREIRA, 1999; BEEBE, PELL e SEASHOLTZ, 1998).

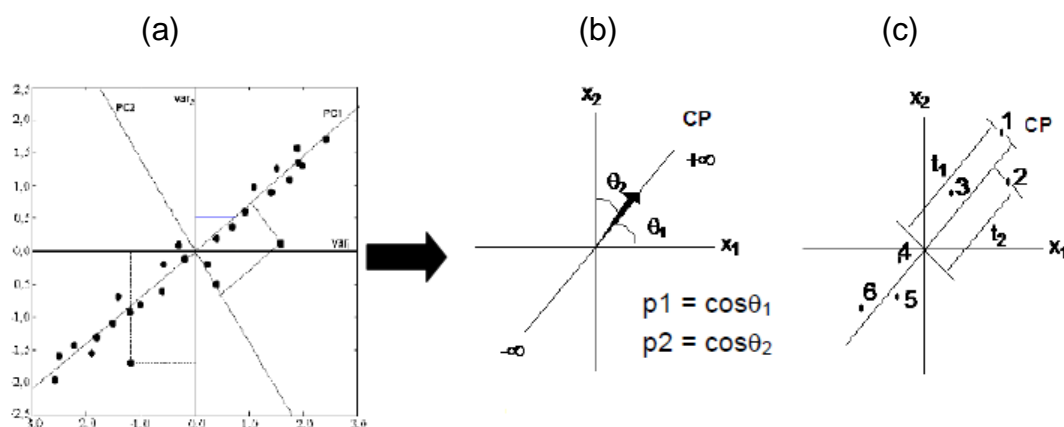


FIGURA 1.5 - (a) REPRESENTAÇÃO DOS EIXOS DAS COMPONENTES PRINCIPAIS; (b) PROJEÇÃO DOS LOADINGS (p_1 e p_2); (c) PROJEÇÃO DOS SCORES (t_1 e t_2).

2.3.3 Mínimos Quadrados Parciais (PLS)

O método Mínimos Quadrados Parciais (PLS) é um método de regressão utilizado para a construção de modelos de calibração multivariada (LEE; CHUNG e ARNOLD, 2006), podendo ser aplicado na modelagem de sistemas que possuem comportamento linear ou não-linear (CHEN *et al.*, 2007).

O método PLS pode ser dividido em três etapas: (1) calibração, na qual são utilizados os espectros de absorção das amostras do conjunto de calibração para a construção de um modelo matemático que melhor se ajuste aos dados espectrais e aos valores de referência do parâmetro desejado; (2) validação, na qual se verifica a robustez do modelo construído, o que é feito avaliando o erro de previsão de amostras do conjunto de calibração (validação

interna), também conhecida como validação cruzada (*cross validation*); (3) previsão, na qual se avalia o poder preditivo do modelo construído utilizando amostras do conjunto que não participaram da etapa de calibração (FIDÊNCIO, 2001). Portanto, o método decompõe as matrizes **X** (dados espectrais) e **Y** (dados de referência) em uma soma de produtos de dois vetores (escores, **T** e **U** e *loadings* **P** e **Q**), cada um deles representando uma componente principal. Existem vários algoritmos matemáticos para calcular esta decomposição, sendo que o mais utilizado é conhecido por NIPALS (GELADI e KOWALSKI, 1986). O modelo resultante para as decomposições são apresentados nas Equações 1 e 2,

$$X = TP' + E(1)$$

$$Y = UQ' + F(2)$$

onde os elementos das matrizes **T** e **U** são os escores de **X** e **Y**, respectivamente, e os elementos **P** e **Q** são os pesos ou *loadings*. As matrizes **E** e **F** correspondem aos erros, ou seja, quanto o modelo construído não consegue explicar os dados originais.

Durante a etapa de validação, dois fatores devem ser considerados: o número de variáveis latentes a ser utilizado no modelo e a detecção de amostras anômalas. As variáveis latentes são obtidas por meio das combinações lineares dos dados espectroscópicos (matriz **X**) e dos dados de referência (matriz **Y**). Para a construção do modelo é usado um número de variáveis latentes que proporcione o menor erro possível de previsão, ou seja, que cause as menores diferenças possíveis entre os valores de referência e os valores previstos. Deve-se sempre selecionar um número de variável latente suficiente que permita modelar o sistema de forma a não ser super ajustado e também a não modelar ruídos. Um modelo com maior número de variáveis latentes é mais ajustado, porém pode estar modelando informações irrelevantes (ruídos). Já um número muito baixo de VLs pode negligenciar informações importantes. A escolha das variáveis latentes normalmente é conduzida usando um procedimento chamado validação cruzada (*cross validation*), no qual o erro mínimo de previsão é determinado (MARTENS e NAES, 1996).

Durante o processo de avaliação da habilidade do modelo em prever novas amostras, deve-se verificar se todas as amostras que foram modeladas são representativas para o modelo. Assim, faz-se necessário verificar a presença de *outliers*. Normalmente, os *outliers* apresentam comportamentos diferentes das demais amostras do conjunto de dados. Erros no preparo de amostras, ruídos instrumentais e contaminações são possíveis razões da presença de amostras *outliers* nos modelos de calibração e validação. Essas amostras, quando modeladas com o conjunto estudado, podem conduzir a modelos com baixa capacidade de previsão, ou seja, que produzam altos erros. Durante o processo de calibração, amostras *outliers* podem ser detectadas através do gráfico de resíduos e excluídas do modelo. Para a detecção de *outliers*, usam-se duas grandezas complementares: *leverage* e resíduos de *Student*. A *leverage* é uma medida da influência de uma amostra no modelo de regressão, a qual pode ser interpretada geometricamente como a distância de uma amostra ao centróide do conjunto de dados (FERREIRA *et al.*, 1999). O resíduo de *Student*, o qual indica se a amostra está dentro de uma distribuição normal com um nível de confiança de 95 %, assume os valores limite de $\pm 2,5$ (FERREIRA *et al.*, 1999).

Os modelos de calibração são avaliados através dos erros RMSEC (Raiz Quadrada da Soma dos Erros de Calibração) e RMSECV (Raiz Quadrada da Soma dos Erros da Validação Cruzada). Além destes parâmetros de erros, que auxiliam na escolha dos modelos de calibração, a análise dos valores dos coeficientes de regressão (R^2) entre os valores previstos pelo modelo e os valores experimentais permite avaliar a capacidade de previsão dos modelos multivariados. A equação para a obtenção de RMSEC, RMSECV e RMSEP pode ser visualizada na equação 3.

$$RMSEC, RMSECV \text{ ou } RMSEP = \sqrt{(\sum_{i=1}^n (y' - y)^2 / n)} \cdot 1/2 \quad (3)$$

onde n representa o número de amostras do conjunto de calibração e/ou do conjunto de validação, y_i é o valor de referência e y'_i é o valor previsto pelo

modelo para a i -ésima amostra. As unidades dos erros são referentes às unidades da análise em questão.

Para validar o modelo é utilizada uma série de amostras de referência com composição que não esteja contida na etapa da calibração (validação externa). Para obter uma boa estimativa da habilidade de previsão, a série de amostras de validação deve ser representativa, ou seja, suas concentrações devem estar dentro do intervalo da concentração de calibração e das concentrações de amostras futuras (MARTENS e NAES, 1996). A robustez do modelo é avaliada por meio do erro RMSEP (Raiz Quadrada da Soma dos Erros de Predição).

2.3.4 Pré-tratamentos dos dados espectrais

O pré-tratamento é uma etapa importante no tratamento dos dados, porém os espectros NIR normalmente sofrem de problemas de alteração espectrais não desejadas e mudança de linha de base proveniente de espalhamento de radiação, ruídos do detector, variação de temperatura, etc. Estes fatores podem ocasionar dificuldade na análise dos dados, interferindo na extração de informações relevantes, bem como na sua interpretação (OZAKI, MCLURE e CHRISTY, 2007). Deste modo, as alterações espectrais que não guardam relação com a composição da amostra precisam ser removidas por meio de técnicas de pré-tratamento.

As técnicas de pré-tratamento podem ser divididas em grupos: método de redução de ruído, método de correção de linha de base e espalhamento, métodos de centralização e normalização.

2.3.4.1 Métodos de redução de ruído

A aplicação da técnica de alisamento (filtro digital ou *Smoothing*) é realizada com objetivo de reduzir os efeitos causados pelos ruídos, os quais podem ser oriundos do detector e dos circuitos eletrônicos. Outro método bastante comum é o do Savitzky-Golay, ou suavização por polinômio móvel, de

baixa ordem, que é ajustado por mínimos quadrados aos pontos da janela, sendo o valor de cada ponto calculado através desses polinômios. Contudo, é muito importante escolher corretamente o tamanho das janelas dos métodos de suavização, pois janelas muito pequenas não irão remover adequadamente o ruído e janelas grandes podem remover picos do espectro, originando perda de informação útil da amostra (OTTO, 1999).

2.3.4.2 Métodos de correção de linha de base e espalhamento

Quando os espectros possuem desvios de linha base, um método para correção é o das derivadas. A primeira e a segunda derivadas são frequentemente usadas para uma melhor definição dos picos que se encontram sobrepostos em uma mesma região e para a correção da linha de base. O uso da técnica da derivada prejudica a relação sinal-ruído, portanto é realizada uma suavização do espectro antes ou simultaneamente ao cálculo da derivada para minimizar esse efeito (CANDOLFI *et al.*, 1999; LUYPAERT *et al.*, 2004).

Outra técnica desenvolvida para correção de efeitos causados pela não homogeneidade da amostra, atribuída, por exemplo, a fenômenos físicos e tamanho de partículas que causa espalhamento da luz, é a utilização do método de correção *Multiple Scattering Correction* (MSC), que corrige cada espectro em relação ao espectro de uma amostra referência de forma que todas possuam o mesmo nível de espalhamento da amostra referência (ROGGO *et al.*, 2007).

O método *Standard Normal Variate* (SNV), por sua vez, corrige individualmente cada espectro, sendo os valores centrados e posteriormente escalonados pelo desvio padrão calculado a partir dos valores espectrais individuais e usados para corrigir os efeitos do espalhamento da radiação (COSTA FILHO, 2003; NAES *et al.*, 2002). O resultado é similar ao do MSC.

2.3.4.3 Métodos de centralização e normalização

O pré-tratamento de centralização na média é o mais empregado na construção de modelos de calibração multivariada. Para cada comprimento de onda, o valor da absorbância de cada espectro é subtraído da média dos valores de absorbância de todos os espectros naquele mesmo comprimento de onda (THOMAS, 1994).

Em suma, não existe uma regra específica para a aplicação de pré-tratamentos em amostras e/ou variáveis, pois estes dependem da natureza dos dados e, portanto, devem ser avaliados preliminarmente, cabendo ao analista a decisão de tal aplicação.

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Consumida a muito tempo na forma de chimarrão e tererê, observa-se que o mercado para bebidas à base de erva-mate tem crescido a cada ano, seja pelo fato de ser obtida por processamento sem emprego de tratamentos químicos, seja pelos benefícios a saúde comprovados por muitas pesquisas, apresentando substâncias responsáveis por reduzir o risco de doenças, além de melhorar funções fisiológicas e metabólicas. Desta forma, considerando que a composição química da erva se relaciona com seus atributos funcionais, ocorre atualmente maior aceitação do público por lançamento de novos produtos práticos utilizando a erva-mate como matéria prima.

A aplicação da espectroscopia na região do infravermelho próximo e o desenvolvimento de modelos de calibração multivariados têm mostrado bons resultados quando aplicada no levantamento de parâmetros para indústria de alimentos. No entanto, segundo levantamento recente na literatura, poucas pesquisas foram relatadas utilizando a técnica NIR para avaliar parâmetros físicos e químicos da erva-mate.

Considerando o exposto na revisão existe atualmente uma possibilidade de avaliação de parâmetros físicos e químicos de interesse funcional na erva-mate e seus produtos, aplicando a técnica de espectroscopia no infravermelho próximo (NIR).

REFERÊNCIAS

ANDRÉS, S.; SILVA, A.; SOARES-PEREIRA, A.L.; MARTINS, C.; BRUNO-SOARES, A.M.; MURRAY, I. The use of visible and near infrared reflectance spectroscopy to predict beef *M. longissimus thoracis et lumborum* quality attributes. **Meat Science**, v.78, p.217–224, 2008.

ARÇARI, D.P.; BARTCHEWSKY, W.; dos SANTOS, T.W.; OLIVEIRA, K.A.; FUNCK, A.; PEDRAZZOLI, J.; de SOUZA, M.F.; SAAD, M.J.; BASTOS, D.H.; GAMBERO, A.; CARVALHO, P.de O.; RIBEIRO, M.L. Antiobesity effects of yerba mate extract (*Ilex paraguariensis*) in high-fat diet-induced obese mice. **Obesity**, v. 17, p.2127-233, 2009.

BASTOS, D.H.M.; DE OLIVEIRA, D.M.; MATSUMOTO, R.L.T. Yerba maté: pharmacological properties, research and biotechnology. **Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology**. v.1, n.1, p.37-46, 2007.

BEEBE, K.R.; PELL, R.J; SEASHOLTZ , M.B.; **Chemometrics: A Practical Guide**. John Wiley & Sons, New York, 1998.

BERTÉ, K.A.S.**Tecnologia da Erva-Mate Solúvel**. 160 f. Tese (Doutorado)-Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.

BLANCO, M.; ALCALA, M. Simultaneous quantitation of five active principles in a pharmaceutical preparation: Development and validation of a near infrared spectroscopic method. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.27, p.280-6, 2006.

BLANCO, M.; VILLARROYA, I. NIR spectroscopy: a rapid-response analytical tool. **Trends in analytical chemistry**, v. 21(4), p. 240-250, 2002.

BORRILE, W.M.A.; REISSMANN, B.C.; FREITAS, S.J.R. Relação entre compostos fitoquímicos e o nitrogênio em morfotipos de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). **Boletim do Centro de Pesquisas de Processamento de Alimentos**, v. 23, p. 183-198, 2005.

BRACESCO, N.; SANCHEZ, A.G.; CONTRERAS, V.: MENINI, T.; GUGLIUCCI, A. Recent advances on *Ilex paraguariensis* research: Minireview. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 136, p. 378– 384, 2011.

BURNS, D. A.; CIURCZAK, E. W. **Handbook of Near-Infrared Analysis**. New York:Marcel Dekker, 2001.834 p.

CANDOLFI, A.; MAESSCHALCK, R. de; JOUAN-RIMBAUD, D.; HAILEY, P.A.; MASSART, D. L. The influence of data pre-processing in the pattern recognition of excipients near-infrared spectra. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.21, p.115-132, 1999.

CARVALHO, P.E.R. **Espécies Arbóreas Brasileiras**. Embrapa Informações Tecnológicas; Colombo, PR: Embrapa Floresta, 2003. 1039 p.

CHEN, Q.; ZHAO, J.; HUANG, X.; ZHANG, H.; LIU, M. Simultaneous determination of total polyphenols and caffeine contents of green tea by near-infrared reflectance spectroscopy. **Microchemical Journal**, v. 83, p. 42–47, 2006.

CHEN, D.; CAI, W.; SHAO, X. Removing uncertain variables based on ensemble partial least squares. **Analytica Chimica Acta**, v.598, p. 19-26, 2007.

CHEN, Q.; ZHAO, J.; LIU, M.; CAI, J.; LIU, J. Determination of total polyphenols content in green tea using FT-NIR spectroscopy and different PLS algorithms. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 46, p. 568–573, 2008.

COASTES, J.A. Review of current new technology: Used in instrumentation for industrial vibration spectroscopy. **Spectroscopy**, v.14, n.10, p.20-34, 1999.

COSTA FILHO, P.A. **Estudo comparativo entre técnicas de inteligência artificial e modelos lineares em determinações quantitativas no infravermelho próximo**. Tese doutorado, Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP. Campinas, São Paulo, 2003.

DAVEY, M.W.; SAEYS, W.; HOF, E.; RAMON, H.; SWENNEN, R.L.; KEULEMANS, J. Application of visible and near-infrared reflectance spectroscopy (Vis/NIRS) to determine carotenoid contents in banana (*Musa spp.*) fruit pulp. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 1742-1751, 2009.

DA CROCE, D.M.; HIGA, A.R.; FLOSS, P.A. **Escolha de fontes de sementes de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) para Santa Catarina**. Boletim Técnico EPAGRI Florianópolis, n. 69, p. 23, 1994.

ESMELINDRO, M.C.; TONIAZZO, G.; WACZUK, A.; DARIVA, C.; OLIVEIRA, D.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.

FERREIRA, M.M.C.; ANTUNES, A.M.; MELGO, M.S.; VOLPE, P.L.O. Quimiometria I: calibração multivariada, um tutorial, **Química Nova**, v.22, n.5, p. 724-731, 1999.

FIDÊNCIO, P.H. **Análise de solos por espectroscopia no infravermelho próximo e aplicação de métodos quimiométricos**. 138 f. Tese (Doutorado)- Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP. Campinas, São Paulo, 2001.

FILIP, R.; DAVICINO, R.; ANESINI, C. Antifungal activity of the aqueous extract of *Ilex paraguariensis* against *Malassezia furfur*. **Phytotherapy Research**, v. 24, n.5, p. 715-719, 2010.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAOSTAT) – Estatistics Division. Disponível em:<<http://www.faostat3.fao.org>>Acesso em 25/05/2015.

GELADI, P.; KOWALSKI, B.R. Partial least-squares regression – A tutorial. **Analytical Chimica Acta**, v. 185, p. 1-17, 1986.

GÖRGEN M.; TURATTI K.; MEDEIROS A.R.; BUFFON A.; BONA C.D.; SARKIS J.J.F.; PEREIRA G.S. Aqueous extract of *Ilex paraguariensis* decreases nucleotide hydrolysis in rat blood serum. **Journal of Ethnopharmacology**, v.97, n.1, p.73-77, 2005.

HECK, C.I.; MEJIA, E.G. Yerba mate tea (*Ilex paraguariensis*): A comprehensive review on chemistry, health implications, and technological considerations. **Journal of Food Science**, v. 72, n.9, p. 138-151, 2007.

HOLLER, F.J.; SKOOG, D.A.; CROUCH, S.R. **Princípios de análise instrumental**. 6. ed, Porto Alegre: Bookman, 2009. 1056 p.

HUCK, C.W.; GUGGENBICHLER, W.; BONN, G.K. Analysis of caffeine, theobromine and theophylline in coffee by near infrared spectroscopy (NIRS) compared to high-performance liquid chromatography (HPLC) coupled to mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v.538, p. 195-203, 2005.

ISOLABELLA, S.; COGOI, L.; LÓPEZ, P.; ANESINI, C.; FERRARO, G.; FILIP, R. Study of the bioactive compounds variation during yerba mate (*Ilex paraguariensis*) processing. **Food Chemistry**, v.122, p.695-699, 2010.

LANGERON, Y.; DOUSSOT, M.; HEWSON, D.J.; DUCHÊNE, J. Classifying NIR spectra of textile products with kernel methods. **Engineering Applications of Artificial Intelligence**, v. 20, p. 415-427, 2007.

LEE, Y.; CHUNG, H.; ARNOLD, M.A. Improving the robustness of a partial least squares (PLS) model based on pure component selectivity analysis and range optimization: Case study for the analysis of an etching solution containing hydrogen peroxide. **Analytica Chimica Acta**, v. 572, n.1, p. 93–101, 2006.

LOPES, R. Câmara da erva-mate debate medidas para fortalecer o setor, 2014. Disponível em:<http://www.portal.rs.gov.br/conteudo/207588/camara-da-erva-mate-debate-medidas-para-fortalecer-o-setor/termosbusca=*> Acesso em 23/09/2015.

LOUW, E.D; THERON, K. I. Robust prediction models for quality parameters in Japanese plums (*Prunus salicina* L.) using NIR spectroscopy. **Postharvest Biology and Technology**, v. 58, p. 176–184, 2010.

LUYPAERT, J.; HEUERDING, S.; HEYDEN, Y.V.; MASSART, D.L. The effect of preprocessing methods in reducing interfering variability from near-infrared measurements of creams. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.36, p. 495–503, 2004.

MAJA, P.; MARTIN, S.; DEJAN, S.; MAJETA, C.P. Application of near infrared spectroscopy to predict chemical composition of meat and meat products. **Tehnologija Mesa**, v. 51, n.2,p. 133–142, 2010.

MARTENS, H.; NAES, T. **Multivariate calibration**. New York: Wiley, 1996.

MARTINS, F.; SUZAN, A.J.; CERUTTI, S.M.; ARÇARI, D.P.; RIBEIRO, M.L.; BASTOS, D.H.; CARVALHO, P.de O. Consumption of mate tea (*Ilex paraguariensis*) decreases the oxidation of unsaturated fatty acids in mouse liver. **British Journal of Nutrition**, v.101, n.4, p. 527-32, 2009.

MAZUR, L.; PERALTA-ZAMORA, P.G.; DEMCZUK Jr, B.; RIBANI, R.H. Application of multivariate calibration and NIR spectroscopy for the quantification of methylxanthines in yerba mate (*Ilex paraguariensis*). **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 35, p. 55–60, 2014.

MEINHART, A.D.; BIZZOTTO, C.S.; BALLUS, C.A.; POLONI RYBKA, A.C.; SOBRINHO, M.R.; CERRO–QUINTANA, R.S.; TEIXEIRA-FILHO, J.; GODOY, H.T. Methylxanthines and phenolics content extracted during the consumption of mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil) beverages. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, p. 2188–2193, 2010.

MENDHAM, J.; DENNEY, R.C.; BARNES, J.D.; THOMAS, M.J.K. VOGEL. **Análise Química Quantitativa**. 6. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2002.

MONTEIRO, A.R.D. **Aplicación de la espectroscopia NIR al control analítico de procesos de la industria química**. 183 f. Dissertação (Mestrado) – Engenharia Química, COPPE, Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2011.

MORGANO, M.A.; QUEIROZ, S.C.N.; FERREIRA, M.M.C. Aplicação da análise exploratória na diferenciação de vegetais. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 2, p. 73-79, 1999.

NAES, T.; ISAKSSON, T.; FEARN, T.; DAVIES, T. **A User-Friendly Guide to Multivariate Calibration and Classification**. NIR Publications, 2002, 344p.

NANTES, J.F.D. Projeto de produtos agroindustriais. In: BATALHA, M.O. **Gestão Agroindustrial**. 2.ed. v. 1, São Paulo: Editora Atlas, Cap. X, p. 518-555, 2001.

NATALINO, R. **Caracterização de açúcar mascavo aplicando análise das componentes principais a dados espectrométricos**. 37 f. Tese (Doutorado) Universidade Federal de Viçosa, 2006.

OLIVEIRA, G.A.; BUREAU, S.; RENARD, C.M.G.C.; PEREIRA-NETTO, A.B.; CASTILHOS, F. Comparison of NIRS approach for prediction of internal quality traits in three fruit species. **Food Chemistry**, v.143, p. 223–230, 2014.

OTTO, M. **Chemometrics – Statistics and computer application in analytical chemistry**, Weinheim: Wiley, 1999.

OZAKI, Y.; MCLURE, W.F.; CHRISTY, A.A. **Near-Infrared Spectroscopy in Food Science and Technology**. Hardcover, 2006, 424 p.

PANG, J.; CHOI, Y.; PARK, T. *Ilex paraguariensis* extract ameliorates obesity induced by high-fat diet: potential role of AMPK in the visceral adipose tissue. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 476, n.2, p.178-85, 2008.

PÁSCOA, R. N.M.J.; MAGALHÃES, L.M.; LOPES, J.A. FT-NIR spectroscopy as a tool for valorization of spent coffee grounds: application to assessment of antioxidant properties. **Food Research International**, v. 51, p. 579–586, 2013.

PASQUINI, C. Near Infrared Spectroscopy: Fundamentals, practical aspects and analytical applications. **Journal Brazilian Chemical Society**, v.14, n.2, p.198-219, 2003.

PRA, L.D.; CHAMPAGNE, S.D. A comparative study of the electronic structure and spectroelectrochemical properties of electrosynthesized polyaniline films and nanotubes. **Thin Solid Films**, v. 479, p. 321- 328, 2005.

PUANGPRAPHANT, S.; de MEJIA, E.G. Saponins in yerba mate tea (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil) and quercetin synergistically inhibit iNOS and COX-2 in lipopolysaccharide-induced macrophages through NFκB pathways. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 8873-8883, 2009.

PUANGPRAPHANT, S.; BERHOW, M.A.; de MEJIA, E.G. Mate (*Ilex paraguariensis* St Hilaire) saponins induce caspase-3-dependent apoptosis in human colon cancer cells *in vitro*. **Food Chemistry**, v. 125, p.1171-1178, 2011.

QU, H.B.; YANG, H.L.; CHENG, Y.Y. Fast and nondestructive discrimination of donkey hide glue by near-infrared spectroscopy. **Spectroscopy and Spectral Analysis**, v. 26, n.1, p. 60-62, 2006.

REIS, E. **Estatística Multivariada Aplicada**. Lisboa, Silabo, 1997.

RIBEIRO, L.F.; PERALTA-ZAMORA, P. G.; MAIA, B. H. L. N. S.; RAMOS, L.P.; PEREIRA-NETTO, A. B. Prediction of linolenic and linoleic fatty acids content in flax seeds and flax seeds flours through the use of infrared reflectance spectroscopy and multivariate calibration. **Food Research International**, v. 51, p. 848–854, 2013.

ROGGO, Y.; CHALUS, P.; MAURER, L.; LEMA-MARTINEZ, C.; EDMOND, A.; JENT, N. A review of near infrared spectroscopy and chemometrics in pharmaceutical technologies. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.44, p.683-700, 2007.

SENA, M.M.; COLLINS, C.H.; COLLINS, K. E. Aplicação de métodos quimiométricos na especiação de Cr (VI) em solução aquosa. **Química Nova**, v. 24, n.3, p. 331-338, 2001.

SINIJA, V.R.; MISHRA, H.N. FT-NIR spectroscopy for caffeine estimation in instant green tea powder and granules. **LWT - Food Science and Technology**, v. 42, p. 998–1002, 2009.

SKOOG, D.A.; LEARY, J.J. **Principles of Instrumental Analysis**. Fourth Edition, Saunders College, 1992.

SKOOG, D.A.; HOLLER, F.J.; NEIMAN, T.A. **Princípios de Análise Instrumental**. 5ª. Ed. Porto Alegre: Bookman, 2002.

THOMAS, E.V. A primer on multivariate calibration. **Analytical Chemistry**, v.66, n.15, p. A795-A804, 1994.

VIEIRA, M.A. **Análise de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAS) nas etapas do processamento da erva-mate (*Ilex paraguariensis*) e caracterização química dos resíduos da trituração para o desenvolvimento de produto**. Tese doutorado, Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Florianópolis, 2009.

WORKMAN Jr., J.J. Interpretative spectroscopy for near infrared. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 31, n.3, p. 251-320, 1996.

CAPÍTULO 2

DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS EM ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis*) COMBINANDO ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO (NIR) E ANÁLISE MULTIVARIADA

RESUMO

Um método rápido para determinar o conteúdo de compostos fenólicos (CFT) em erva-mate com base em espectroscopia no infravermelho próximo (NIR) foi estudado com o objetivo de proporcionar reduções de custo e tempo de análise para a indústria ervateira, sem gerar resíduo de laboratório. Um total de 111 amostras de erva-mate de diferentes regiões do Estado do Paraná, Brasil (Metropolitana de Curitiba, Sudeste e Centro-Sul) foram analisadas pelo método convencional de Folin-Ciocalteu e NIR. Os teores médios de CFT obtidos pelo método convencional foram 84,82, 133,31 e 37,00 mg.g⁻¹, respectivamente para cada região. Utilizando o espectro NIR e a análise de componentes principais (PCA), foi possível identificar/estabelecer a origem das amostras dos três grupos em relação às diferentes regiões de cultivo. Os modelos para quantificação de CFT por NIR foram desenvolvidos utilizando mínimos quadrados parciais (PLS), avaliando-se estratégias de pré-tratamento dos dados espectrais. O melhor resultado foi obtido por correção do espalhamento de luz - *Multiplicative Scatter Correction* (MSC) e primeira derivada com seis variáveis latentes. O melhor modelo apresentou um coeficiente de correlação de 0,81 e um erro de predição de 12 %. Os resultados mostraram que o NIR pode ser aplicado como um método eficiente para a avaliação do CFT, auxiliando na decisão rápida do emprego da erva-mate em diferentes produtos finais.

Palavras-chave: erva-mate; compostos fenólicos; espectroscopia no infravermelho próximo; análise de componentes principais; regressão dos mínimos quadrados parciais.

ABSTRACT

A quick method to determine the content of phenolic compounds (TPC) in yerba mate based on near infrared spectroscopy (NIR) was studied aiming to provide reductions of cost and analysis time for the mate industry without generating laboratory effluents. A total of 111 samples of yerba mate from different regions of the State of Paraná, Brazil (Southeast, South Central and Metropolitan Area of Curitiba) were analyzed by the conventional Folin-Ciocalteu method and NIR. The average contents of TPC (Folin-Ciocalteu method) were 84.82; 133.31 and 37.00 mg.g⁻¹, respectively for each region. Using the NIR spectra and PCA, it was possible to identify the origin of the samples from the three groups regarding the different growing regions. Models for quantifying TPC by NIR were developed using partial least squares (PLS), evaluating strategies for pre-treating the spectral data. The best result was obtained by Multiplicative Scatter Correction (MSC) and first derivative with six latent variables. The best model presented a correlation coefficient of 0.81 with a prediction error of 12 %. The results showed that NIR can be applied as an efficient method for the assessment of TPC, aiding the fast decision of the use of yerba mate in different final products.

Keywords: yerba mate; phenolic compounds; near infrared spectroscopy; principal component analysis; partial least squares regression.

1 INTRODUÇÃO

A erva-mate (*Ilex paraguariensis*) é amplamente consumida na América do Sul como chá quente e gelado, representando uma importante atividade econômica em vários países da região. As folhas de erva-mate contêm altas concentrações de compostos fenólicos, principalmente taninos, flavonóides e ácidos fenólicos (BRAVO, GOYA e LECUMBERRI, 2007 e VIEIRA *et al.*, 2008), os quais proporcionam uma importante quantidade de antioxidantes à erva (FILIP *et al.*, 2000) causando uma diminuição na oxidação da lipoproteína de

baixa densidade (LDL) humana, tanto *in vitro* como *in vivo* (GUGLIUCCI e STAHL, 1995; GUGLIUCCI, 1996). Foi determinado por Martins *et al.* (2009) que ratos alimentados com extrato de erva-mate apresentavam menor quantidade de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico no fígado, sugerindo que o tratamento com o extrato de erva-mate protege os ácidos graxos insaturados da oxidação e pode especialmente proteger o fígado. De acordo com Andersen e Fogh (2001), o extrato de erva-mate atrasou o esvaziamento gástrico em pacientes com sobrepeso, diminuindo o tempo para percepção de saciedade, induzindo à significativa perda de peso após 45 dias. Arcari *et al.* (2009) demonstraram que o tratamento com o extrato de erva-mate exerce potentes efeitos anti-obesidade no tecido adiposo *in vivo* por controlar a expressão de vários genes relacionados com o processo de obesidade, tais como os marcadores inflamatórios. A inflamação é um fator importante em muitas doenças humanas, tais como câncer, cardiopatias, obesidade e diabetes. Desta forma, o alto teor destes compostos fenólicos bioativos incentiva o uso da erva-mate em produtos alimentícios.

Atualmente, a determinação de compostos fenólicos é realizada por vários métodos, tais como cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) (BERTÉ *et al.*, 2011; CARDOSO *et al.*, 2007), cromatografia gasosa (GC) ou combinações das mesmas com análises de espectrometria em massa (MS) (JACQUES *et al.*, 2007). Estas técnicas são eficientes e proporcionam uma rápida separação e quantificação de compostos fenólicos. No entanto, eles exigem equipamentos sofisticados e caros, mão de obra qualificada e uma variedade de reagentes. Outra técnica relevante inclui os ensaios espectrofotométricos, uma técnica relativamente simples para quantificar compostos fenólicos (polifenóis) de plantas. O ensaio por Folin-Ciocalteu (FC) baseia-se numa redução química envolvendo uma mistura de reagentes que contêm molibdato de sódio e tungstato de sódio (SINGLETON e ROSSI, 1965). Os reagentes de FC não reagem especificamente apenas com compostos fenólicos, mas também com outras substâncias, a exemplo do ácido ascórbico, aminas aromáticas, açúcares e xantinas (PRIOR, WU e SCHAICH, 2005). Esta técnica já foi utilizada por Mejia *et al.* (2010) para avaliar o teor de polifenóis totais em chá mate e Turner *et al.* (2011) avaliaram o conteúdo de polifenóis em *Ilex paraguariensis* (mate) durante as etapas de processamento industrial.

Os principais compostos fenólicos em erva-mate foram identificados como: ácidos clorogênicos (5-O-cafeoilquínico, 3,4-dicafeoilquínico e seus isômeros) e o flavonoide rutina (Filip *et al.*, 2001; Mejia *et al.*, 2010).

Como uma alternativa para substituir a análise química clássica, a espectroscopia no infravermelho próximo (NIR) é uma técnica simples, rápida e sem o uso de reagentes, que permite medir a interação da luz com o material, que é determinada pela vibração das ligações químicas dos constituintes das amostras (Pasquini, 2003). Esta técnica foi aplicada para determinar os principais ácidos fenólicos no extrato de *Radix Salvia Miltorrhiza* (LI e QU, 2010), avaliar a qualidade do chá verde (LUYPAERT, ZHANG e MASSART, 2003), obter o teor de cafeína, teobromina e teofilina em café (HUCK, GUGGENBICHLER e BONN, 2005), avaliar a atividade antioxidante no extrato de folhas de bambu (WU *et al.*, 2012) e o teor de flavonoides totais em folhas de *Ginkgo biloba* (JI-YONG *et al.*, 2012). A técnica NIR também foi utilizada por Cozzolino *et al.* (2010) para classificar as amostras de erva-mate de acordo com a sua origem geográfica - Brasil, Argentina e Uruguai. No entanto, segundo levantamento recente em literatura, nenhuma pesquisa foi relatada utilizando a técnica de espectroscopia NIR na determinação de compostos fenólicos totais em erva-mate, sendo uma análise que pode ser inserida na linha de produção permitindo uma decisão rápida da utilização industrial da erva, com base na resposta analítica obtida.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial do NIR combinado com quimiometria a fim de quantificar os compostos fenólicos em amostras de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) cultivadas e processadas em diferentes regiões do Paraná, Brasil, tais como região Metropolitana de Curitiba, Sudeste e Centro-Sul do estado.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material vegetal

Neste estudo, 111 amostras de erva-mate foram coletadas de indústrias localizadas em diferentes regiões do Paraná: Região Metropolitana de Curitiba (região A: n = 6, as amostras 1, 2, 3, 35, 36 e 37), Sudeste (região B: n = 30, amostras 4 a 34) e Centro-Sul (região C: n = 75, as amostras 38 a 111). As amostras de região A são plantas nativas com maior produtividade de massa foliar devido ao programa de melhoramento realizado pela Embrapa Florestas. As plantas da região B foram cultivadas sob luz solar direta por pequenos produtores na região Sudeste do estado. As amostras da área C são plantas consorciadas com Eucaliptos (*Eucalyptus grandis* Hill (ex Maiden)) e cultivadas sob diferentes níveis de luz solar. Antes das análises, as amostras da região Centro-Sul e da região Metropolitana de Curitiba foram secas em forno de micro-ondas doméstico operando a 2450 MHz (modelo PMW-101, Philco) de acordo com a metodologia descrita por Hansel *et al.* (2008). As folhas da região Sudeste, fornecidas por uma empresa localizada no Sudeste do Paraná, foram industrialmente secas em uma correia contínua durante 4-6 horas a uma temperatura entre 100 e 110 °C. Como as amostras das regiões A e C fazem parte de um programa experimental, elas não foram industrialmente secas, ao contrário da erva-mate da região B. As amostras de todas as três regiões foram trituradas em um moinho de bancada (IKA, modelo A11 basic), acondicionadas em sacos de polipropileno e armazenadas em freezer até o momento da análise. Vale lembrar que as folhas de erva-mate das três regiões distintas diferem em relação às práticas de processamento e agrônômicas relacionadas com cada região.

A fim de obter uma comparação entre dois espectrômetros, e, portanto, avaliar a robustez da técnica acoplada a métodos quimiométricos, todas as 111 amostras foram analisadas pelos dispositivos TENSOR (Bruker Optics, Ettlingen, Alemanha) identificadas com os números 01T-111T- e VERTEX (Bruker Optics, Bruker Corporation, Billerica, Massachusetts, EUA) identificadas com o número 112V-222V. Assim, a mesma amostra é

representada por ambos os números 01T e 112 V. A Figura 2.1 ilustra um esquema simplificado da localização geográfica das amostras e das análises empregadas.

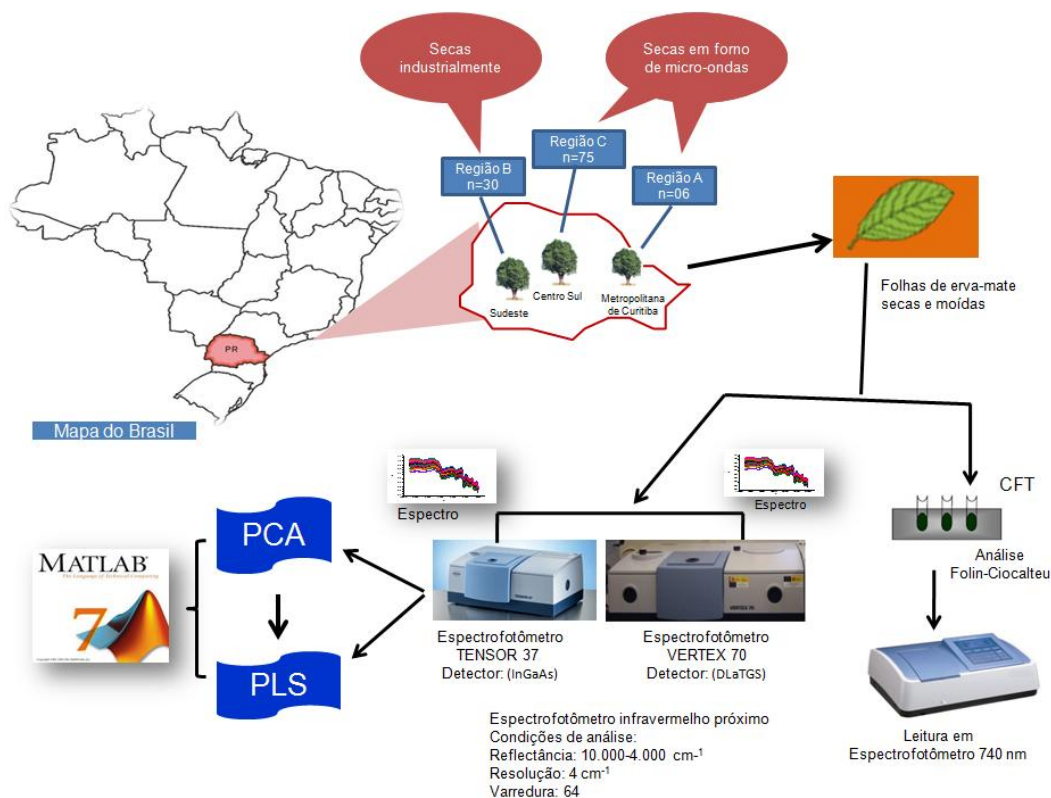


FIGURA 2.1 – ILUSTRAÇÃO DA LOCALIZAÇÃO GEOGRÁFICA DAS AMOSTRAS E ANÁLISES EMPREGADAS NO ESTUDO.

2.2 Determinação de compostos fenólicos totais

A extração de compostos fenólicos totais (CFT) foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Dutra *et al.* (2010). Consistiu em adicionar 100 mL de solução água:etanol 1:1 (v/v) em 2 g de erva-mate mantida por 12 horas sob temperatura ambiente. Seguem-se três extrações com 25 mL da solução hidro-etanólica a 50 % sob refluxo por 30 min cada, reunindo os extratos em volume final de 250 mL, que em seguida foi filtrado. O conteúdo de CFT foi determinado espectrofotometricamente pelo método de Folin-Ciocalteu de acordo com a metodologia descrita por Singleton *et al.* (1999). Brevemente, 500 μ L dos extratos foram misturados a 2,5 mL de reagente Folin-Ciocalteu

(1:10) e 2,0 mL de solução de carbonato de sódio (Na_2CO_3) (4 % m/v). Após 120 min de reação na ausência de luz e sob temperatura ambiente, a absorbância foi medida em 740 nm. O ácido 5-cafeoilquínico (5-CQA) adquirido da marca Sigma foi usado como padrão, e os resultados foram expressos em mg de 5-CQA equivalente/g de amostra.

2.3 Análise por espectroscopia no infravermelho próximo

2.3.1 Aquisição dos espectros

As amostras foram analisadas em dois espectrômetros da marca BRUKER, com diferentes detectores: (a) TENSOR 37 (Bruker Optics, Ettlingen, Germany) equipado com transformada de Fourier, esfera de integração e detector de índio e gálio (InGaAs), o qual possui alta eficiência de detecção ($D^*=4.41010$), e (b) VERTEX 70 (Bruker Optics - Bruker Corporation, Billerica, Massachusetts, USA), equipado com transformada de Fourier e detector L-alanina deuterado sulfato de triglicina (DLATGS) ($D^*=2,7 \times 10^8$). Ambos os dispositivos foram controlados pelo software OPUS (versão 6.0 e 6.5, respectivamente). Os espectros das amostras de erva-mate foram coletados por ambos os equipamentos na região do infravermelho próximo, de 10.000 cm^{-1} a 4.000 cm^{-1} , operando em reflectância difusa através de 64 varreduras com resolução de 4 cm^{-1} e temperatura controlada próximo de $20 \text{ }^\circ\text{C}$. Os dados de reflectância foram armazenados como $\log(1/R)$, (R = reflectância).

2.3.2 Processamento multivariado

O software Origin Pro 8.0 (Northampton, MA 01060, EUA) foi utilizado para construir as matrizes de dados espectrais. Os espectros foram processados em Matlab versão 7.1 (Mathworks Inc.), utilizando o pacote PLS-toolbox 1.5 (Eigenvector Research Inc.) para análise quimiométrica. A análise

de componente principal (PCA) foi utilizada para reduzir a dimensionalidade do conjunto de dados para algumas variáveis, chamadas de componentes principais (PCs), que descrevem a maior variância dos dados analisados. A técnica fornece um resumo das semelhanças e diferenças entre amostras em relação à concentração de compostos de interesse (LU *et al.*, 2010).

O pré-tratamento *Multiplicative Scatter Correction* (MSC) foi aplicado antes da discriminação das amostras a fim de corrigir os efeitos de dispersão da luz causada pela não-homogeneidade das amostras. A regressão de mínimos quadrados parciais (PLS) foi utilizada para construir os modelos de predição dos CFT. Todas as 111 amostras foram divididas em dois subconjuntos. O grupo de calibração foi constituído de 85 amostras (80 %) e a validação externa compreende de 26 amostras (20 %). Modelos PLS foram desenvolvidos para correlacionar a variável X (dados espectrais) com as variáveis Y (dados de referência) e para prever a concentração do composto de interesse dentro do grupo de validação de teste ($n = 26$), ou seja, o conjunto de previsão. A validação cruzada foi empregada com a rotina *leave-one-out* para o conjunto de validação. Este método envolve uma única observação a partir da amostra original considerada como dados de validação, sendo as observações restantes consideradas como dados de treinamento. O processo foi repetido até que todas as amostras tivessem sido usadas uma vez no conjunto de validação (XIE, YING e YING, 2007). Este procedimento (*leave-one-out/validação cruzada*) é indicado por não perder dados (todas as amostras são envolvidas no desenvolvimento do modelo) e por ser mais adequado para uma pequena quantidade de amostras (OLIVEIRA *et al.*, 2014). O conjunto de previsão (conjunto independente) foi definido para validar os resultados do presente estudo (20 % dos dados). As amostras *outliers* com alto valor de resíduos *Student* e *leverage* atribuíram efeitos prejudiciais sobre o modelo, portanto devem ser removidas dos dados (PEDRO e FERREIRA, 2005). Os valores extremos foram detectados utilizando os critérios de *leverage* e resíduos *Student*, de acordo com a equação $3VL/n$ (em que n é o número de amostras e VL é o número de variáveis latentes), que define a influência de uma dada amostra em um modelo. O limite do resíduo *Student* ($\pm 2,5$) indica baixa concentração da amostra (FILHO, 2009). O *leverage* representa a medida de influência de uma amostra no modelo de regressão e pode ser

interpretado como a distância de uma amostra ao centróide do conjunto de dados (FERREIRA *et al.*, 1999). O desempenho dos modelos PLS foi avaliado utilizando RMSEC (Raiz Quadrada da Soma do Erro de Calibração), RMSECV (Raiz Quadrada da Soma do Erro de Validação Cruzada), RMSEP (Raiz Quadrada da Soma do Erro de Predição) e os seus respectivos coeficientes de regressão (R).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Caracterização espectral

As principais características espectrais das amostras utilizadas no estudo são visualizadas a partir dos espectros médios apresentados na Figura 2.2. Em primeiro lugar, é importante ressaltar a grande semelhança observada no perfil espectral das amostras coletadas nas diferentes regiões consideradas no estudo, as quais, entretanto, apresentam diferenças na intensidade de algumas bandas características. Dentre os sinais característicos, é possível salientar três bandas centradas em 8.331, 6.853 e 5.164 cm^{-1} , correspondentes ao primeiro e segundo overtone do grupo O-H da molécula de água. A banda centrada em 5.798 cm^{-1} corresponde ao primeiro overtone do grupo C-H, usualmente associado à presença de lipídeos, óleos e grupos aromáticos (MILLER, 2001). Especial atenção deve ser dada ao sinal centrado em 4.670 cm^{-1} , comumente associado a grupos C-H de espécies aromáticas (MILLER, 2001), particularmente de natureza fenólica (LI e QU, 2010). A significativa diferença de intensidade observada especificamente nesta região espectral sugere diferenças também significativas no teor de fenólico total entre as diferentes regiões monitoradas.

Em geral, a aquisição de espectros no modo de reflectância difusa é fortemente influenciada por fenômenos de dispersão de luz, o que, por sua vez, depende do tamanho das partículas e, especialmente, da homogeneidade das amostras, fatores que podem ser decorrentes de várias condições associadas à região em estudo, tais como o sistema de cultivo, práticas agronômicas

(intensidade de luz, idade da folha e umidade relativa), uso de diferentes tipos de fertilizantes e processamento das amostras. Mesmo após o processo de moagem, as amostras apresentaram partículas heterogêneas, as quais podem ter influenciado nas diferentes intensidades dos espectros observados na Figura 2.2.

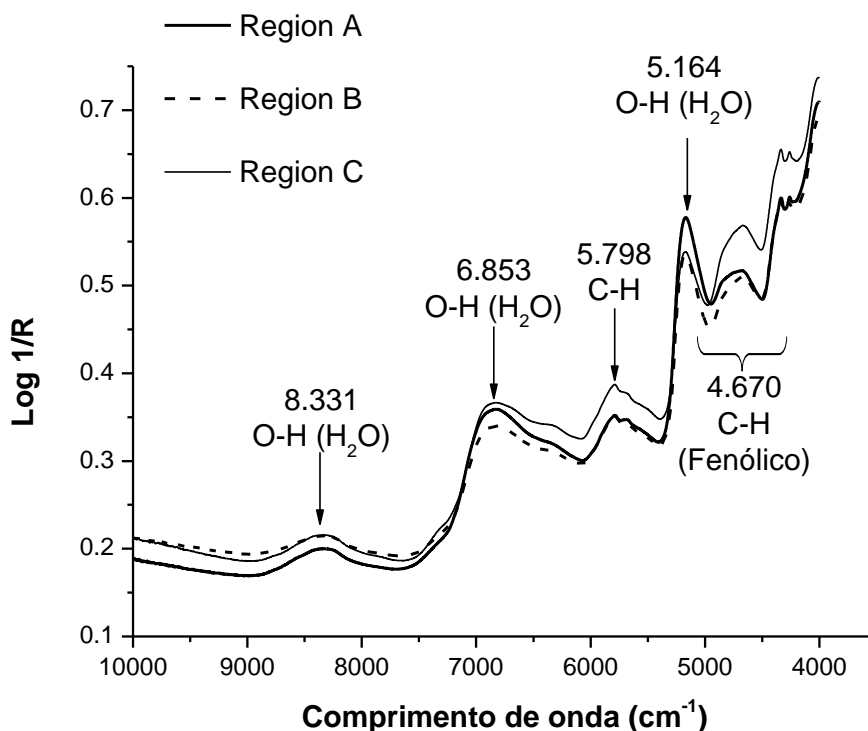
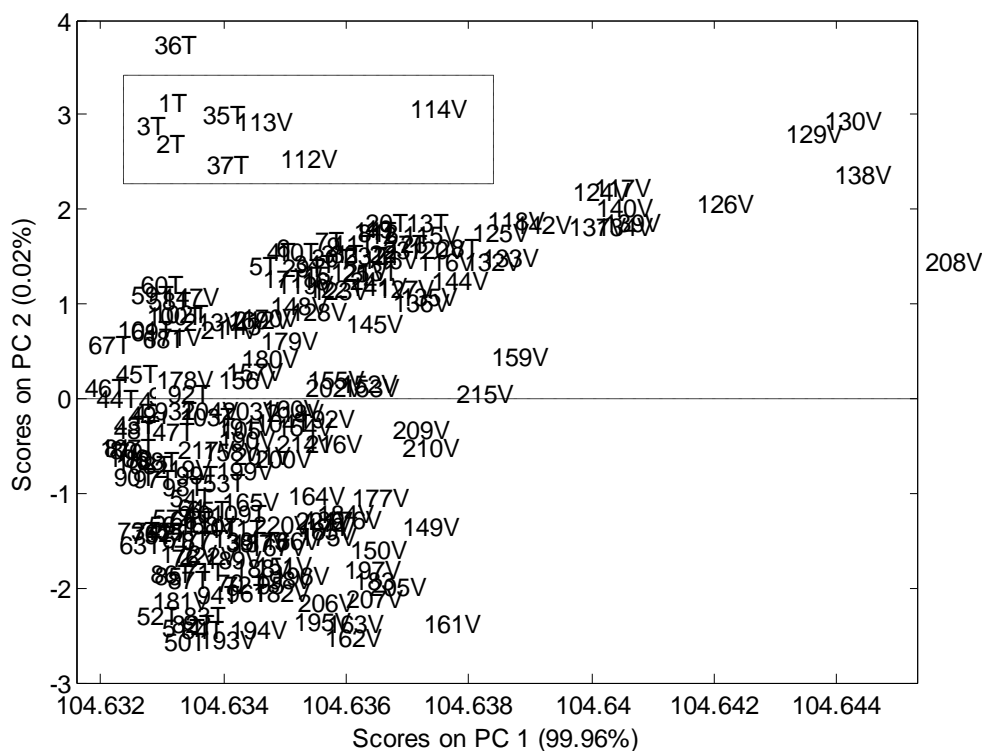


FIGURA 2.2 - ESPECTRO DE REFLECTÂNCIA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO DE AMOSTRAS DE ERVA-MATE PROVENIENTES DE DIFERENTES REGIÕES DO PARANÁ (BRASIL).

Além disso, as determinações foram realizadas em dois diferentes espectrômetros NIR com o objetivo de avaliar a robustez do método de caracterização relativo às diferentes condições instrumentais. As amostras identificadas por 1T-111T foram analisadas com o equipamento TENSOR 37, e as identificadas por 112V-222 V (as mesmas amostras) foram avaliadas com o equipamento VERTEX 70. A investigação foi realizada pela PCA usando todo o conjunto de espectros disponível. Em primeiro lugar, os resultados mostram que a maior parte da variação nos dados espectrais pode ser representada por apenas uma das componentes principais (PC1: 99,96 %), o que faz com que a introdução de CPs adicionais contribua apenas com a representação de detalhes espectrais (PC2: 0,02 %, PC3: 0,01 %).

A partir do gráfico de escores apresentado na Figura 2.3a é possível observar uma boa proximidade entre as amostras 1T, 2T e 3T (destaque) da região A, analisadas pelo TENSOR, e as mesmas amostras de 112V,113V e 114V (em destaque), analisadas pelo VERTEX. Esta observação indica pouca influência do sistema instrumental utilizado para a aquisição de espectros NIR, demonstrando que ambos os dispositivos podem ser aplicados neste estudo. Quando foram observados os detalhes inseridos pelas PC2 e PC3 (Figura 2.3b) observou-se que houve pouca variação. As amostras citadas apresentaram-se diferentes do restante do grupo (destaque), portanto uma boa repetibilidade foi alcançada pelos dois equipamentos. Com a similaridade dos resultados obtidos pelos dois equipamentos, comprovada pela PCA, optou-se em apresentar a partir desta seção os resultados do equipamento TENSOR, pela possibilidade de acesso ao equipamento na ocasião e maior praticidade na leitura da amostra pelo tipo de cela utilizada no TENSOR.

(a)



(b)

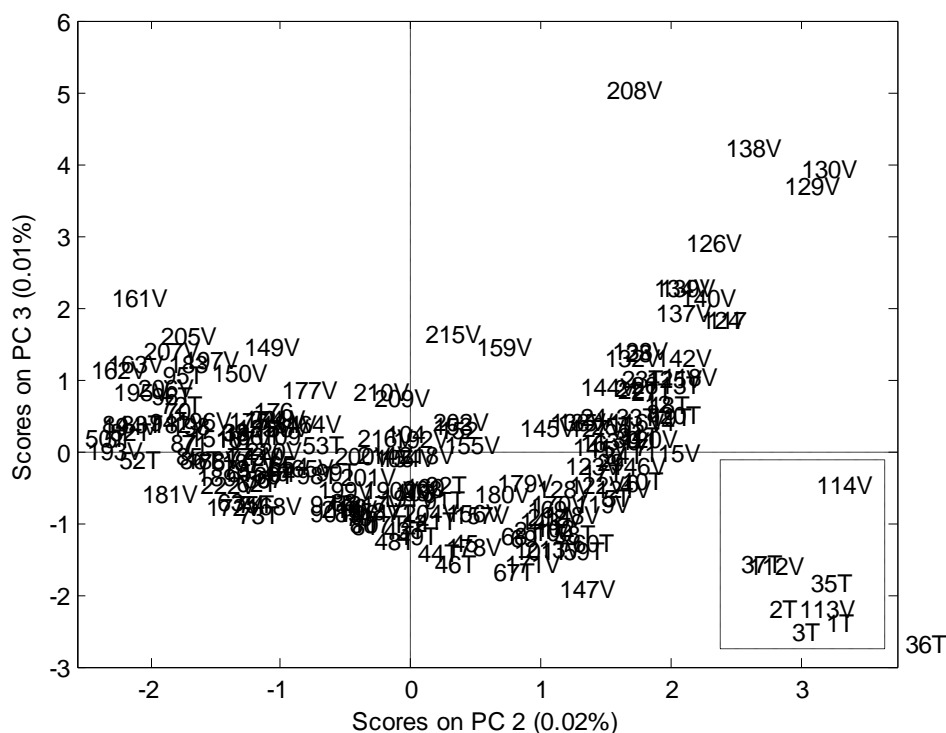
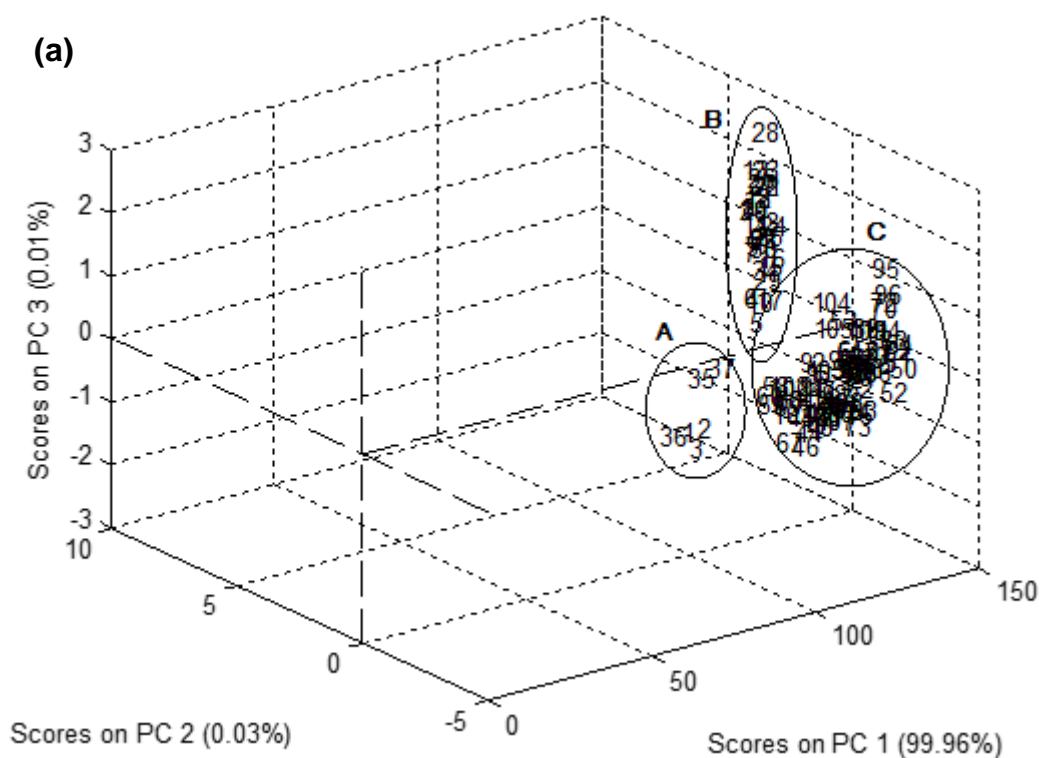


FIGURA 2.3 - GRÁFICOS DE ESCORES DA ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS REALIZADA COM AMOSTRAS DE ERVA-MATE DE DIFERENTES REGIÕES DO PARANÁ (BRASIL), UTILIZANDO DOIS MODELOS DE EQUIPAMENTO: (a) PC1 X PC2 E (b) PC2 X PC3.

3.2 Análise de componentes principais das amostras das diferentes regiões de cultivo

A fim de encontrar semelhanças ou diferenças associadas às diferentes regiões de crescimento (e as particularidades de cada uma, ou seja, práticas agrônômicas e sistema de processamento) e de detecção de amostras *outliers* (SHIN *et al.*, 2010), o PCA foi aplicado a todas as amostras utilizando os espectros NIR adquiridos com o equipamento TENSOR 37. Como apresentado na Figura 2.4a, a maior parte da variância nos dados espectrais pode ser representada por apenas uma componente principal (PC1: 99,96 %). A fim de eliminar as dispersões de luz causadas por superfícies irregulares das amostras e heterogeneidade no tamanho de partículas, foi aplicado o pré-tratamento para correção do espalhamento de luz (MSC). Após a correção, observou-se que as amostras localizavam-se do mesmo quadrante (PC1-positivo), assumiu-se, portanto, que as amostras apresentavam composição

semelhante. No entanto, como as amostras foram localizadas no quadrante positivo desta PC, presume-se que a amostra deve ser diferenciada com base nos detalhes espectrais representados pela segunda (PC2: 0,03 %) e terceira (PC3: 0,01 %) componentes principais. Assim, a separação dos três grupos analisados é mais evidente quando da introdução de três componentes principais, sendo PC3 particularmente importante uma vez que permite uma diferenciação clara do grupo B.



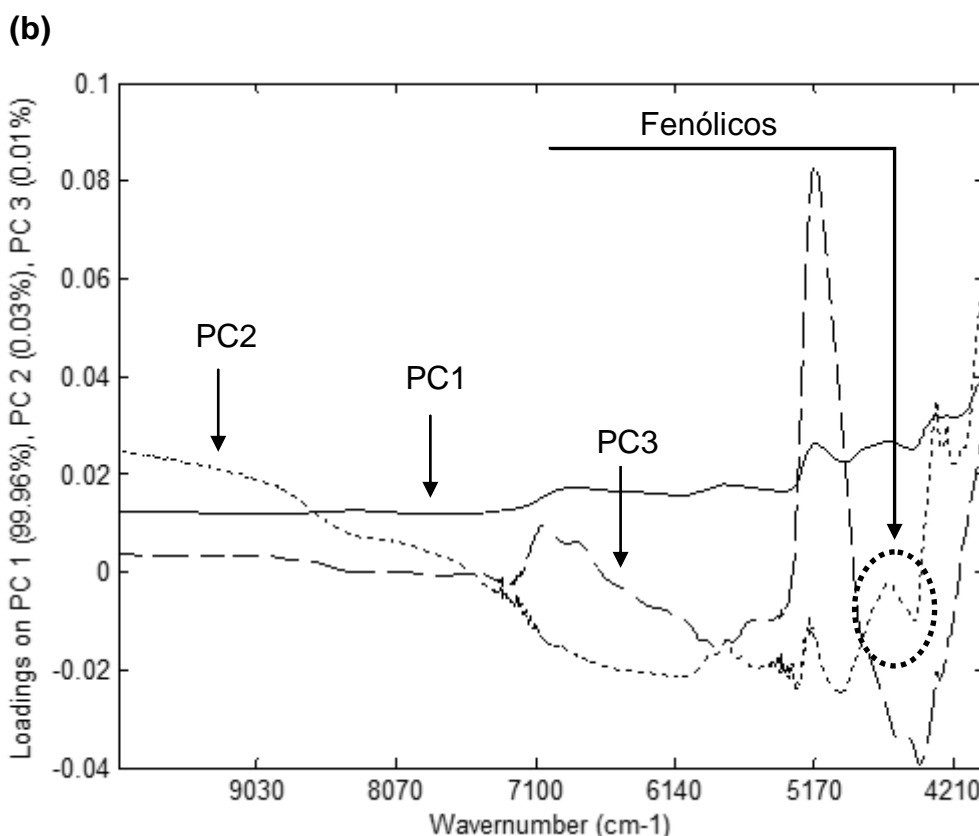


FIGURA 2.4 - a) ESCORES PCA (PC1 x PC2 x PC3) E b) LOADINGS DAS TRÊS COMPONENTES PRINCIPAIS DOS ESPECTROS DE ERVA-MATE DE DIFERENTES REGIÕES DO PARANÁ (BRASIL) PELO PRÉ-TRATAMENTO MSC.

De acordo com o gráfico de *loadings* apresentado na Figura 2.4b, a primeira componente principal enfatiza praticamente todos os sinais espectrais, apresentando um perfil próximo aos dos espectros originais. Por sua vez, a segunda componente principal enfatiza os sinais espectrais centrados em 5.164 cm^{-1} , o que corresponde ao segundo overtone do grupo O-H da molécula de água. Finalmente, observa-se que a terceira componente principal destaca o sinal espectral característico de grupos fenólicos (4.670 cm^{-1}), o que se mostra particularmente importante para a elaboração de modelos multivariados que objetivam a quantificação do teor de compostos fenólicos totais.

3.3 Determinação de compostos fenólicos totais (CFT)

Os resultados obtidos para o CFT em amostras de erva-mate de diferentes áreas de cultivo, determinadas pelo método de Folin-Ciocalteu, são

apresentados na Tabela 2.1. Estes resultados mostram diferenças significativas entre os valores médios para cada região, o que se justifica em razão da influência das práticas agronômicas, linhagem genética, clima, solo, altitude, técnicas de cultivo, tempo de colheita, idade da planta e pós-processamento (JOUBERT, MANLEY, e BOTHA, 2006). Dentro deste contexto, desta que deve ser dado ao elevado valor médio encontrado nas amostras da região Centro-Sul (região C), consistem de plantas consorciadas com eucaliptos e cultivadas sob diferentes níveis de luz solar. O resultado médio de $133,31 \text{ mg.g}^{-1}$ (Tabela 2.1) é consistente com a intensidade mais elevada observada no sinal espectral médio (destaque) destas amostras na região de compostos fenólicos, de acordo com a Figura 2.2.

Conforme publicado por Coelho e Mariath (1996), a erva-mate cultivada em condições de sombreamento tem melhorado o metabolismo de substâncias químicas que inibem a presença de insetos, aumentando o tempo de vida das folhas da planta. Assim, a planta também pode absorver grandes quantidades de nutrientes. Heck *et al.* (2008) examinaram os efeitos das condições de secagem sobre a composição fenólica de erva-mate: eles encontraram plantações jovens de erva-mate com altos níveis de ácidos fenólicos em relação às plantações de erva-mate já adulta, demonstrando que os métodos de cultivo e tratamentos culturais podem exercer um significativo efeito sobre a produção e concentração de fitoquímicos em erva-mate.

Adicionalmente, foi observada uma grande amplitude nos intervalos de concentração de CFT em cada região estudada, o que pode ser função da variabilidade natural entre espécies de uma mesma região ou problemas associados à falta de homogeneidade entre as amostras. Resultados semelhantes foram observados por Schulz *et al.* (1999) a respeito da determinação do teor de polifenóis totais em amostras de chá verde (*Camellia sinensis*), para os quais a variabilidade correspondente para um desvio padrão de 30 foi obtido. Por outro lado, é importante salientar que o método utilizado na determinação do CFT apresentou uma excelente precisão, mesmo envolvendo um processo de extração demorado e sujeito a irreprodutibilidades. Em geral, desvios padrão da ordem de 2 foram observados em análises realizadas em triplicata, o que resultou em desvio de cerca de 12 % para as amostras com níveis mais baixos de CFT.

TABELA 2.1 - CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS DE ERVA-MATE PELO MÉTODO DE FOLIN-CIOCALTEU.

REGIÕES	NÚMERO/ AMOSTRAS	INTERVALO (mg.g ⁻¹)	MÉDIA (mg.g ⁻¹)	DP
Metropolitana (A)	06	23,07 – 49,48	37,00	12,35 ^b
Sudeste (B)	30	30,36 – 141,92	84,82	34,07 ^a
Centro-Sul (C)	75	95,51 – 168,50	133,31	17,18 ^b

*DP = estimativa do desvio padrão em relação à amplitude dos intervalos de CFT para cada região estudada.

*Médias seguidas pelas mesmas letras na mesma coluna não são significativamente diferentes de acordo com o teste de Tukey ($p < 0,05$).

3.4 Quantificação de CFT através de modelos PLS

Modelos de calibração multivariada foram construídos a fim de prever o teor de CFT a partir dos espectros NIR por meio de regressão de mínimos quadrados parciais. Vários modelos foram desenvolvidos utilizando diferentes tipos de pré-tratamento e número diferente de variáveis latentes (VLs), apresentando os resultados resumidos na Tabela 2.2. A melhor capacidade de predição foi alcançada para o modelo desenvolvido com seis VLs, usando um pré-tratamento com base em MSC seguido de primeira derivada. O MSC é um pré-tratamento comumente usado para compensar as mudanças de linha de base e para reduzir os efeitos multiplicativos nos dados espectrais, os quais são induzidos por efeitos físicos, tais como a dispersão não uniforme em todo o espectro, comprimento de onda da radiação, tamanho das partículas e do índice de refração (NICOLAI *et al.*, 2007). A primeira derivada é frequentemente usada para melhorar as definições de bandas que se sobrepõem, para remover o ruído na mesma linha espectral e/ou para corrigir a região de linha de base (OSBORNE, 2000). Por outro lado, a regressão PLS é construída de tal maneira que as variáveis latentes são orientadas ao longo de direções de máxima covariância entre a matriz X e o vetor espectral de resposta Y (NAES *et al.*, 2002). Portanto, nesta fase, os dados espectrais correlacionam-se com os valores obtidos pela análise convencional (Folin-Ciocalteu). Como as amostras são heterogêneas, apresentando resultados médios de CFT de 37,00 a 133,3 mg.g⁻¹, conseqüentemente os espectros também são heterogêneos.

Assim, os pré-tratamentos, primeira derivada e MSC foram aplicados. Vários outros pré-tratamentos foram aplicados, mas os melhores resultados são mostrados na Tabela 2.2.

TABELA 2.2 – PARÂMETROS DOS MODELOS MULTIVARIADOS DESENVOLVIDOS EM FUNÇÃO DO TIPO DE PRÉ-TRATAMENTO E O NÚMERO DE VARIÁVEIS LATENTES (VLs).

PRÉ-TRATAMENTO	VLs	CALIBRAÇÃO (n=85)		VALIDAÇÃO CRUZADA (n=85)		VALIDAÇÃO EXTERNA (n=26)	
		R	RMSEC*	R	RMSECV*	R	RMSEP**
Sem tratamento	5	0,80	20,41	0,83	22,30	0,73	15,18
MSC	5	0,85	19,75	0,81	21,84	0,75	15,71
MSC + 1ª derivada	6	0,90	16,07	0,83	20,53	0,81	12,12
MSC + suavização	5	0,84	19,77	0,81	21,85	0,75	15,73

* Valores em mg.g^{-1}

** Valores em%

Na etapa de validação externa, o modelo permitiu uma boa concordância entre os valores reais e preditos, com um coeficiente de correlação de 0,81 (Figura 2.5) e um RMSEP da ordem de 12 %. Embora este valor médio seja próximo ao observado por Gallice *et al.* (2011) na determinação de fenóis totais em vinhos, observa-se que a maior discrepância entre valores reais e preditos ocorre nas amostras de menor concentração de fenóis totais (Figura 2.4), o que aumenta significativamente a média de previsão do erro. Além disso, é importante ressaltar que a determinação de compostos fenólicos pelo método Folin-Ciocalteu mostra baixa seletividade, principalmente em função de falsos positivos por parte de espécies redutoras de caráter não fenólico, como a vitamina C (OLIVEIRA, DE VALENTIM e GOULART, 2009). Mesmo considerando todas as mudanças associadas às diferentes regiões de cultivo (como condições agronômicas, climáticas e processamento da amostra), optou-se por desenvolver modelos PLS das amostras de três regiões distintas a fim de construir modelos mais robustos.

Chen *et al.* (2008) desenvolveram um método multivariado para a determinação de fenóis totais em amostras de chá verde utilizando a espectroscopia NIR. De acordo com os autores, valores de RMSEP da ordem

de 0,70 justificam o uso da associação entre a calibração multivariada e a espectroscopia NIR em operações de controle de qualidade deste tipo de produtos, principalmente em função das claras possibilidades de se implementar sistemas de controle *in-situ* e em tempo real. Páscoa *et al.* (2013) avaliaram compostos fenólicos totais em resíduo de café, utilizando um procedimento de micro placas de Folin-Ciocalteu, e obtiveram em média $13,00 \pm 5,6 \text{ mg.g}^{-1}$ de ácido gálico. O melhor modelo PLS apresentou RMSEP de 1,48 e R de 0,94 com seis VLs. Bellincontro *et al.* (2012) analisaram compostos fenólicos totais de três cultivares de azeitonas e encontram valores de $R=0,87$ e $\text{RMSEP}=6,33 \text{ mg.g}^{-1}$ empregando nove VLs. O teor dos CFT foi calculado por meio da soma dos compostos específicos medidos por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). Bala e Singh (2013) avaliaram fenólicos totais em semente de mostarda colza obtendo $R=0,92$ e $\text{RMSEP}=0,11$ com seis VLs, analisados pelo método convencional de Folin-Ciocalteu.

A Tabela 2.3 apresenta os resultados dos valores experimentais e os valores preditos pelo modelo PLS para as 26 amostras do conjunto de validação externa. Mais da metade dos valores do erro de previsão foi menor que 10 %. No entanto, vale ressaltar que a maior discordância ocorreu em relação à amostra que apresentou menor concentração de CFT, valor de referência de $27,28 \text{ mg.g}^{-1}$ e previsto de $44,55 \text{ mg.g}^{-1}$ (amostra pertencente à região A).

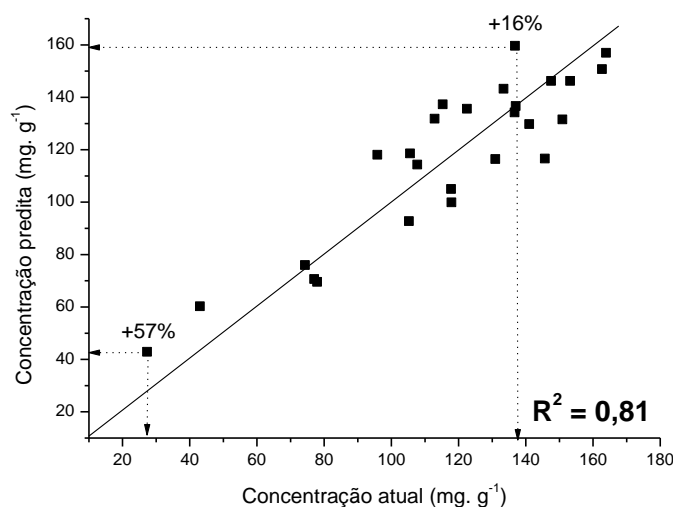


FIGURA 2.5 - CORRELAÇÃO ENTRE CONCENTRAÇÃO DE FENÓIS TOTAL REAL E PREVISTA PELO MODELO MULTIVARIADA PARA O CONJUNTO DE VALIDAÇÃO (N = 26).

TABELA 2.3 - COMPARAÇÃO DOS RESULTADOS DE CFT (mg.g^{-1}) PARA AS AMOSTRAS DE UM CONJUNTO DE VALIDAÇÃO OBTIDO POR MÉTODOS DE REFERÊNCIA E MODELO DE REGRESSÃO PLS.

AMOSTRAS	VALOR DE REFERÊNCIA	VALOR PREDITO	RMSEP (%)
1	137,00	130,33	4,87
2	105,56	108,72	2,99
3	77,03	70,63	8,30
4	77,89	73,98	5,02
5	74,28	85,82	15,53
6	105,23	80,97	23,08
7	117,76	103,15	12,40
8	107,70	115,58	7,31
9	112,85	127,82	13,26
10	43,01	52,20	21,39
11	147,53	136,54	7,45
12	163,85	152,86	6,71
13	27,28	44,55	63,29
14	95,83	111,11	15,93
15	141,00	132,88	5,76
16	162,65	136,95	15,80
17	130,91	121,33	7,32
18	136,67	138,27	1,16
19	150,89	136,18	9,74
20	153,20	141,33	7,75
21	136,78	145,21	6,16
22	122,46	119,56	2,37
23	115,28	140,47	21,84
24	145,66	127,90	12,19
25	117,87	109,72	6,92
26	133,38	147,56	10,62
Média	116,91	115,06	12,12

4 CONCLUSÃO

A combinação de espectroscopia NIR com ferramentas de análise multivariada para a determinação de compostos fenólicos totais em erva mate é uma abordagem interessante que não foi investigada até o momento. No presente trabalho, a análise de componentes principais (PCA) foi capaz de discriminar as amostras de erva-mate, dependendo da área de cultivo (e as práticas agrônômicas e de processamento industrial associada), enquanto a regressão dos mínimos quadrados parciais (PLS) permitiu o desenvolvimento

de modelos para prever compostos fenólicos totais com erro de 12 %. Na medida em que a espectroscopia na região do infravermelho próximo apresenta várias vantagens sobre outros métodos, especialmente com relação ao tempo de análise e de custos, manipulação de amostras e resíduos químicos, pode representar uma ferramenta importante para a indústria de erva-mate.

REFERÊNCIAS

ANDERSEN, T.; FOGH, J. Weight loss and delayed gastric emptying following a South American herbal preparation in overweight patients. **Journal of Human Nutrition and Dietetics**, v.14, n.3, p. 243-250, 2001.

ARCARI, D.P.; BARTCHEWSKY, W.; dos SANTOS, T.W.; OLIVEIRA, K.A.; FUNCK, A.; PEDRAZZOLI, J. Antiobesity effects of yerba mate extract (*Ilex paraguariensis*) in high-fat diet-induced obese mice. **Obesity**, v. 17, n.12, p. 2127-2133, 2009.

BALA, M.; SINGH, M. Non-destructive estimation of total phenol and crude fiber content in intact seeds of rapeseed-mustard using FINIR. **Industrial Crops and Products**, v.42, p. 357-362, 2013.

BELLINCONTRO, A.; TATICCHI, A.; SERVILI, M.; ESPOSTO, S.; FARINELLI, D.; MENCARELLI, F. Feasible application of a portable NIR-AOTF tool for on-field prediction of phenolic compounds during the ripening of olives for oil production. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.60, n.10, p. 2665-2673, 2012.

BERTÉ, K.A.S.; BEURX, M.R.; SPADA, P.K.D.S.; SLAVADOR, M.; HOFFMANN-RIBANI, R. Chemical composition and antioxidant activity of yerba-mate (*Ilex paraguariensis* A.St.-Hil., Aquifoliaceae) extract as obtained by spray drying. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.59, p. 5523–5527, 2011.

BRAVO, L.; GOYA, L.; LECUMBERRI, E. LC/MS characterization of phenolic constituents of mate (*Ilex paraguariensis*, St. Hil.) and its antioxidant activity compared to commonly consumed beverages. **Food Research International**, v.40, p. 393-405, 2007.

CARDOZO JR. E.L.; FERRARESE-FILHO, O.; FILHO, L.C.; FERRARESE, M. DE L.L.; DONADUZZI, C.M.; STURION, J.A. Methylxanthines and phenolic compounds in mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) progenies grown in Brazil. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, p. 553-558, 2007.

CHEN, Q.; ZHAO, J.; LIU, M.; CAI, J.; LIU, J. Determination of total polyphenols content in green tea using FT-NIR spectroscopy and different PLS algorithms. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 46, p. 568–573, 2008.

COELHO, G.C.; MARIATH, J.E. A. Inflorescences morphology of *Ilex L.* (Aquifoliaceae) species from Rio Grande do Sul, Brazil. **Feddes Repertorium** (Berlin), v.107, p.19-30, 1996.

COZZOLINO, D.; RESTAINO, E.; FASSIO, A. Discrimination of yerba mate (*Ilex paraguayensis* St. Hil.) samples according to their geographical origin by means of near infrared spectroscopy and multivariate analysis. **Sensory & Instrumentation for Food Quality**, v.4, n.2, p.67-72, 2010.

DUTRA, F.L.G.; HOFFMANN-RIBANI, R.; RIBANI, M. Determinação de compostos fenólicos por cromatografia líquida de alta eficiência isocrática durante estacionamento da erva-mate. **Química Nova**, v. 33, n.1, p. 119-123, 2010.

FERREIRA, M.M.C.; ANTUNES, A.M.; MELGO, M.S.; VOLPE, P.L.O. Quimiometria I: calibração multivariada, um tutorial, **Química Nova**, v. 22, n.5, p. 724-731, 1999.

FILHO, P. A. C. Rapid determination of sucrose in chocolate mass using near infrared spectroscopy. **Analytica Chimica Acta**, v. 631, p. 206-211, 2009.

FILIP, R.; LOLITO, S.B.; FERRARO, G.; FRAGA, C.G. Antioxidant activity of *Ilex paraguariensis* and related species. **Nutrition Research**, v. 20, n.10, p. 1437-1446, 2000.

GALLICE, W.C.; MESSERSCHMIDT, I.; PERALTA-ZAMORA, P. Caracterização espectroscópica multivariada do potencial antioxidante de vinhos. **Química Nova**, v. 34, n.3, p. 397-403, 2011.

GUGLIUCCI, A. Antioxidant effects of *Ilex paraguariensis*: induction of decreased oxidability of human LDL in vivo. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 224, 2, p. 338-334, 1996.

GUGLIUCCI, A.; STAHL, A.J. Low density lipoprotein oxidation is inhibited by extracts of *Ilex paraguariensis*. **Biochemistry and Molecular Biology International**, v.35, n.1, p. 47-56, 1995.

HANSEL, F.A.; DOMINGOS, D.M.; LIMA, K.M.G.; PASQUINI, C. **Moagem e sapeco/secagem em forno de microondas na classificação sensorial de erva-mate no infravermelho próximo**. Comunicado Técnico on line. 203 – Embrapa Florestas. ISSN 1517-5030. Colombo- PR, 2008.

HECK, C.I.; SCHMALKO, M.; de MEJÍA, G. Effect of growing and drying conditions on the phenolic composition of mate teas (*Ilex paraguariensis*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 8394-8403, 2008.

HUCK, C.W.; GUGGENBICHLER, W.; BONN, G.K. Analysis of caffeine, theobromine and theophylline in coffee by near infrared spectroscopy (NIRS) compared to high-performance liquid chromatography (HPLC) coupled to mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 538, p. 195–203, 2005.

JACQUES, R.A.; SANTOS, J.G.; DARIVA, C.; OLIVEIRA, J.V.; CARAMARÃO, E.B. GC/MS characterization of mate tea leaves extracts obtained from high-pressure CO₂ extraction. **Journal of Supercritical Fluids**, v.40, p. 354–359, 2007.

JI-YONG, S.; XIAO-BO, Z.; JIE-WEN, Z.; HOLMES, M.; KAI-LIANG, W.; XUE, W.; HONG, C. Determination of total flavonoids content in fresh *Ginkgo biloba* leaf with different colors using near infrared spectroscopy. **Spectrochimica Acta Part A**, v. 94, p. 271- 276, 2012.

JOUBERT, E.; MANLEY, M.; BOTHA, M. Use of NIRS for quantification of mangiferin and hesperidin contents of dried green honeybush (*Cyclopia genistoides*) plant material. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.54, p. 5279-5283, 2006.

LI, W.; QU, H. Rapid quantification of phenolic acids in Radix Salvia Miltorrhiza extract solutions by FT-NIR spectroscopy in transreflective mode. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 52, p. 425–431, 2010.

LU, X.; WEBB, M.; TALBOTT, M.; VAN EENENNAAM, J.; PALUMBO, A.; LINARES-CASENAVE, J. Distinguishing ovarian maturity of farmed white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) by Fourier transform infrared spectroscopy: a potential tool for caviar production management. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n.7, p. 4056-4064, 2010.

LUYPAERT, J.; ZHANG, M.H.; MASSART, D.L. Feasibility study for the use of near infrared spectroscopy in the qualitative and quantitative analysis of green tea, *Camellia sinensis* (L.). **Analytica Chimica Acta**, v. 478, p. 303–312, 2003.

MARTINS, F.; SUZAN, A.J.; CERUTTI, S.M.; ARCARI, D.P.; RIBEIRO, M.L.; BASTOS, D.H. Consumption of mate tea (*Ilex paraguariensis*) decreases the oxidation of unsaturated fatty acids in mouse liver. **British Journal of Nutrition**, v. 101, n.4, p. 527-532, 2009.

MILLER, C.E. Chemical principles of near infrared technology. Williams, P.C. & Norris, K.H. (Eds), **Near Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries**. American Association of Cereal Chemist: St. Paul, MN. 2001, p.19-39.

NAES, T.; ISAKSSON, T.; FEARN, T.; DAVIES, T. **A User Friendly Guide to Multivariate Calibration and Classification**. Charlton, Chichester, UK: NIR Publications, 2002.

NICOLAI, B.M.; BEULLENS, K.; BOBELYN, E.; PEIRS, A.; SAEYS, W.; THERON, K. I. Non destructive measurement of fruit and vegetable quality by means of NIR spectroscopy: a review. **Postharvest Biology and Technology**, v. 46, p. 99-118, 2007.

OLIVEIRA, A.C de; VALENTIM, I.B.; GOULART, M.O.F. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**, v.32, p. 689-702, 2009.

OLIVEIRA, G.A.; BUREAU, S.; RENARD, C.M.G.C.; PEREIRA-NETTO, A.B.; CASTILHOS, F. Comparison of NIRS approach for prediction of internal quality traits in three fruit species. **Food Chemistry**, v. 143, p. 223-230, 2014.

OSBORNE, B.G. Near-infrared spectroscopy in food analysis. In R. A. Meyers (Ed.), **Encyclopedia of Analytical Chemistry**. Chichester: John Wiley & Sons Ltd, 2000, p.1-14.

PÁSCOA, R.N.M.J.; MAGALHÃES, L.M.; LOPES, J.A. FT-NIR spectroscopy as a tool for valorization of spent coffee grounds: application to assessment of antioxidant properties. **Food Research International**, v.51, n.2, p. 579-586, 2013.

PEDRO, A.M.K.; FERREIRA, M.M.C. Non destructive determination of solids and carotenoids in tomato products by near-infrared spectroscopy and multivariate calibration. **Analytical Chemistry**, v.77, p. 2505-2511, 2005.

PRIOR, R.; WU, X.; SCHAICH, K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, n.10, p. 4290- 4302, 2005.

SCHULZ, H.; ENGELHARDT, U.H.; WEGENT, H.; DREWS, H.; LAPCZYNSKI, S. Application of near-infrared reflectance spectroscopy to the simultaneous prediction of alkaloids and phenolic substances in green tea leaves. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.47, n.12, p. 5064–5067, 1999.

SHIN, E.C.; CRAFT, B.D.; PEGG, R.B.; PHILLIPS, R.D.; EITENMILLER, R.R. Chemometric approach to fatty acid profiles in Runner-type peanut cultivars by principal component analysis (PCA). **Food Chemistry**, v.119, p. 1262-1270, 2010.

SINGLETON, V.L.; ORTHOFER, R.; RAVENTÓS-LAMUELA, R.M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, v.299, p. 152-178, 1999.

SINGLETON, V.; ROSSI, J. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.16, p. 144–158, 1965.

VIEIRA, M.A.; ROVARIS, A.A.; MARASCHIN, M.; SIMAS, K.N.; PAGLIOSA, C. M.; PODESTA, R. Chemical characterization of candy made of erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.) residue. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.56, n.12, p. 4637-4642, 2008.

WU, D.; CHEN, J.; LU, B.; XIONG, L.; HE, Y.; ZHANG, Y. Application of near infrared spectroscopy for the rapid determination of antioxidant activity of bamboo leaf extract. **Food Chemistry**, v. 135, p. 2147–2156, 2012.

XIE, L.J.; YING, Y.B.; YING, T.J. Quantification of chlorophyll content and classification of non transgenic and transgenic tomato leaves using visible/near infrared diffuse reflectance spectroscopy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.55, p. 4645-4650, 2007.

CAPÍTULO 3

ESPECTROSCOPIA NIR PARA PREVER TANINOS TOTAIS NA ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis*) CONVENCIONAL E ORGÂNICA DURANTE AS ETAPAS DO PROCESSAMENTO INDUSTRIAL E CONTROLE DA COR POR ESPECTROFOTOMETRIA

RESUMO

Ilex paraguariensis é uma árvore que cresce naturalmente na América do Sul, sobretudo na Argentina, Brasil e Paraguai. Em suas folhas estão presentes muitas substâncias, entre elas os compostos fenólicos, reconhecidos devido às suas propriedades antioxidante, hepatoprotetora, diurética, hipocolesterolêmica, anti-inflamatória e anti-obesidade, trazendo benefícios para a saúde humana. No grupo dos compostos fenólicos encontram-se os taninos, polifenóis responsáveis pelo sabor adstringente da planta que, ao serem submetidos ao processamento, podem sofrer alterações. Portanto, o objetivo deste estudo foi investigar a variação do teor de taninos totais e as alterações de cor em erva-mate convencional e orgânica durante as etapas do processamento (recebimento de folhas verdes, inativação enzimática ou sapeco, secagem, moagem ou cancheamento, armazenamento ou estacionamento natural e forçado). Pelo método de referência (espectrofotômetro CM-5) foi possível observar um aumento considerável na luminosidade (L^*) e na cor amarela (croma $+b^*$) tanto para a amostra convencional quanto para a orgânica. A cor verde (croma $-a^*$), por sua vez, sofreu redução, contudo menos acentuada nas amostras orgânicas. A espectroscopia NIR combinada com a PCA e a PLS foi investigada para se avaliar a variação no teor de taninos totais em erva-mate convencional e orgânica durante o processamento. Utilizando-se a técnica PCA sobre os dados dos espectros NIR, foi possível examinar a autenticidade de origem das amostras de cultivo orgânico e convencional, sendo necessárias apenas 2 componentes principais para explicar 99 % dos dados. Os resultados, de

acordo com o método analítico de Prince *et al.* (1978), mostraram que de fato ocorreram alterações no teor de taninos totais. As folhas verdes resultaram num menor teor de taninos, 14 mg.g⁻¹ para amostras de cultivo convencional e 11 mg.g⁻¹ para as orgânicas, e após cada etapa do processamento apresentaram 30 e 12 mg.g⁻¹ no sapeco, 34 e 17 mg.g⁻¹ na pré-secagem, 31 e 16 mg.g⁻¹ após a secagem, respectivamente, para as amostras de erva-mate convencional e orgânica. Uma boa predição do teor de taninos totais pelo modelo PLS foi obtida com R²= 0,72 e RMSEP de 4,92, utilizando 5 variáveis latentes (VLs). Os resultados confirmaram que a espectroscopia NIR é uma técnica promissora para a avaliação rotineira de polifenóis (taninos totais) na indústria ervateira, constituindo uma alternativa rápida para auxiliar na decisão do encaminhamento da matéria prima para compor os diferentes produtos finais de erva-mate.

Palavras-chave: erva-mate, processamento industrial, taninos totais, espectroscopia NIR, quimiometria.

ABSTRACT

Ilex paraguariensis is a tree that grows naturally in South America, especially in Argentina, Brazil and Paraguay. Its leaves are rich in many substances, including phenolic compounds, which are recognized because of its beneficial properties to human health, such as antioxidant, hepatoprotective, diuretic, hypocholesterolemic, anti-inflammatory and anti-obesity. In the group of phenolic compounds, there are tannins, poliphenols responsible for the plant's astringent flavour and that may be altered when subjected to processing. Hence, the objective of this study was to investigate color changes and the variation of total tannin content in conventional and organic yerba mate during processing (receipt of green leaves, enzymatic inactivation or singeing, drying, grinding or *cancheamento*, natural and forced storage). Lightness (L*) and yellowness (b* chroma) increased for both conventional and organic samples, as determined by the CM-5 spectrophotometer. The green color (a* chroma)

decreased at a lower rate in organic samples. NIR spectroscopy combined with PCA and PLS was investigated to assess the variation in total tannin content during processing of conventional and organic samples. The origin authenticity of the organic and conventional yerba mate was stated applying PCA on the NIR spectral data. Only two principal components were necessary to explain 99 % of the data. According to methodology of Prince *et al.* (1978), there was a variation of total tannin content during processing of conventional and organic yerba mate: 14 mg.g⁻¹ and 11 mg.g⁻¹ for the green leaves, 30 mg.g⁻¹ and 12 mg.g⁻¹ after bleaching, 34 mg.g⁻¹ and 17 mg.g⁻¹ in the pre-drying and 31 mg.g⁻¹ and 16 mg.g⁻¹ after drying, respectively. Good accuracy was achieved by the PLS model (R²=0.72 and RMSEP of 4.92 using 5 LVs). The results confirmed that NIR spectroscopy is a promising technique for routine assessment of polyphenols (total tannins) in the mate industry: it is a valuable alternative to help decide the employment of different end products of yerba mate.

Keywords: yerba mate, industrial processing, total tannins, NIR spectroscopy, chemometrics.

1 INTRODUÇÃO

A erva-mate é uma árvore da família das aquifoliáceas, nativa da América do Sul, explorada por pequenos produtores que se reúnem em cooperativas para processá-la ou comercializá-la com grandes indústrias produtoras de erva-mate (BASTOS *et al.*, 2007; HECK e MEJIA, 2007). As partes aéreas da planta são colhidas e industrializadas para obter o produto natural erva-mate, que é uma mistura heterogênea de palito, folha e pó, cultivada pelo método convencional ou orgânico. Na agricultura biológica/orgânica, o uso de agroquímicos sintéticos, hormônios, antibióticos e engenharia genética não são permitidos, enquanto que na prática de cultivo convencional insumos químicos e melhoramentos genéticos podem ser aplicados (WINTER e DAVIS, 2006).

Além de muito apreciada nos seus países de origem, a erva é muito consumida no Uruguai e reconhecida no mercado mundial, em países como Estado Unidos e Europa, pelo seu sabor característico (amargo) e por apresentar compostos com atividades benéficas para a saúde humana (FILIP e FERRARO, 2003), tais como propriedade antioxidante (GUGLIUCCI e STAHL, 1995; GUGLIUCCI, 1996), hepatoprotetora (GORZALCZANY *et al.*, 2001), diurético (MAZUCHOWSKI, 1991), hipocolesterolêmica (SCHINELLA *et al.*, 2005), anti-inflamatória (PUANGPRAPHANT e de MEJIA, 2009) e anti-obesidade (ANDERSEN e FOGH, 2001).

Os polifenóis, como os taninos, presentes nas folhas de erva-mate são relatados na literatura devido ao seu sabor adstringente e capacidade de se ligar a diferentes estruturas orgânicas, a exemplo das proteínas, hidratos de carbono e alcalóides (CHAVAN, SHAHIDI, NACZK, 2001). Em geral, estas características diferenciam os taninos dos outros polifenóis sendo responsáveis pela proteção de plantas contra inimigos naturais (HASLAM, 2007).

A concentração dos compostos fenólicos na planta é fortemente afetada por fatores como a idade da planta, época de colheita, tipo de erva, sistema de cultivo, região produtora e efeitos das etapas do processamento industrial do mate - sapeco, secagem, cancheamento, envelhecimento, os quais modificam suas atividades farmacológicas (LÓPEZ *et al.*, 2006).

Atualmente todos os métodos de análise são demorados e em alguns casos fornecem resultados insatisfatórios em função da instabilidade dos compostos químicos. Uma opção para o setor ervateiro seria o emprego de técnicas de espectroscopia, baseadas em vibrações moleculares, como o infravermelho próximo (NIR), que permite uma análise rápida e não destrutiva, e a análise de múltiplos componentes na mesma amostra, independente do seu estado físico (sólido, líquido ou gasoso). Em comparação com outros métodos convencionais, a técnica é considerada “verde”, pois não necessita de reagentes químicos, o que beneficia claramente a saúde do operador, é responsável por uma redução drástica no consumo de energia e não causando efeitos colaterais ao meio ambiente (MOROS, GARRIGUES e GUARDIA, 2010). Contudo, todos esses benefícios não podem ser totalmente explorados sem uma abordagem interdisciplinar: a quimiometria combinada com o NIR permite relacionar informações químicas com os dados espectrais das

amostras. Esta técnica tem sido aplicada em várias matrizes alimentares, tanto no controle de processo quanto na qualidade do produto na indústria de alimentos (HUANG *et al.*, 2008).

Dado o exposto, o objetivo desta pesquisa foi investigar amostras de erva-mate de origem convencional e orgânica, coletadas nas diferentes etapas do processamento industrial, quantificando seu teor de taninos totais pelo método convencional UV/Visível e por meio do uso do NIR, com auxílio de métodos quimiométricos e avaliar a influência das etapas industriais em relação à cor da erva-mate convencional e orgânica.

2 MATERIAL E METODOS

2.1 Material vegetal

Foram utilizados dois grupos de amostras de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) neste estudo: um grupo cultivado organicamente (n = 30), certificado pela Ecocert Brasil de acordo com as normas internacionais e outro grupo, cultivado de forma convencional (n = 35), ambas adquiridas em empresas de erva-mate localizadas na região sudeste do Estado do Paraná, Brasil. As amostras convencionais e orgânicas de erva-mate, compostas de ramos e folhas, foram colhidas em agosto de 2013. Foram recebidas amostras, provenientes de cada etapa do processamento industrial, a saber: sapeco; pré-secagem; secagem; cancheamento e armazenamento natural para ambas as amostras e o armazenamento forçado apenas para amostras convencionais, além das folhas *in natura* (Figura 3.1). O estudo contou com cinco amostras de cada etapa, sendo sete etapas para erva convencional e seis etapas para a erva orgânica, totalizando 65 amostras. Para Análise de componentes principais (PCA), além das 65 amostras doadas, também foram adquiridas amostras comerciais de erva-mate convencional (n= 9) e orgânica (n = 9) das empresas em estudo além de amostras de erva-mate convencional do mercado (n = 9) com marca diferente das empresas doadoras, com a finalidade de avaliar a eficiência da técnica PCA.



FIGURA 3. - ILUSTRAÇÃO DAS ETAPAS DO PROCESSAMENTO INDUSTRIAL DA ERVA-MATE.

FONTE: autora

- 1. Colheita:** folhas verdes frescas em ramos colhidos manualmente foram enviadas para o laboratório para análise imediata a fim de preservar as características químicas e físicas da planta.
- 2. Sapeco:** nesta fase a erva-mate passa rapidamente (2 a 3 minutos) contra a chama produzida pela queima de lenha, a uma temperatura que oscila de 500 a 600 °C.
- 3. Pré-secagem:** a erva-mate sapecada é conduzida por esteiras até o pré-secador, onde é exposta a uma temperatura de 200 °C e permanece por um período de 3 minutos sem contato direto com as chamas, apenas com o calor delas proveniente. Ao fim deste processo a folha já perdeu cerca de 80 % de sua umidade.
- 4. Secagem:** as folhas ficam dispostas sobre as esteiras de modo que o calor seja proporcional em toda a sua superfície. O tempo considerado adequado para a secagem varia de 4 a 6 horas, com uma temperatura entre 100 a 110 °C na esteira.
- 5. Cancheamento:** ocorre a fragmentação e separação dos palitos mais grossos das folhas deixando a erva com um percentual que varia de 9 a 13 % de palitos.

6. *Armazenamento Natural*: o produto é armazenado sob condições naturais, com temperatura em torno de $18\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $80\% \pm 2\%$, por cerca de 9 meses.

7. *Armazenamento Forçado*: o produto é armazenado sob condições controladas de temperatura ($45\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$), umidade e circulação de ar ($31\% \pm 2\%$) durante 90 dias a fim de adquirir o sabor, aroma e cor desejados.

2.2 Medição da cor

As medições da cor das amostras orgânica e convencional (65 amostras) foram efetuadas por meio de um espectrofotômetro CM-5, com iluminação D65 e 10° de ângulo de observação, operando no sistema CIELAB. As leituras foram realizadas em quintuplicata nas amostras de cada etapa do processamento industrial da erva-mate, na forma de folha ou cancheada, conforme foram recebidas das empresas. Os resultados foram expressos em valores médios de L^* (luminosidade (0 = preto e 100 = branco), coordenadas cromáticas a^* (verde (-a) e vermelho (+a)) e b^* (azul (-b) e amarelo (+b)).

2.3 Determinação de taninos totais

Para análise foi empregada alíquota de amostras de erva-mate moídas cujo teor de taninos condensados foi determinado pela reação da vanilina, conforme método de Prince *et al.* (1978) adaptado, que consiste em uma etapa de extração dos taninos da erva com álcool metílico sob agitação durante uma hora, seguida de filtração. Uma alíquota de 1mL do extrato metanólico obtido foi adicionado de 5 ml de solução 1:1 de vanilina 1 % em álcool metílico e ácido clorídrico 4 %, recém-preparada, em tubo de ensaio agitado em vórtex por 30 segundos. Em seguida, os tubos foram pré-aquecidos em banho-maria a $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 30 min. A reação foi mantida ao abrigo da luz por 20 min e feito imediatamente a leitura da absorbância a 500 nm. A quantificação foi realizada

por meio de curva de calibração externa, empregando-se o ácido tânico como padrão.

2.4 Análise por espectroscopia no infravermelho próximo

2.4.1 Aquisição dos espectros

Todas as 92 amostras (35 amostras de erva-mate convencional, 30 amostras de erva-mate orgânica e 27 obtidas comercialmente) foram analisadas conforme recebidas, sem preparo. Os dados espectrais foram obtidos em um espectrofotômetro da marca BRUKER, modelo TENSOR 37 (Bruker Optics, Ettlingen, Germany) com transformada de Fourier, esfera de integração e detector InGaAs-TE. Os espectros das amostras de erva-mate foram coletados na região do infravermelho próximo (NIR) de 4.000 cm^{-1} a 10.000 cm^{-1} , operando em reflectância difusa, através de 64 varreduras, resolução de 4 cm^{-1} e temperatura controlada próxima de $20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Dados de reflectância foram armazenados como $\log(1/R)$ (R = reflectância).

2.4.2 Métodos quimiométricos

As análises de componentes principais (PCA) e regressão dos mínimos parciais (PLS) foram realizadas utilizando o software Unscrambler 10.1[®].

Para a análise da PCA, foram utilizados os dados espectrais das 92 amostras, com o objetivo de encontrar similaridades entre as amostras, detectar amostras anômalas (*outliers*) e reduzir a dimensionalidade do conjunto de dados, segundo proposto por Wu *et al.* (1997), e também, definindo o grupo de amostras que será utilizada na validação externa dos modelos PLS. Foram tomados cuidados para que as amostras do conjunto de validação externa não fossem as de maiores ou menores concentrações do conjunto total.

Os modelos PLS foram construídos utilizando os dados espectrais (matriz X) e medições realizadas por meio do método de Prince *et al.* (1978)

(matriz Y), para prever o teor de taninos totais. As 65 amostras de erva-mate (convencional e orgânica) foram divididas em dois grupos, 52 amostras (80 %) destinadas à calibração e validação interna do modelo e 13 amostras (20 %) (definidas pela PCA) para a predição externa.

Para definir o melhor número de variáveis latentes (VLs), foi aplicado o método de validação cruzada interna, por meio do “*Leave one out*”. Neste procedimento, uma amostra do conjunto de calibração é excluída da fase de desenvolvimento do modelo, o processo é repetido até que todas as amostras sejam previstas.

A análise de amostras anômalas (*outlier*) foi realizada através da análise do número de *Leverage* e Resíduos de *Student*.

Depois que os modelos PLS foram calibrados, sua precisão e capacidade de previsão foram avaliadas utilizando RMSEC (Raiz Quadrada da Soma do Erro de Calibração), RMSECV (Raiz Quadrada da Soma do Erro de Validação Cruzada), RMSEP (Raiz Quadrada da Soma do Erro de Predição) e os seus respectivos coeficientes de regressão (R). Geralmente, um bom modelo deve ter altos coeficientes de regressão (R) e baixo erro médio quadrático (RMSEC e RMSECV), segundo Duarte *et al.* (2002).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Medição da cor

A cor é um dos atributos utilizados pelos consumidores para a aceitação da erva-mate. No Brasil há preferência de erva-mate de cor verde brilhante, enquanto em outros países da América do Sul (Argentina, Paraguai e Uruguai) a preferência é pela erva-mate estacionada de cor verde-oliva a amarelodourado (VALDUGA *et al.*, 2005). A cor verde da erva-mate deve-se à presença de clorofila, mas durante o processamento e o armazenamento ocorrem alterações e perdas. Cada etapa do processamento industrial é responsável pela sua redução.

Observa-se na Tabela 3.1 que durante as etapas de processamento o valor de L^* elevou-se significativamente ($p < 0,05$), tanto nas amostras de erva-mate convencional como orgânica. Pela variação de escala da coordenada L^* , quanto mais próximo for o valor de 0, mais escuro o produto, enquanto que valores próximos de 100 representam um produto mais claro ou branco. Sendo assim, deduz-se que a cor das amostras convencionais e orgânicas foi afetada pelo tratamento térmico, pois se observa uma elevação no valor da luminosidade, ou seja, clareamento, com o aumento da intensidade do tratamento. Este fato era esperado devido à rápida perda de umidade das folhas de erva-mate expostas a altas temperaturas, tornando-os de cor mais clara, aumentando em consequência o valor de L^* . Portanto, quanto maior for o valor de L^* mais clara é a erva-mate. Santos (2004) verificou que os valores de L^* para erva-mate chimarrão degradaram em função do tempo de armazenamento (180 dias) e tipo de embalagem plástica aplicada. Encontrando maior valor de L^* de 10,30 % para as amostras armazenadas em frasco de polietileno de alta densidade com tampa (PEAD), de 8,78 % armazenadas com embalagem de polipropileno biorientado metalizado com polietileno laminado (BOPPmet/PE) e 1,79 % para as amostras de erva-mate chimarrão armazenada em embalagens de polietileno tereftalato metalizado com polietileno laminado (PETmet/PE).

Os valores encontrados para o parâmetro a^* foram negativos (o que corresponde à cor verde) e para parâmetro b^* , positivos (amarelo). A comparação de médias pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) mostrou diferença significativa do valor $-a^*$ entre as amostras, indicando que tanto as amostras convencionais quanto orgânicas tendem a uma perda da cor verde, a qual foi menos acentuada nas amostras orgânicas, as quais mantiveram valores negativos para a croma a^* na etapa do armazenamento natural. Os valores de b^* , no entanto, aumentaram consideravelmente em ambas as amostras durante as etapas do processamento em decorrência do amarelamento, visto que a remoção de umidade a altas temperaturas provoca um aumento significativo nos valores de b^* . Porém, pode-se observar que as amostras passaram por trituração na etapa de cancheamento, alterando consideravelmente os valores de a^* . Santos (2004) observou que a erva-mate chimarrão degradou 56,46 %,

15,92 % e 6,96 % em relação aos parâmetros $-a^*$, b^* e L^* , respectivamente, durante o armazenamento de 180 dias, a uma temperatura de 25 °C.

TABELA 3.1 - VARIAÇÃO MÉDIA DOS VALORES DE L^* , a^* e b^* EM AMOSTRAS DE ERVA-MATE CONVENCIONAL E ORGÂNICA OBTIDAS NAS DIFERENTES ETAPAS DO PROCESSAMENTO INDUSTRIAL.

ETAPAS/ PROC.	ERVA-MATE CONVENCIONAL			ERVA-MATE ORGÂNICA		
	L^*	a^*	b^*	L^*	a^*	b^*
Folha <i>in natura</i>	30,97±2.80 ^a	-4,48±1.16 ^c	7,92±2.05 ^a	32,94±2.24 ^a	-8,50±0.69 ^a	15,07±2.55 ^a
Sapeco	39,64±3.75 ^b	-6,04±1.31 ^a	19,52±2.93 ^c	47,82±2.61 ^d	-7,96±0.66 ^a	22,34±2.44 ^c
Pré-secagem	38,97±2.59 ^b	-5,45±0.83 ^b	17,87±1.87 ^b	48,84±2.29 ^e	-5,30±1.13 ^c	31,59±3.77 ^e
Secagem	41,04±2.60 ^c	-6,08±0.81 ^a	20,96±3.13 ^d	44,90±0.89 ^c	-7,17±0.22 ^b	26,57±0.84 ^d
Canch.	41,21±1.42 ^c	-3,49±0.65 ^d	19,09±1.13 ^b	39,59±2.37 ^b	-3,92±1.74 ^d	18,13±1.51 ^b
Arm. Natural	45,76±1.71 ^e	0,12±0.47 ^e	21,06±1.20 ^d	47,40±0.87 ^d	-2,03±0.19 ^e	21,38±0.42 ^c
Arm. Forçado	44,13±1.80 ^d	0,59±0.54 ^e	20,15±1.11 ^c	NR	NR	NR

ETAPAS/PROC.= Etapas do processamento

Canch.= Cancheamento

Arm.= Armazenamento

onde: L^* = luminosidade, $+a^*$ = vermelho, $-a^*$ = verde, $+b^*$ = laranja, $-b^*$ = azul.

*Médias seguidas pelas mesmas letras na mesma coluna não são significativamente diferentes de acordo com o teste de Tukey ($p < 0,05$).

NR= Etapa não realizada pela empresa de erva-mate orgânica

O comportamento da cor das amostras de erva-mate orgânica e convencional, em cada etapa do processamento, é apresentado pelos parâmetros a^* e b^* na Figura 3.2. Foram selecionados os comprimentos de onda mais importantes que apresentam informação de cor essencial nas amostras de erva-mate. Segundo Berns (2000), a cor verde absorve no comprimento de onda 495-566 nm e a cor amarela, em 566-589 nm (em destaque). A título de melhor visualização, as amostras orgânicas são apresentadas em linhas pontilhadas, onde pode ser observada maior

intensidade nos parâmetros de cor em comparação com as amostras convencionais, apresentadas em linhas cheias.

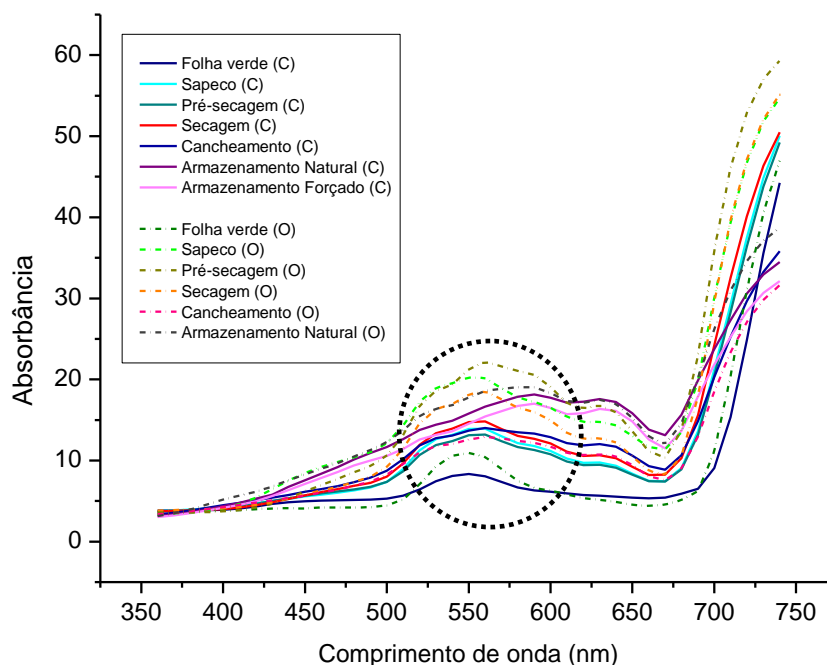
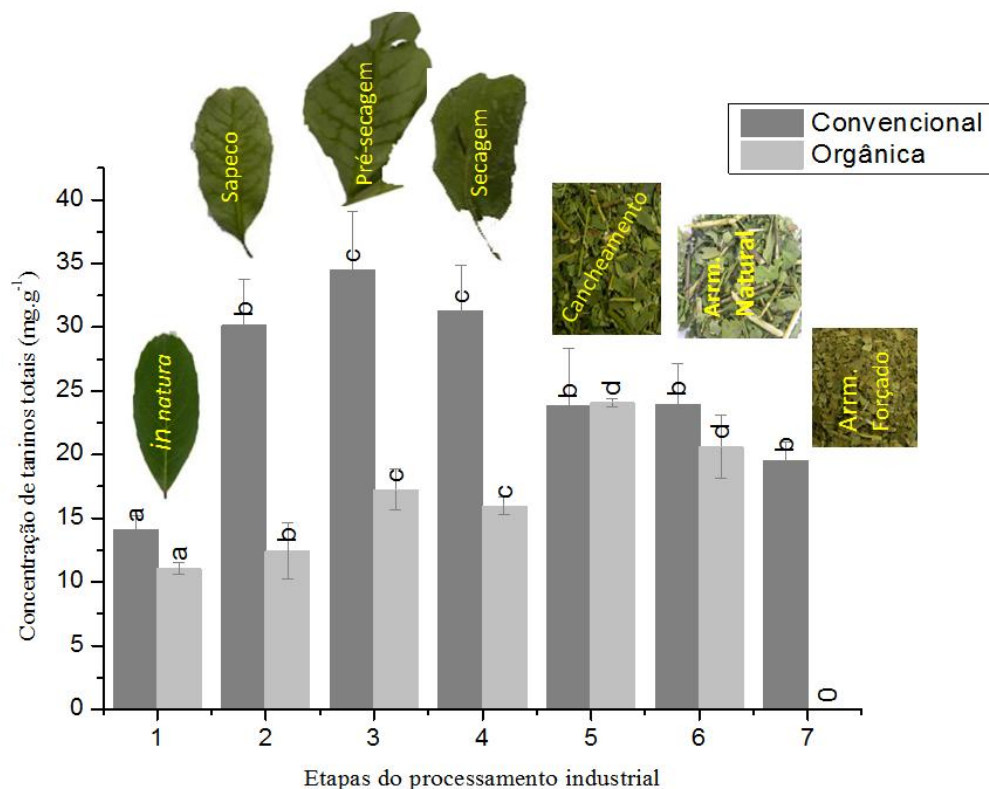


FIGURA 3.1 - COMPRIMENTO DE ONDAS (350 nm A 740 nm) NA ANÁLISE DA COR NAS DIFERENTES ETAPAS DE PROCESSAMENTO EM AMOSTRAS DE ERVA-MATE CONVENCIONAL (C) E ORGÂNICA (O).

3.2 Concentração dos taninos totais

O teor dos taninos totais (em base seca) nas diferentes etapas de processamento industrial da erva-mate convencional e orgânica é apresentado na Figura 3.3. Os resultados mostram que ocorrem mudanças significativas ($p < 0,05$) na concentração desses compostos nas folhas de erva-mate durante o processamento industrial. Em geral, um aumento na concentração dos taninos após a etapa do sapeco foi observada em comparação com a concentração encontrada nas folhas antes do processo. Os polifenóis são estáveis enquanto acumulados em células de plantas vivas, porém quando os tecidos sofrem alterações, como nas etapas de secagem, trituração, torrefação, alguns dos polifenóis são quimicamente convertidos em polifenóis secundários por reações enzimáticas e não enzimáticas (ESMELINDRO *et al.*, 2002; ISOLABELLA *et al.*, 2010). Durante o processo, ocorre perda de massa nas

folhas submetidas a elevadas temperaturas, assim, a maior parte da água e dos elementos voláteis são liberados das folhas, o que leva a uma substancial redução da massa das folhas e conseqüentemente, a um aumento na concentração dos elementos restantes. No entanto, o teor de taninos totais aumentou após o sapeco, mas diminuiu após o processo de secagem.



Arm.= Armazenamento

*Cada etapa do processamento das amostras convencionais e orgânica seguida da mesma letra não é significativamente diferente de acordo com o teste de Tukey ($p < 0,05$).

FIGURA 3.2 - CONCENTRAÇÃO DE TANINOS TOTAIS (BASE SECA) NAS DIFERENTES ETAPAS DO PROCESSAMENTO INDUSTRIAL DA ERVA-MATE CONVENCIONAL E ORGÂNICA ANALISADA PELO MÉTODO PRINCE *ET AL.* (1978) (UV/Vis).

As etapas do processamento, as técnicas empregadas no cultivo, bem como a localização geográfica onde a erva foi cultivada, o período de colheita, a idade da planta, a utilização de fertilizantes e/ou fungicidas, indicam que são importantes na regulação da biossíntese de compostos fenólicos (JUROSZEK *et al.*, 2009). Para a erva-mate, a tecnologia industrial utilizada para se obter o produto comercial é de extrema importância no que diz respeito à qualidade

final do produto. A temperatura empregada para inativar as enzimas, a folha e o tamanho final da partícula podem influenciar fortemente no teor de compostos secundários do vegetal, em particular os polifenóis. Bastos *et al.* (2006) comprovaram através da análise por HPLC, que o processamento industrial e origem da erva-mate influencia largamente no conteúdo de cafeína e de ácido 5-CQA. Os autores encontraram maior concentração destes compostos (cafeína, ácido 5-CQA) nas folhas de erva-mate secas de plantas nativas, em comparação com as folhas de erva-mate *in natura* e após o sapeco em plantas cultivadas, adquiridas de produtores do Paraná, Brasil.

3.3 Calibração multivariada

3.3.1 Espectros NIR

A Figura 3.4 apresenta a média dos espectros de NIR para os dados originais das amostras de erva-mate convencional (C) e orgânica (O). Pode-se observar que as bandas de absorção aumentaram nas amostras que passaram pelo processamento industrial, ao contrário das folhas *in natura*, cujas bandas são menos intensas. A alta intensidade da absorção das ligações de O-H da água é evidente nas regiões de 8.333 cm^{-1} , 6.849 cm^{-1} e 5.181 cm^{-1} (MILLER, 2001; MURRAY, 1986). Segundo Burns e Ciurczak (2001) as bandas que ocorrem na região entre $4000\text{-}5000\text{ cm}^{-1}$ resultam de combinações de vibrações fundamentais na região de impressão digital do NIR com vibrações de estiramento C-H, apresentando caráter informativo e baixo nível de ruído. As bandas em 5.761 cm^{-1} e 4.545 cm^{-1} são utilizadas na quantificação de compostos fenólicos (MURRAY, 1986). Segundo a investigação do espectro, selecionou-se a região espectral de $4000\text{-}6500\text{ cm}^{-1}$ para construir o modelo PLS.

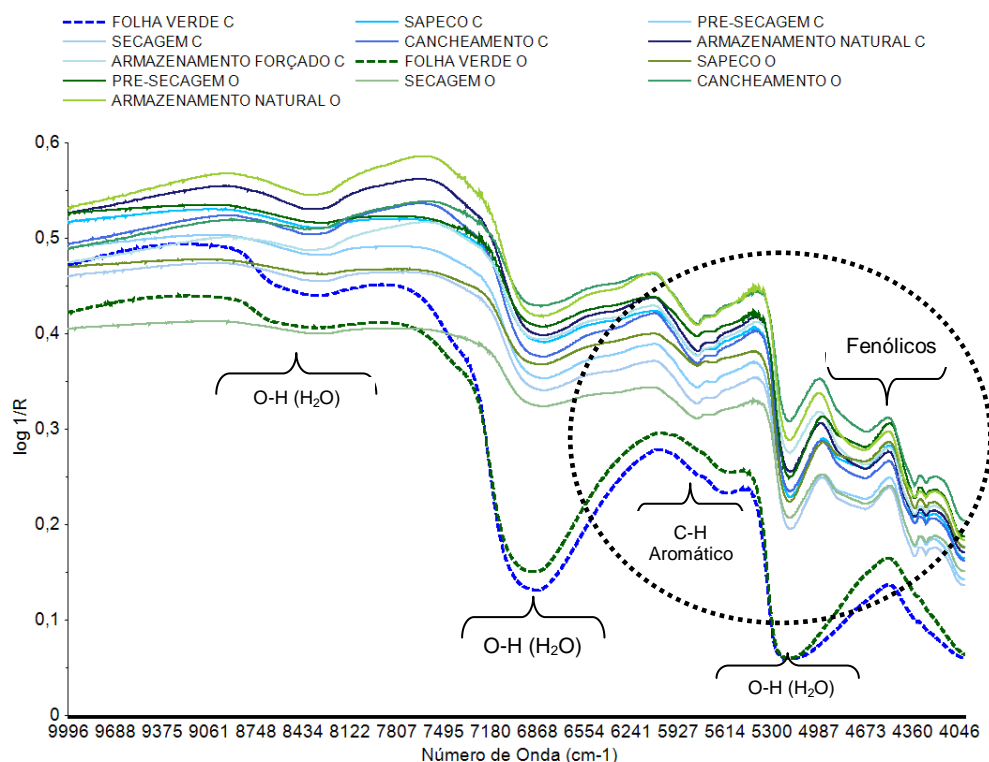


FIGURA 3.3 - PERFIL DOS ESPECTROS ORIGINAIS DE NIR OBTIDOS NAS ETAPAS DE PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS DE ERVA-MATE CONVENCIONAL E ORGÂNICA.

3.4 Análise de PCA

A análise de PCA foi realizada visando comprimir os dados com base em suas semelhanças e diferenças, por meio da redução do número de dimensões sem grande perda de informação, e definir o número de componentes principais (PC's) (SHIN *et al.*, 2010), ou seja, certificar se há diferença entre as amostras de erva-mate convencional e orgânica.

A Figura 3.5 ilustra o gráfico dos escores para o PC1 e PC2, o qual traz informações sobre o agrupamento de amostras de erva-mate convencional e orgânica, diferenciando as amostras do trabalho cedidas pelas empresas, frente às amostras adquiridas no mercado. Nesta figura é possível visualizar três diferentes grupos: a) formado por amostras de erva-mate orgânica doadas para o estudo (\blacktriangle) e de erva-mate orgânica adquirida no mercado (\triangle); b) composto por amostras convencionais doadas para o estudo (\blacksquare) e também amostras convencionais adquiridas no mercado (\square); e c) é composto por

amostras de erva-mate convencional do mercado com marca diferente das empresas doadoras (○).

Foram necessários apenas 2 PC's sem tratamento dos dados, para descrever o total de variância: a primeira componente principal (PC1) descreve 82 % da variância dos dados, enquanto a segunda componente principal (PC2) descreve 17 %, totalizando 99 %. Pela análise de escores da PC1 versus PC2 (Figura 3.5) é possível observar que as amostras de erva-mate adquiridas no mercado, tanto convencional (□) quanto orgânica (△), apresentam-se nos quadrantes positivos da PC1 e PC2 com uma tendência à separação dos grupos de amostras doadas, convencional (▲) e orgânica (■) que estão mais agrupadas nos quadrante negativos das PC's e positivo da PC2, respectivamente, diferenciando as amostras de erva-mate orgânica da convencional, doadas e adquiridas.

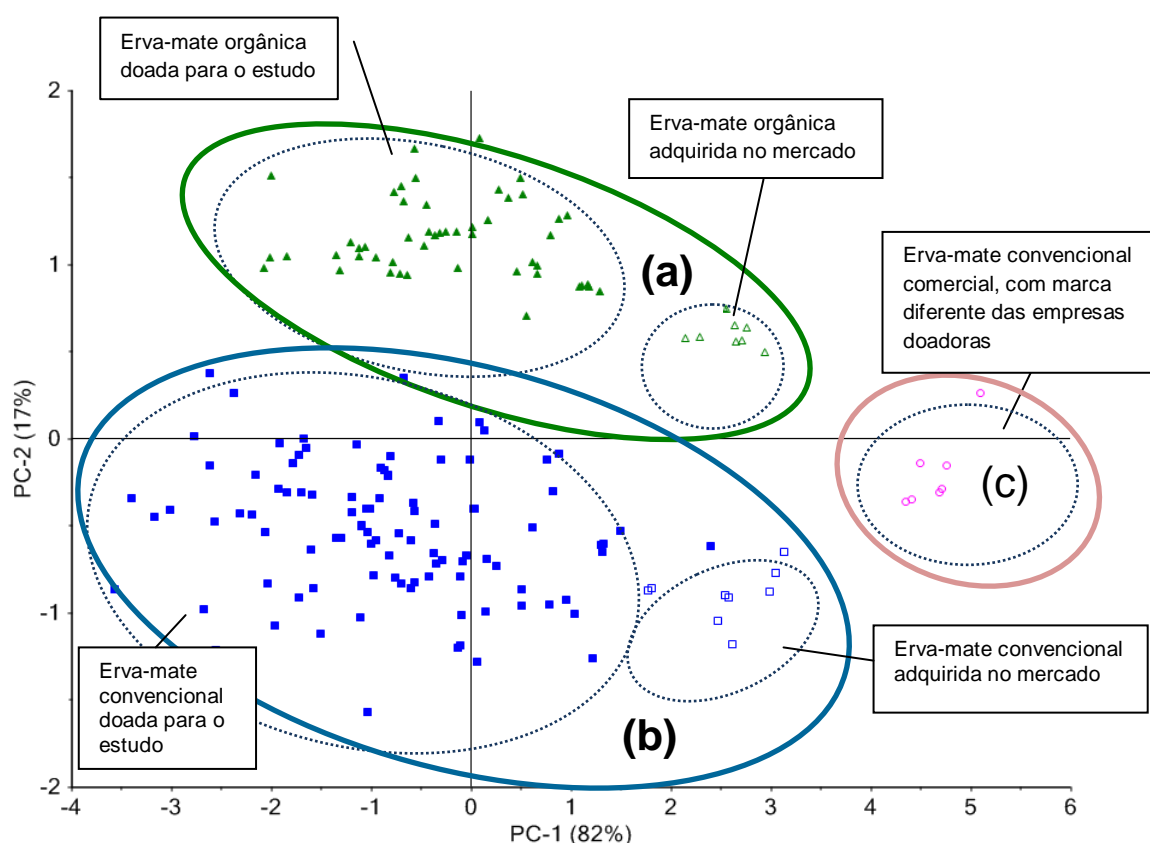


FIGURA 3.4 - ESCORE DA ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS REALIZADA COM AMOSTRAS DE ERVA-MATE. GRUPO (a): AMOSTRAS DE ERVA-MATE ORGÂNICA DOADAS PARA O ESTUDO (▲) E ERVA-MATE ORGÂNICA ADQUIRIDA NO MERCADO (△); GRUPO (b): AMOSTRAS CONVENCIONAIS DOADAS PARA ESTUDO (■) E AMOSTRAS CONVENCIONAIS ADQUIRIDAS NO MERCADO (□); GRUPO (c): COMPOSTO POR AMOSTRAS DE ERVA-MATE CONVENCIONAL DO MERCADO COM MARCA DIFERENTE DAS EMPRESAS DOADORAS (○).

Pela análise de escores é possível diferenciar as amostras de erva-mate convencional da orgânica usando espectroscopia NIR sem a necessidade de qualquer análise química (UV/Vis), desta maneira ressaltando a praticidade do emprego da técnica NIR na discriminação de amostras em mercados exigentes que só comprariam produto orgânico.

3.5 Modelo de calibração PLS

Os resultados para a calibração e previsão dos modelos PLS (faixa espectral 4000-6500 cm^{-1}) com diferentes pré-tratamentos espectrais a fim de determinar o teor de taninos totais são apresentados na Tabela 3.2.

Inicialmente, foi possível observar, em comparação com os métodos de pré-tratamento, que o modelo desenvolvido sem pré-tratamento apresentou valores relativamente baixos de RMSEC e RMSECV com 4 VLs. Já para os modelos realizados com o pré-tratamento correção multiplicativa de sinal (MSC), que faz a correção do espalhamento de luz provocado pela não homogeneidade da amostra, principalmente em decorrência das diferenças granulométricas (MORGANO, 2005), foram necessários 5 VLs. O pré-tratamento derivatização, que é usado para melhorar as definições das bandas que se encontram sobrepostas, remover ruídos em uma mesma região espectral e/ou para a correção da linha base (OSBORNE, 2000), apresentaram bons valores para calibração dos modelos com 2 VLs e 5 VLs.

Nessa aplicação, o modelo sem tratamento apresentou melhor desempenho em relação aos demais modelos com pré-tratamento. Quando o modelo foi utilizado para prever as 13 amostras de validação externa (RMSEP), um bom coeficiente de correlação ($R^2 = 0,72$) foi obtido, juntamente com um erro de predição de 4,92 %.

TABELA 3.2 - RESULTADO DOS MODELOS MULTIVARIADOS DESENVOLVIDOS COM OS PRÉ-TRATAMENTOS E NÚMERO DE VARIÁVEIS LATENTES (VLs) UTILIZADAS.

PRÉ-TRAT.	VLs	CALIBRAÇÃO (n=52)		VALIDAÇÃO CRUZADA (n=52)		VALIDAÇÃO EXTERNA (n=13)	
		R ²	RMSEC	R ²	RMSECV	R ²	RMSEP %
Sem tratamento	4	0,96	3,97	0,96	4,27	0,72	4,92
MSC	5	0,96	3,81	0,95	4,47	0,75	4,58
1ª derivada/ Alisamento SG	2	0,93	5,46	0,92	5,57	0,51	6,44
2ª derivada/ Alisamento SG	5	0,97	3,37	0,95	4,26	0,75	4,64

PRÉ-TRAT.=Pré-tratamento

A Tabela 3.3 apresenta a correlação entre os valores obtidos para o teor de taninos totais pelo método espectrofotométrico (PRINCE *et al.*, 1978) e a previsão por NIR, com o respectivo desvio padrão.

TABELA 3.3 - CORRELAÇÃO DOS RESULTADOS OBTIDOS PELO MÉTODO UV/VIS E POR ESPECTROSCOPIA NIR PARA A DETERMINAÇÃO DE TANINOS TOTAIS (mg.g⁻¹).

AMOSTRAS	VALOR DE REFERÊNCIA	VALOR PREVISTO	DESVIO PADRÃO (%)
1	27,17	25,14	3,56
2	22,72	17,71	4,57
3	20,03	24,81	2,86
4	19,75	21,73	3,36
5	4,44	5,79	3,62
6	3,31	2,73	4,43
7	17,68	22,27	4,67
8	34,75	27,12	2,64
9	17,34	20,16	3,55
10	21,00	25,61	5,42
11	8,86	14,14	3,38
12	32,79	21,84	3,66
13	14,55	13,74	3,15
Média	18,68	18,80	3,76

O procedimento relatado aqui indica um satisfatório potencial da técnica NIR quando aplicado em conjunto com métodos de calibração multivariada, provando ser viável, com alta sensibilidade, rapidez e baixo custo. No entanto, um estudo abrangente, com um conjunto maior de amostras, deve ser realizado com o objetivo de avaliar fatores tais como época de colheita e idade da planta no desenvolvimento completo desses modelos.

4 CONCLUSÃO

Neste trabalho, as técnicas PCA e PLS acopladas à espectroscopia NIR foram utilizadas para monitorar o conteúdo de taninos totais nas amostras de erva-mate convencional e orgânica durante o processamento. Através da PCA foi possível mostrar a diferença entre as amostras de erva-mate convencional e orgânica sem a necessidade de análise química. O modelo PLS construído sem pré-tratamento é capaz de apresentar boa concordância com os valores proporcionados pelos procedimentos padrão, com previsão de mais de 72 %. Pode concluir-se que o NIR juntamente com métodos quimiométricos pode ser empregado com sucesso em colaboração com a indústria ervateira para fornecer informações sobre a variação dos taninos totais durante as etapas do processamento industrial, melhorando a eficiência no controle de qualidade da erva-mate.

REFERÊNCIAS

ANDERSEN, T.; FOGH, J. Weight loss and delayed gastric emptying following a South American herbal preparation in overweight patients. **Journal of Human Nutrition and Dietetics**, v.14, p. 243-250, 2001.

BASTOS, D.H.M.; FORNARI, A.C.; QUEIROZ, Y.S.; TORRES, E.A.F.S. Bioactive compounds content of chimarrão infusions related to the moisture of yerba maté (*Ilex Paraguariensis*) leaves. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.49, p. 399-404, 2006.

BASTOS, D.H.M.; DE OLIVEIRA, D.M.; MATSUMOTO, R.L.T. Yerba maté: pharmacological properties, research and biotechnology. **Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology**. v.1, n.1, p.37-46, 2007.

BERNS, S.R. **Billmeyer e Slatzant's Principles of Color Technology**, 3rd edition, New York, USA: John Wiley, 2000.

BURNS, D.A.; CIURCZAK, E.W. **HandBook of Near-Infrared Analysis** – 2nd Edition. New York: Marcel Dekker, 2001.

CHAVAN, U.D.; SHAHIDI, F.; NACZK, M. Extraction of condensed tannins from beach pea (*Lathyrus maritimus* L.) as affected by different solvents. **Food Chemical**, v.75, p.509–512, 2001.

DUARTE, I.F.; BARROS, A.; DELGADILLO, I.; ALMEIDA, C.; Gil, A.M. Application of FTIR spectroscopy for quantification of sugars in mango juice as a function of ripening. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, p. 3104–3111, 2002.

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. 2, p. 199-204, 2002.

FILIP, R.; FERRARO, G. Researching on new species of “Mate”: *Ilex brevicuspis*: Phytochemical and pharmacology study. **European Journal of Nutrition**, v. 42, n.1, p. 50–54, 2003.

GORZALCZANY, S.; FILIP, R.; ALONSO, M.R.; MINÕ, J.; FERRARO, G.E.; ACEVEDO, C. Choleric effect and intestinal propulsion of ‘mate’ (*Ilex paraguariensis*) and its substitutes or adulterants. **Journal of Ethnopharmacology**, v.75, p. 291–294, 2001.

GUGLIUCCI, A. Antioxidant effects of *Ilex paraguariensis*: induction of decreased oxidability of human LDL in vivo. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 224, p. 338–44, 1996.

GUGLIUCCI, A.; STAHL, A.J. Low density lipoprotein oxidation is inhibited by extracts of *Ilex paraguariensis*. **Biochemistry and Molecular Biology International**, v. 35, p. 47-56, 1995.

HASLAM, E. Vegetable tannins-lessons of a phytochemical lifetime. **Phytochemistry**, v. 68, p.2713–2721, 2007.

HECK, C.I.; MEJIA, E.G. Yerba mate tea (*Ilex paraguariensis*): A comprehensive review on chemistry, health implications, and technological considerations. **Journal of Food Science**, v. 72, n.9, p. 138-151, 2007.

HUANG, H.; YU, H.; XU, H.; YING, Y. Near infrared spectroscopy for on/in-line monitoring of quality in foods and beverages: A review. **Journal of Food Engineering**, v. 87, p. 303–313, 2008.

ISOLABELLA, S.; COGOI, L.; LÓPEZ P.; ANESINI C.; FERRARO G.; FILIP R. Study of the bioactive compounds variation during yerba mate (*Ilex paraguariensis*) Processing. **Food Chemistry**, v.122, p. 695–699, 2010.

JUROSZEK, P.; LUMPKIN, H.M.; YANG, R.Y.; LEDESMA, D.R.; MA, C.H. Fruit quality and bioactive compounds with antioxidant activity of tomatoes grown on-farm: comparison of organic and conventional management systems. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.57, p. 1188–1194, 2009.

LÓPEZ, P.; ISOLABELLA, S.; ANESINI, C.; FERRARO, G.; FILIP, R. **Estudio cuali-cuantitativo por HPLC de los principios activos presentes en los extractos de *Ilex paraguariensis* (yerba mate) em las diferentes etapas del procesamiento industrial**. In Libro actas del 4 Congreso Sudamericano de La Yerba Mate (first edition). Posadas, Argentina, 116-121, 2006.

MAZUCHOWSKI, J.Z. **Manual da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hill)**. 2ª edição, EMATER–Paraná: Curitiba, Brasil, 1991, 104 p.

MILLER, CH.E. **Chemical principles of near infrared technology, in Near infrared technology in the agricultural and food industries**, 2nd edn., ed. by P.C. Williams, K.H. Norris (American Association of Cereal Chemist, USA), p. 19–39, 2001.

MORGANO, M.A. **Aplicação de métodos quimiométricos em análise de alimentos**. 127 f. Tese (Doutorado) - Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

MOROS, J.; GARRIGUES, S.; GUARDIA, M. de La. Vibrational spectroscopy provides a green tool for multi-component analysis. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 29, n.7, p. 578–591, 2010.

MURRAY, I. **The NIR spectra of homologous series of organic compounds**, in Proceedings of the International NIR/NIT Conference, ed. by J. Hollo, K.J. Kaffka, J.L. Gonczy, Akademiai Kiado, Budapest, p.13–28, 1986.

OSBORNE, B.G. Near-infrared spectroscopy in food analysis. **Encyclopedia of Analytical Chemistry**, In _ Robert A. Meyers. Ó John Wiley & Sons Ltd, Chichester, p. 1-14, 2000.

PRINCE, M.L.; SCOYOC, S.V.; BUTLER, L.G. A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 26, p. 1214–1218, 1978.

PUANGPRAPHANT, S.; de MEJIA, E.G. Saponins in yerba mate tea (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil) and quercetin synergistically inhibit iNOS and COX-2 in lipopolysaccharide-induced macrophages through NFκB pathways. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 8873-8883, 2009.

SANTOS, K.A. **Estabilidade da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hill.) em embalagens plásticas**. 127 f. Dissertação Mestrado, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2004.

SCHINELLA, A.G.; FANTINELLI, B.J.C.; MOSCA, S.M. Cardioprotective effects of *Ilex paraguariensis* extract: evidence for a nitric oxide-dependent mechanism. **Clinical Nutrition**, v.24, p. 360–366, 2005.

SHIN, E.C.; CRAFT, B.D.; PEGG, R.; PHILLIPS, R.D.; EITENMILLER, R.R. Chemometric approach to fatty acid profiles in Runner-type peanut cultivars by principal component analysis (PCA). **Food Chemistry**, v.119, p.1262-1270, 2010.

VALDUGA, E.; JAVORNIK, G.; SORDI, M.; REZENDE, D.F. Evaluation of the quality of mate conditioned in different packaging materials. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 8, n.2, p. 99-105, 2005.

WINTER, C.K; DAVIS, S.F. Organic Foods. **Journal of Food Science**, v.71, n.9, p. R117-R124, 2006.

Wu, W.; MASSART, D.L.; JONG, S. The kernel PCA algorithms for wide data. Part I: theory and Algorithms. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v.36, p. 165-172, 1997.

CAPÍTULO 4

USO DE MICRO-ONDAS COMO UM MÉTODO ALTERNATIVO NO CONTROLE DE UMIDADE DA ERVA-MATE DURANTE O ARMAZENAMENTO E PREDIÇÃO POR ESPECTROSCOPIA NIR

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o teor de umidade de amostras de erva-mate compostas por folhas e palitos (ramos) ou somente folhas por aquecimento em micro-ondas doméstico frente à análise convencional (estufa) e por espectroscopia NIR durante 180 dias de armazenamento sob diferentes condições: em indústria sob condição natural (ANI), com temperatura (T) de 18 ± 2 °C e umidade relativa (UR) de 80 ± 2 %, em indústria sob acondicionamento acelerado (AAI) (T = 45 ± 2 °C e UR = 31 ± 2 %), e em laboratório sob acondicionamento acelerado (AAL) (T = 32 a 48 °C e UR = 10 a 50 %). Para a análise por micro-ondas, foi empregada a metodologia de superfície de resposta a fim de otimizar as condições relativas às variáveis tempo *versus* potência sobre o teor de umidade das amostras. Empregando potência de 900 W por 4,3 minutos, a resposta foi similar àquela obtida pelo método convencional para amostras na faixa de 4,5 a 8,7 g.100g⁻¹ de umidade. As médias obtidas pelos dois métodos de determinação de umidade da erva-mate sob as diferentes condições de acondicionamento (ANI, AAI e AAL) quanto à temperatura, umidade relativa e tempo não diferiram estatisticamente ($p > 0,05$). Os modelos PLS desenvolvidos utilizando a técnica NIR apresentaram coeficientes de regressão (R^2) superiores a 0,90 em relação aos modelos de calibração. A capacidade de previsão dos modelos, no entanto, não é ainda suficiente para que estes sejam implantados em um contexto real em linha de produção. Quando se comparam os métodos estufa e micro-ondas, os valores R^2 e RMSEP são de 0,54 e 0,42 e de 0,97 e 1,08, respectivamente. O teor de umidade das amostras armazenadas na empresa nas condições ANI

e AAI apresentaram comportamento semelhante após 90 dias de armazenamento. Entretanto, o produto armazenado em laboratório (AAL) sofreu um declínio acentuado no teor de umidade, porém mais homogêneo quando se tratou das amostras de erva compostas somente por folhas.

Palavras-chave: erva-mate, armazenamento, umidade, micro-ondas, NIR.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate moisture content by heating in a domestic microwave respect to the conventional analysis (stove) and by NIR spectroscopy for yerba mate samples composed of leaves and stems or only leaves, stored during 180 days under different conditions: in industry under natural conditions (NC), with temperature (T) 18 ± 2 °C and relative humidity (RH) 80 ± 2 %, in industry under accelerated storage (AS) (T = 45 ± 2 °C and RH = 31 ± 2 %), and under controlled conditions in laboratory (CC) (T = $32 - 48$ °C and RH = 10-50 %). The response surface methodology was applied to optimize the conditions of time versus power on the moisture content of the samples determined by the microwave method. The moisture results were similar either using microwave at 900 W for 4.3 minutes or the conventional method for samples with moisture content varying from 4.5 to 8.7 g.100g⁻¹. There were no significant differences ($p > 0.05$) between the mean values obtained by the two methods on the determination of the moisture content of yerba mate under different conditions of temperature, relative humidity and time during storage. The PLS models developed using NIR presented regression coefficients (R^2) higher than 0.90 in relation to the calibration models. The predictive power of the models, however, is still not enough for them to be implemented in a real context of industrial production. When comparing the conventional and microwave methods, R^2 and RMSEP are 0.54 and 0.42 and 0.97 and 1.08, respectively. The moisture content of the samples stored in the company under NC and AS conditions showed similar behavior after 90 days of storage. Samples stored in the laboratory (CC) underwent a sharp decline in

moisture content, however this decrease was more homogeneous for the samples composed only of leaves.

Keywords: Yerba mate, storage, moisture, microwave, NIR.

1 INTRODUÇÃO

A produção da erva-mate (*Ilex paraguariensis*) é particularmente favorecida no Sul do Brasil, Noroeste da Argentina e Leste do Paraguai. Sua produção e seu processamento representam atividade econômica importante, não só devido à comercialização na América do Sul, mas também é cada vez mais valorizada pelo mercado internacional. A atratividade da planta é atribuída principalmente pelo seu valor nutricional e funcional, sobretudo pela propriedade antioxidante, que representa grande importância à saúde humana (ARÇARI *et al.*, 2009; MARTINS *et al.*, 2009; FILIP, DAVICINO e ANESINI, 2010; PUANGPRAPHANT, BERHOW e de MEIJA, 2011).

Neste contexto, a cor, o sabor e o aroma são os principais atributos no controle de qualidade da erva-mate (CENI *et al.*, 2009) e dependem da umidade desta. O controle da umidade da erva-mate suprime o crescimento dos micro-organismos responsáveis pela deterioração de sua qualidade, garantindo maior período de armazenamento (ALIBAS-OZKAN, AKBUDAK, AKBUDAK, 2007). Segundo Brasil (2002), o teor de umidade máximo para o armazenamento seguro da erva-mate é em torno de 10 %.

Uma interessante alternativa para monitorar o teor de umidade da erva-mate seria a aplicação do aquecimento por micro-ondas, a qual pode resultar em economia de tempo em relação ao método convencional de aquecimento em estufa, o que ajudaria na tomada rápida de decisão sobre as operações que dependem do conteúdo de umidade da amostra. A técnica do micro-ondas já foi introduzida de forma eficaz para a avaliação do teor de umidade de certo número de produtos agrícolas, como quiabo (DADALI *et al.*, 2007), azeitona (VEILLET *et al.*, 2009), broto de bambu (BAL *et al.*, 2010), farinha de trigo (GARCIA, VENDRUSCOLO e SILVA, 2014), dentre outros.

Outra alternativa viável para a análise de umidade é a aplicação da espectroscopia NIR, técnica analítica que mede por absorção óptica as propriedades espectrais em moléculas orgânicas causadas por bandas de combinação harmônicas na região 12500 - 4000 cm^{-1} . A vantagem da técnica NIR é que as medições são efetuadas de forma não destrutiva e rápida. Seria possível monitorar as características de matérias primas na linha de produção e decidir sua destinação para obtenção de determinado produto em reduzido tempo, efetivamente até minutos-segundos, facilitando também a melhoria da qualidade do produto final e sua devida aplicação. Esta técnica tem sido aplicada para determinar o teor de umidade em café cru (MORGANO *et al.*, 2008), em feijão (EL-SAYD e MAKAWY, 2010), em chá verde (SINIJA e MISHRA, 2011) e em erva-mate moída (pó) (MAZUR *et al.*, 2014).

O objetivo deste estudo foi avaliar o método de determinação de umidade por micro-ondas frente ao método oficial em estufa e também por espectroscopia NIR para amostras de erva-mate cancheada (seca e fragmentada) armazenadas diretamente na indústria e em laboratório, sob condições controladas de (umidade relativa (UR) e temperatura) por período de 180 dias.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Preparação das amostras e condições de armazenamento

Neste estudo, foram utilizadas amostras de erva-mate colhidas e processadas industrialmente por empresa localizada na região sudeste do Estado do Paraná/Brasil, sob coordenadas geográficas de 25° 52' 36" de latitude Sul e 50° 23' 3" de longitude Oeste.

Após o processamento industrial, uma parte das amostras foi composta de folhas de erva-mate e palito (pecíolo e ramos da planta) – 89 % de folhas e 11 % de palitos, e outra parte foi composta somente de folhas (100 % folhas). As amostras armazenadas com palito são comercializadas para o preparo da

bebida chimarrão e as amostras compostas somente de folhas são utilizadas para bebidas, como chás.

Para simplificação da nomenclatura usada neste trabalho, as amostras de erva-mate compostas de folhas e palitos foram identificadas por folha/palito e as compostas somente de folhas serão chamadas de folhas. As amostras foram armazenadas como segue (Tabela 4.1):

TABELA 4.1 - ILUSTRAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO DAS AMOSTRAS DE ERVA-MATE FOLHA/PALITO E SOMENTE FOLHAS.

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO DA ERVA-MATE		
AMOSTRAS: FOLHA/PALITO	AMOSTRAS: FOLHA/PALITO AMOSTRAS: FOLHAS	
		
Armazenamento Natural na Indústria (ANI)	Armazenamento Acelerado na Indústria (AAI)	Armazenamento Acelerado no Laboratório (AAL)

Armazenamento Natural na Indústria (ANI): amostras de erva-mate foram acondicionadas em galpão de alvenaria em saco de ráfia (85 x 1,20 cm) de 40 Kg, acomodadas em blocos de 600 sacos, sob as condições rotineiramente utilizadas, ou seja, temperatura em torno de 18 ± 2 °C e umidade relativa (UR) de 80 ± 2 %, recebendo-se em torno de 2000 g de amostra a cada coleta.

Armazenamento Acelerado na Indústria (AAI): as amostras foram acondicionadas na empresa em câmara, em saco de ráfia (85 x 1,20 cm) de 40 Kg, acomodadas em blocos de 200 sacos, sob condição controlada de temperatura de 45 ± 2 °C e UR de 31 ± 2 %, recebendo-se em torno de 2000 g de amostra a cada coleta.

Armazenamento Acelerado no Laboratório (AAL): No laboratório amostras de 15000 g folha/palito e 15000 g folhas, recebidas diretamente da empresa, foram separadas em frações de 150 gramas acondicionadas em embalagens (12 x 15 cm), confeccionadas em material similar ao utilizado nas

embalagens industriais. As frações da amostra foram armazenadas em dessecadores com sais para obtenção das diferentes UR, estes acondicionados em estufa incubadora nas temperaturas dos experimentos. O estudo empregou um planejamento fatorial 2^2 com três pontos centrais. Os níveis, inferior e superior de temperatura e UR foram 32 a 48 °C e 10 a 50 % respectivamente, sendo o ponto central equivalente à temperatura de 40 °C e UR de 30 %. Utilizou-se cloreto de lítio para a UR = 10 %; cloreto de magnésio para a UR = 30 % e nitrato de magnésio para a UR = 50 %, segundo Motta *et al.* (2002).

O armazenamento foi realizado por um período de 180 dias, sendo coletadas amostras no tempo inicial e a cada 30 dias dos acondicionamentos ANI, AAI e AAL. As amostras compostas somente por folhas foram armazenadas apenas nas condições AAL.

2.2 Análise de umidade

2.2.1 Método oficial

As amostras foram submetidas à secagem em estufa a 105 °C até atingirem peso constante, de acordo com a metodologia descrita no método 925.09, AOAC (2005).

2.2.2 Previsão de umidade por micro-ondas

Em substituição ao aquecimento por resistência elétrica utilizado no método oficial, empregou-se forno de micro-ondas doméstico da marca Eletrolux, modelo Me45x, com controle de potência de 100 a 1000 W com frequência de 2450 MHz. Para encontrar os parâmetros operacionais ideais para análise de umidade por micro-ondas, foi utilizado um pré-teste empregando-se a metodologia de superfície de resposta relativa às variáveis de potência do equipamento e tempo de processo frente à resposta (umidade)

obtida pelo procedimento convencional (estufa). Utilizou-se planejamento com três níveis de potência (500, 700 e 900 W) e três diferentes tempos de processo (4,3; 6,3 e 8,3 minutos). Foram utilizadas amostras recebidas da indústria após processamento com umidade variando de 4,5 a 8,7 g.100g⁻¹. Uma equação polinomial de segunda ordem foi utilizada para a descrição do comportamento dos dados experimentais. O peso de cada amostra (aproximadamente 4 g) foi estabelecido exatamente com precisão de 0,1 mg em torno de quatro gramas (4,0000 g) sobre placa de Petri previamente preparada (seca em estufa a 105 °C e definido seu peso). Em cada operação, seis placas de Petri individualmente adicionadas das amostras, foram posicionadas em um círculo, o mais próximo possível do centro do prato giratório do micro-ondas. Após operação do equipamento, nas condições estabelecidas para o experimento, os recipientes foram retirados, resfriados em dessecadores e pesados. Três repetições para cada experimento foram realizadas.

A condição de potência e temperatura definidas no pré-teste por micro-ondas que melhor correlacionaram com o teor de umidade obtido em estufa foi empregada durante todo o período de armazenamento das amostras. Os resultados por micro-ondas foram comparados aos obtidos para o teor de umidade por metodologia estufa (oficial) utilizando-se análise estatística por ANOVA e Pearson.

2.2.3 Espectroscopia no infravermelho próximo (NIR)

Os espectros NIR foram obtidos utilizando o espectrofotômetro da marca BRUKER, modelo TENSOR 37 (Bruker Optics, Ettlingen, Germany) com transformada de Fourier, esfera de integração e detector InGaAs-TE. Os espectros de erva-mate foram coletados em triplicata, totalizando 327 espectros na região NIR de 4.000 cm⁻¹ a 10.000 cm⁻¹, operando em reflectância difusa, através de 64 varreduras, resolução de 4 cm⁻¹ e temperatura controlada próxima de 20 °C. Dados de reflectância foram armazenados como log (1/R) (R = reflectância).

2.2.3.1 Modelo de calibração PLS

Para quantificar o teor de umidade nas amostras de erva-mate folha/palito e somente folhas a partir dos espectros NIR, foi utilizado o método quimiométrico, mínimos quadrados parciais (PLS) com o auxílio do software Unscrambler®, versão 10.1 (software CAMO).

O total das 327 amostras foi dividido em dois grupos: 218 amostras (80 %) destinadas à calibração e validação interna do modelo e 109 amostras (20 %) para fins de predição externa, selecionadas por apresentarem maior variação no teor de umidade (0,85 a 9 g.100g⁻¹), sendo assim representativas para amostras futuras.

Para a obtenção de modelos multivariados com boa capacidade de predição, diferentes pré-tratamentos foram avaliados a fim de corrigir os efeitos de dispersão de luz causada pela não-homogeneidade das amostras. Em seguida, o desempenho dos modelos PLS foi determinado utilizando o RMSEC (Raiz Quadrada da Soma do Erro de Calibração), a RMSECV (Raiz Quadrada do Erro de Validação Cruzada), a RMSEP (Raiz Quadrada da Soma do Erro de Predição) e os seus respectivos coeficientes de regressão (R).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Parâmetros operacionais no teor de umidade por micro-ondas

Os resultados da análise dos parâmetros operacionais, relacionando o tempo e a potência de operação, estão descritos pela Equação 1, que resultou em modelo polinomial no qual o parâmetro t^2 (tempo ao quadrado) não foi significativo. A equação, representada graficamente pela Figura 4.1, apresentou um coeficiente de determinação de 0,81 e erros nos parâmetros ($MM(\%) = a + b \cdot P + c \cdot P^2 + d \cdot P \cdot t$) de: $a \pm 1,7952$, $b \pm 0,0047$, $c \pm 3,18 \times 10^{-6}$ e $d \pm 0,0002$.

$$MM(\%) = 12,3934 - 0,0257 P + 1,9375 \times 10^{-5} P^2 + 4,3125 \times 10^{-4} P t \quad (1)$$

onde MM (%) é a umidade (%) das amostras de erva-mate, P é a potência do forno de micro-ondas (W) e t é o tempo de processamento (min).

De acordo com os resultados obtidos (Figura 4.1 e Equação 1) é possível visualizar que quanto maiores os tempos de processamento e potência utilizados, maiores são os valores de resposta na umidade. No entanto, para definir pela equação o valor mais próximo ao obtido segundo método oficial (AOAC, 2005), fixou-se a maior potência de operação (900 W) de modo a minimizar o tempo operacional. O uso da potência foi limitado em 900 W no delineamento experimental, evitando-se atingir o ponto de queima da amostra. Aplicando esta potência na Equação 1, define-se como tempo total de operação 4,8 min. No entanto, devido a não homogeneidade das amostras e erros aleatórios inerentes ao processo, em ensaios preliminares (dados não mostrados) ficou estabelecido que para 4,3 min houve melhor resposta e flutuação de erros dos resultados para definição do teor de umidade da erva mate por micro-ondas frente àqueles obtidos pelo método oficial.

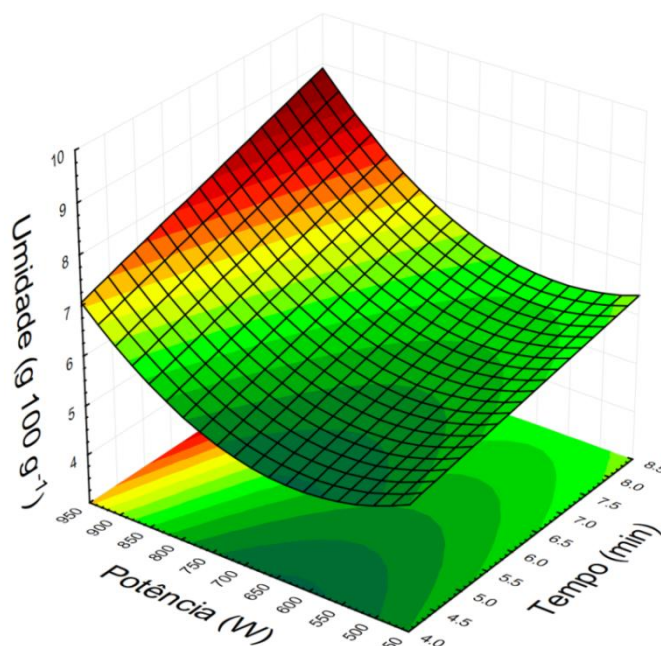


FIGURA 4.1 - SUPERFÍCIE DE RESPOSTA PARA O EFEITO DO TEMPO E DA POTÊNCIA DE MICRO-ONDAS NO TEOR DE UMIDADE.

A análise de variância fatorial (ANOVA) a 95 % de confiança foi empregada para a verificação da existência de efeitos das condições de armazenamento sobre medida de umidade obtida por micro-ondas e metodologia convencional. A combinação de fatores avaliada envolveu todos

os parâmetros aos quais foram submetidas às amostras, ou seja, método de análise da umidade relativa, temperatura e tempo. Como resultado, observou-se diferença significativa entre as medidas de umidade em função dos parâmetros de armazenamento (Tabelas 4.2 e 4.3).

Verificou-se que todos os fatores e suas interações tiveram efeito significativo sobre o teor de umidade da erva-mate, com exceção das interações entre (método e temperatura), (método e UR), e (método, tempo e UR) para as amostras folha/palito. Já nas amostras somente folhas, as interações não significativas foram (método e temperatura), (método, tempo e temperatura), e (método, temperatura e UR). Isso significa que houve uma variação estatisticamente significativa (95 % confiança) na umidade das amostras conforme as diferentes condições e tempo de armazenamento, independentemente do método de análise.

TABELA 4.2 - ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA AMOSTRAS FOLHA/PALITO. VARIÁVEL DEPENDENTE: UMIDADE (g. 100 g⁻¹).

FONTE	GL	SQ	QM	F	p
Modelo corrigido	47	303,080 ^a	6,449	42,94	0,000
Coeficiente linear	1	2671,900	2671,900	17791,96	0,000
Método	1	0,919	0,919	6,12	0,015
Tempo	5	88,005	17,601	117,20	0,000
Temperatura	1	21,975	21,975	146,33	0,000
UR	1	142,204	142,204	946,93	0,000
Método*Tempo	5	10,597	2,119	14,11	0,000
Método*Temperatura	1	0,085	0,085	0,57	0,454 ^b
Tempo*Temperatura	5	6,536	1,307	8,70	0,000
Método*UR	1	0,017	0,017	0,11	0,739 ^b
Tempo*UR	5	11,367	2,273	15,14	0,000
Temperatura*UR	1	3,461	3,461	23,05	0,000
Método*Tempo*Temperatura	5	6,733	1,347	8,97	0,000
Método*Tempo*UR	5	0,820	0,164	1,09	0,370 ^b
Método*Temperatura*UR	1	0,979	0,979	6,52	0,012
Tempo*Temperatura*UR	5	6,939	1,388	9,24	0,000
Método*Tempo*Temperatura*UR	5	2,443	0,489	3,25	0,009
Erro	96	14,417	0,150		
Total	143	317,497			

^a R² = 0,955 (R² ajustado = 0,932)

^b não significativo a 95 % de confiança

A fim de verificar a existência de diferença estatística ($p < 0,05$) entre os métodos utilizados para a previsão do teor de umidade das amostras de erva mate folha/palito e somente folhas, aplicou-se o teste *post-hoc* de Tukey aos pares dos métodos de análise (estufa e micro-ondas) com parâmetros fixos de tempo, temperatura e umidade. Como resultado, não houve diferença estatisticamente significativa entre os métodos utilizados para identificação do teor de umidade nas amostras folha/palito, com exceção das análises a (Tempo = 150 dias), (Temperatura = 48 °C) e (UR = 10 %), onde se acredita haver ocorrido algum erro experimental ou problema com a homogeneidade da amostra. Já no teste de Tukey envolvendo as amostras somente folhas houve uma maior quantidade de pontos (5 pontos) nos quais houve diferença estatística entre os métodos de análise de umidade utilizados, são eles: **1.** [(Tempo = 180 dias), (Temperatura = 32 °C) e (UR 50 %)], **2.** [(Tempo= 30 dias), (Temperatura 32 °C) e (UR 10 %)], **3.** [(Tempo= 30 dias), (Temperatura 48 °C) e (UR 10 %)], **4.** [(Tempo= 60 dias), (Temperatura 32 °C) e (UR 10 %)] e **5.** [(Tempo= 60 dias), (Temperatura 48 °C) e (UR 10 %)]. Acredita-se que neste caso, o ponto **1** corresponde aos mesmos erros encontrados nas amostras folha/palito. Enquanto isso, os pontos **2 a 5** envolvem os menores tempos de armazenamento (30 e 60 dias) e a menor UR (10 %). É possível que a diferença entre os métodos, para estes pontos, tenha ocorrido pela não homogeneidade da água das amostras, uma vez que nestas condições de armazenamento houve um processo de secagem devido à baixa umidade relativa à qual estavam expostas. Assim, nos primeiros meses de armazenamento a erva-mate em contato com a atmosfera pode ter perdido maior volume de água que aquela no interior da embalagem, uma vez que o processo de secagem não tenha atingido o equilíbrio. Na seção 3.3 pode ser observada esta mudança da quantidade de água total em função das condições de armazenamento.

TABELA 4.3 - ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA AMOSTRAS SOMENTE FOLHAS. VARIÁVEL DEPENDENTE: UMIDADE (g. 100 g⁻¹).

FONTE	GL	SQ	QM	F	p
Modelo corrigido	47	412,748 ^a	8,782	54,38	0,000
Coeficiente linear	1	2762,677	2762,677	17106,37	0,000
Método	1	12,566	12,566	77,81	0,000
Tempo	5	276,001	55,200	341,80	0,000
Temperatura	1	25,846	25,846	160,04	0,000
UR	1	45,519	45,519	281,85	0,000
Método*Tempo	5	17,190	3,438	21,29	0,000
Método*Temperatura	1	0,002	0,002	0,01	0,912 ^b
Tempo*Temperatura	5	3,693	0,739	4,57	0,001
Método*UR	1	0,835	0,835	5,17	0,025
Tempo*UR	5	13,187	2,637	16,33	0,000
Temperatura*UR	1	1,874	1,874	11,60	0,001
Método*Tempo*Temperatura	5	0,524	0,105	0,65	0,663 ^b
Método*Tempo*UR	5	8,491	1,698	10,51	0,000
Método*Temperatura*UR	1	0,420	0,420	2,60	0,110 ^b
Tempo*Temperatura*UR	5	2,799	0,560	3,47	0,006
Método*Tempo*Temperatura*	5	3,801	0,760	4,71	0,001
UR					
Erro	96	15,504	0,161		
Total	143	428,252			

^a R² = 0,964 (R² ajustado = 0,946)

^b não significativo a 95 % de confiança

Como houve diferença entre as umidades obtidas pelos métodos avaliados, os valores obtidos por micro-ondas foram confrontados com os resultados de umidade obtidos em estufa para verificação do tamanho e comportamento desta diferença entre os métodos. Diversos autores têm empregado o uso de correlações lineares entre as respostas de umidade usando diferentes métodos, conforme descrito por Chen (2003). Este tipo de representação pode ser verificado pela dispersão dos dados deste estudo na Figura 4.2 onde visualmente pode-se perceber que os dados se aproximam moderadamente da linearidade. Isto foi confirmado pela correlação de Pearson a 95 % de confiança, que resultou em valores de R=0,80 e R=0,81 para amostras folha/palito e somente folhas. A correlação linear entre as respostas são descritas pelas Equações 2 e 3.

$$MM(\%)_w = 0,8896 + 0,7882 * MC(\%) \quad (2)$$

$$MM(\%)_{w/o} = 0,9641 + 0,7574 * MC(\%) \quad (3)$$

onde $MM(\%)_w$ e $MM(\%)_{w/o}$ são o teor de umidade (%) das amostras de erva-mate folha/palito e somente folhas, respectivamente, e $MC(\%)$ é o conteúdo de umidade analisado pelo forno de convecção.

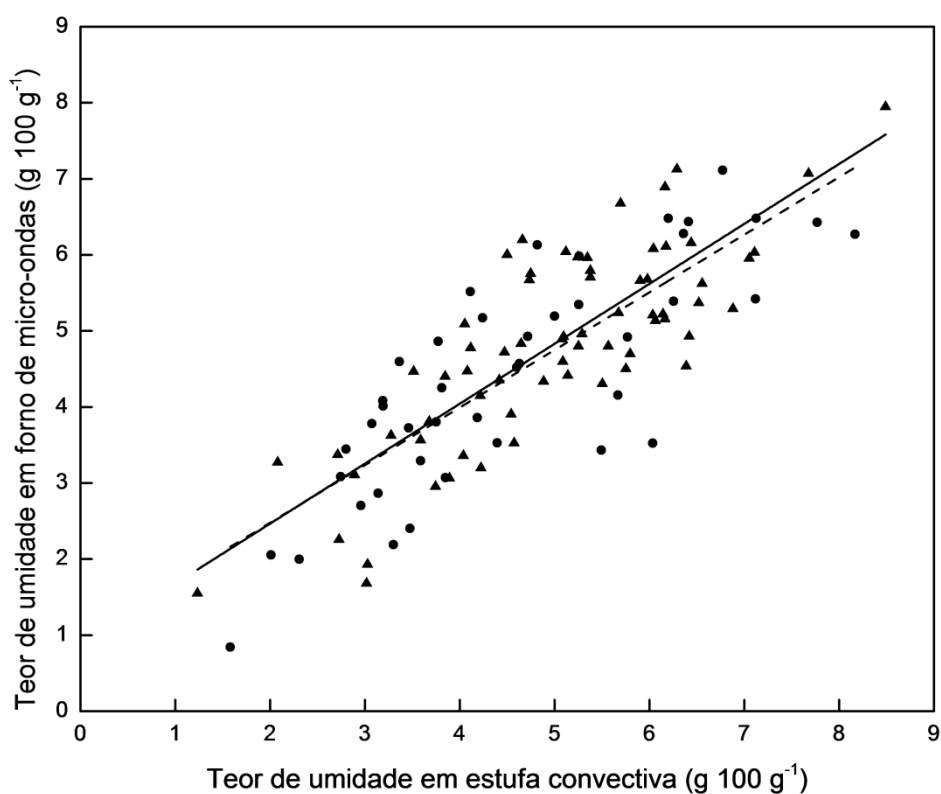


FIGURA 4.2 - CORRELAÇÃO DE PEARSON ENTRE A UMIDADE DA ERVA-MATE PELO MÉTODO ESTUFA (OFICIAL) E EM FORNO DE MICRO-ONDAS PARA AMOSTRAS DE FOLHA/PALITO (LINHA SÓLIDA, ▲) E SOMENTE FOLHAS (LINHA PONTILHADA, ●)

Apesar de existir certa correlação entre os métodos, não se pode afirmar que as equações que a representa sejam totalmente precisas. As equações para predição da umidade em micro-ondas representam as médias das faixas de amostragem. Como existe desvio na correlação entre os métodos, o erro médio obtido pelo método de micro-ondas deverá obrigatoriamente aumentar a

partir de um determinado ponto da reta (na faixa estudada). Neste caso, verificou-se que em média as equações devem predizer com maior exatidão valores de 4,20 % e 3,97 % de umidade para amostras folha/palito e somente folhas, respectivamente. Em outras palavras, estes pontos são os valores de umidade que se igualam nas equações para ambos os métodos avaliados. Valores de umidade pelo método estufa abaixo destes pontos tendem a apresentar em média desvios positivos em relação ao método de micro-ondas, enquanto valores acima destes pontos tendem a apresentar desvios negativos em média. Considerando a faixa de 0-10 % de umidade na erva mate, o erro médio absoluto máximo apresentado pelos modelos deve ser de 0,89 % e 1,23 % para amostras folha/palito e 0,96 e 1,46 % para amostras somente folhas, representando o limite inferior e superior desta faixa de umidade. Já os erros absolutos entre as medidas experimentais (dentro da faixa de umidade estudada) ficaram entre 0,03-1,34 % e 0,04-2,50 % de umidade para amostras com e sem palito, respectivamente, resultando em 0,66 e 0,83 % em média.

De acordo com Holtz *et al.* (2010), existem algumas limitações à secagem por micro-ondas de materiais vegetais, como a estrutura heterogênea do material em estudo, juntamente com a falta de homogeneidade do aquecimento do micro-ondas, podendo resultar no superaquecimento em algumas regiões de um produto alimentar, o que pode explicar em grande parte os resultados obtidos neste trabalho.

3.2 Espectros NIR

A média dos espectros originais obtidos são apresentados na Figura 4.3, destacando-se as bandas de água, com alta intensidade da absorção nas regiões de 8.333 cm^{-1} , 6.849 cm^{-1} e 5.181 cm^{-1} (MILLER, 2001; MURRAY, 1986). Foi possível observar uma boa homogeneidade em todos os espectros, portanto, segundo a investigação do espectro, a região espectral de $4.000\text{--}8500\text{ cm}^{-1}$ foi selecionada para construir o modelo PLS.

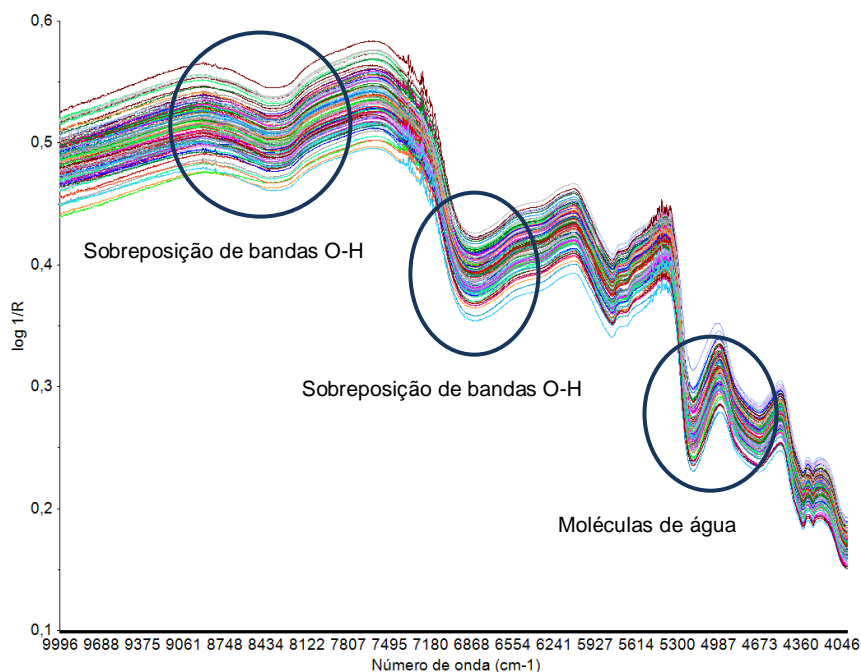


FIGURA 4.3 - MÉDIA DOS ESPECTROS ORIGINAIS DAS AMOSTRAS DE ERVA-MATE FOLHA/PALITO E SOMENTE FOLHAS.

3.3 Previsão da umidade por NIR

3.3.1 Modelos PLS

Os modelos PLS para quantificação do teor de umidade com todas as amostras de erva-mate (folha/palito e folhas) foram construídos separadamente, correlacionando dados espectrais com os valores de referência da umidade obtidos pelo método estufa (oficial) e dados espectrais com os valores da umidade obtidos pelo método micro-ondas. Foram desenvolvidos e avaliados os melhores modelos por meio de diferentes pré-tratamentos, número de variáveis latentes e verificação de amostras anômalas. Na Tabela 4.4 encontram-se os valores relevantes de calibração e validação internas obtidos.

TABELA 4.4 - MODELOS PLS PARA PREVER TEOR DE UMIDADE EM AMOSTRAS DE ERVA-MATE EM COMPARAÇÃO AOS VALORES OBTIDOS PELO MÉTODO OFICIAL (ESTUFA) E POR MICRO-ONDAS.

MÉTODOS E CONDIÇÕES	PRÉ-TRAT.	VLs	CALIBRAÇÃO		VALIDAÇÃO CRUZADA	
			R ²	RMSEC	R ²	RMSECV
Oficial (estufa) 105 °C/± 6 horas	1ª derivada	5	0,9754	0,7942	0,9622	0,9847
Micro-ondas 900 W/4,3 min	MSC + 1ª derivada	5	0,9730	0,7907	0,9584	0,9799

PRÉ-TRAT. = Pré-tratamento

VLs = Variáveis latentes

MSC = Correção do espalhamento de luz

NOTA: Os valores obtidos por RMSEC e RMSECV e seus respectivos R² são muito próximos para os dois casos (estufa e micro-ondas), portanto os valores foram apresentados com 4 casas decimais após a vírgula.

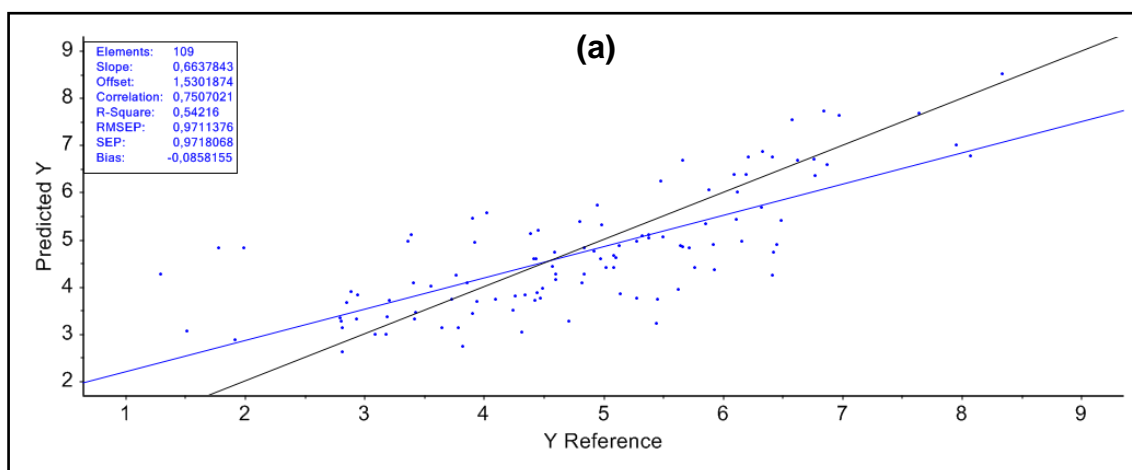
Os resultados de calibração e validação cruzada foram obtidos a partir de 5 VLs para ambos os modelos, apresentando boa exatidão, com valores semelhantes para o coeficiente de regressão (R²), RMSEC e RMSECV. Além da primeira derivada, foi aplicado o pré-tratamento MSC na etapa de calibração do modelo correlacionado com amostras analisadas pelo método micro-ondas (900 W/4,3 min). Porém, o aquecimento por micro-ondas se dá devido à interação da onda eletromagnética com o dipolo elétrico da molécula do material em análise, podendo alterar os compostos da matriz em estudo de forma diferente das alterações pelo aquecimento oficial (estufa), onde o calor é geralmente transferido a partir da superfície para o interior, por condução (ROSINI *et al.*, 2004), assim, dificultando ressaltar o teor de umidade das amostras por infravermelho, necessitando a aplicação do pré-tratamento MSC.

Ceni *et al.* (2009) investigaram a influência da energia do micro-ondas sobre a atividade oxidase e conteúdo de umidade em folhas de erva-mate. Utilizaram folhas de erva-mate cultivadas sob alta e baixa intensidade de luz. Segundo os autores, o polifenol oxidase foi inativada após 30 segundos (s) de tratamento com micro-ondas das amostras expostas a alta e baixa intensidade de luz. Em amostras expostas a luz de baixa intensidade, a atividade da peroxidase foi reduzida para cerca de 60 % depois de 120 s. A exposição de

erva-mate à energia de micro-ondas durante 220 s resultou em o teor de umidade requerido pelo processo de fabrico. Esmelindro *et al.* (2004) observaram um aumento no teor dos compostos químicos (cafeína, teobromina, fitol e vitamina E) usando o método de secagem por micro-ondas em folhas de erva-mate. Gulati *et al.* (2003) encontraram maiores valores de catequinas e polifenóis em chá verde aplicando a técnica de micro-ondas quando comparado pelo método convencional (estufa).

Quando os modelos foram aplicados para prever o teor de umidade nas 109 amostras na etapa de validação externa (amostras não utilizadas na etapa de calibração do modelo), obteve-se um coeficiente de regressão de 0,54, um erro médio relativo de 0,75 % e RMSEP de 0,97 correlacionando com os dados de predição com os valores obtidos pela estufa (Figura 4.4 (a)), um coeficiente de regressão de 0,42, um erro médio relativo de 0,66 % e RMSEP de 1,08 correlacionando os dados preditos com os valores obtidos pelo micro-ondas (Figura 4.4 (b)).

A maior discordância entre o valor predito e o valor experimental foi obtido a partir dos resultados por micro-ondas, como pode ser observado na Figura 4.4 (a) e (b), onde a linha azul é a linha de regressão para previsão real obtida e a linha preta seria a ideal para previsão ao correlacionar as amostras preditas com as de referência.



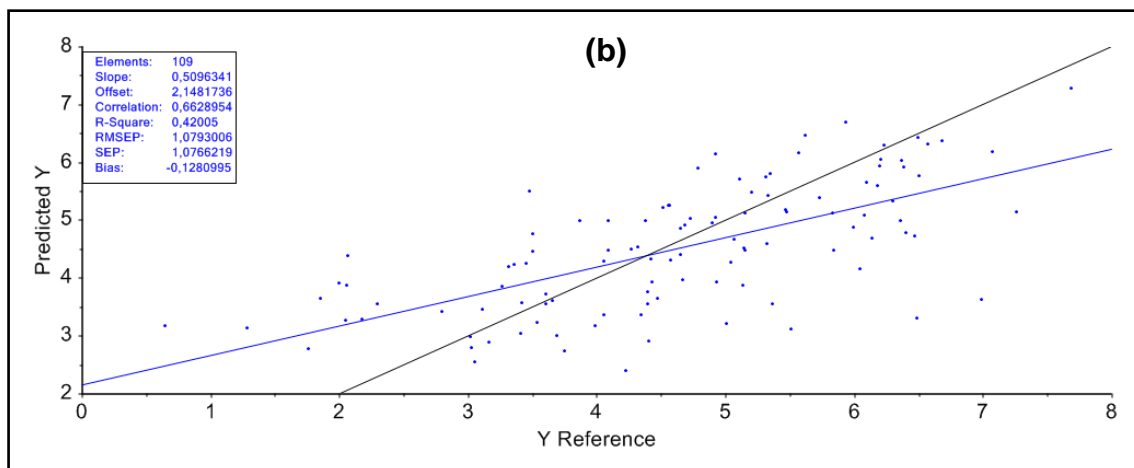


FIGURA 4.4 - PREDIÇÃO POR PLS DO TEOR DE UMIDADE EM AMOSTRAS DE ERVA-MATE (FOLHA/PALITO E SOMENTE FOLHAS). OBTIDO POR: (a) MÉTODO ESTUFA (OFICIAL) E (b) MICRO-ONDAS.

O principal motivo atribuído para a baixa previsão está relacionado a não homogeneidade das amostras de erva-mate cancheada (seca e fragmentada), folha/palito e somente folhas, armazenadas por um longo período de tempo, sob temperatura e umidade relativa variadas. Desta forma, pode-se dizer que o modelo atual não está pronto a ser implementado em um contexto real em linha de produção, quando utilizando amostras de erva-mate cancheada (fragmentada), armazenada pela empresa. Diferente do trabalho anterior observado (Mazur *et al.*, 2014) com amostras de erva-mate moída (pó) com teor de umidade entre 6 a 10 g.100g⁻¹, obtendo modelo multivariado, aplicando o pré-tratamento MSC com três variáveis latentes com um erro de previsão média de cerca de 2,5 %.

3.3 Avaliação da umidade (estufa) da erva-mate nas diferentes condições de armazenamento

A erva-mate não pode ser armazenada sob condições ambientais durante um longo período de tempo sem considerável perda de qualidade, o que ocorre devido à presença de umidade e de oxigênio (TEIXEIRA NETO, 2002). A oxidação mais rápida das clorofilas origina, por consequência, um produto de coloração amarelada não apreciada pelo consumidor brasileiro, mas uma exigência dos principais mercados importadores do Brasil, Uruguai,

Argentina e Paraguai (TEXEIRA NETO, 2002). Por esse motivo, a empresa fornecedora das amostras as armazena por um longo período (condições ANI e AAI) para obter as características desejáveis para exportação. Na Figura 4.5 pode-se observar o comportamento das amostras armazenadas na empresa em relação ao teor de umidade obtidas pelo método oficial *versus* o tempo de armazenamento.

As amostras ANI coletadas apresentaram comportamento semelhante em relação o teor de umidade, que permaneceu entre 6 a 6,8 g.100g⁻¹ durante os 180 dias de armazenamento. O produto AAI, por sua vez, apresentou um teor de umidade maior nos primeiros 30 dias do armazenamento, mas após 60 dias de armazenamento sofreu redução mantendo-se assim até o final do controle (4 a 5,5 g.100g⁻¹).

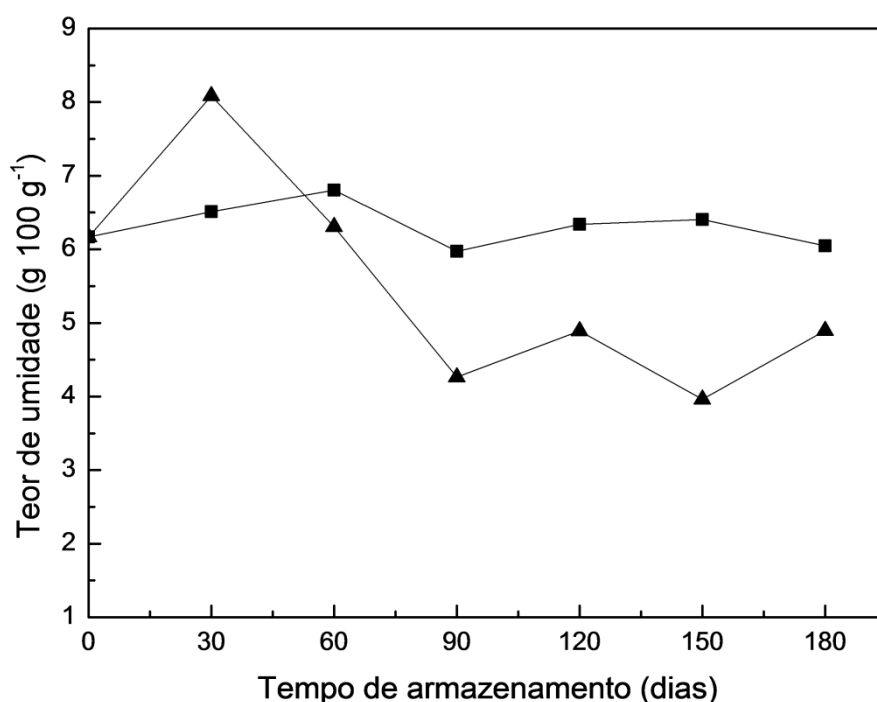
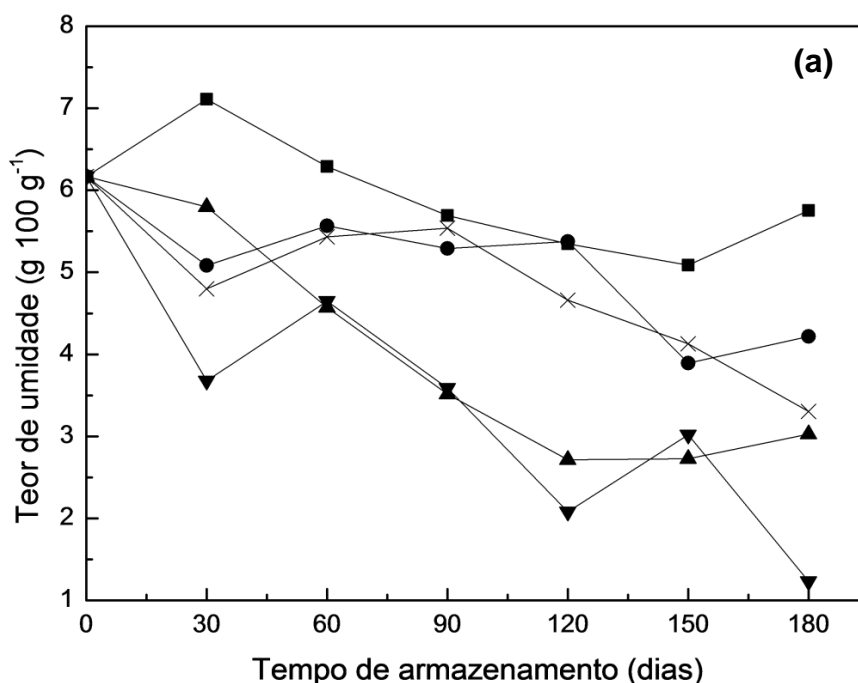


FIGURA 4.5 - TEOR DE UMIDADE DURANTE O ARMAZENAMENTO DA ERVAMATE FOLHA/PALITO ARMAZENADA SOB AS CONDIÇÕES ANI (18 °C/81 UR (■)) E AAI (45 °C/31 UR (▲)).

Pode ser observado na Figura 4.6(a) e 4.6(b) a variação de umidade das amostras de erva mate folha/palito e somente folhas armazenadas em AAL por 180 dias. A erva-mate folha/palito (Figura 4.6(a)) sob condições de UR mais elevada (32 °C/50 % UR) manteve-se com umidade em torno de 6 g.100g⁻¹.

Todas as outras condições resultaram numa diminuição no teor de umidade, mais acentuada sob a condição, 48 °C/10 % UR, já nos primeiros 30 dias ocorreu uma diminuição de 6 para 3,5 g.100g⁻¹ e finalizando com teor de umidade próximo a 1 g.100g⁻¹. Esta baixa umidade está relacionada a uma baixa atividade de água ($a_w = 0,1$ para UR=10 %) onde a matriz do alimento está exposta a maior alteração por oxidação dos seus componentes (LABUZA *et al.*, 1970).

Como ilustrado na Figura 4.6(b), ocorreu um declínio acentuado e de forma mais homogênea no teor de umidade nas amostras de erva somente folhas, que apresentaram praticamente o mesmo comportamento durante o período de armazenamento, enquanto que a erva-mate folha/palito apresentou maior variabilidade no perfil de umidade. Esta variação nos resultados pode ser atribuída ao fato de que os palitos possuem uma estrutura celular diferente das folhas, tanto em tamanho e forma quanto em composição química e disposição física celular (TAMASI *et al.*, 2007). Portanto, pode ser um dos fatores responsáveis pela suavidade do sabor da erva-mate processada.



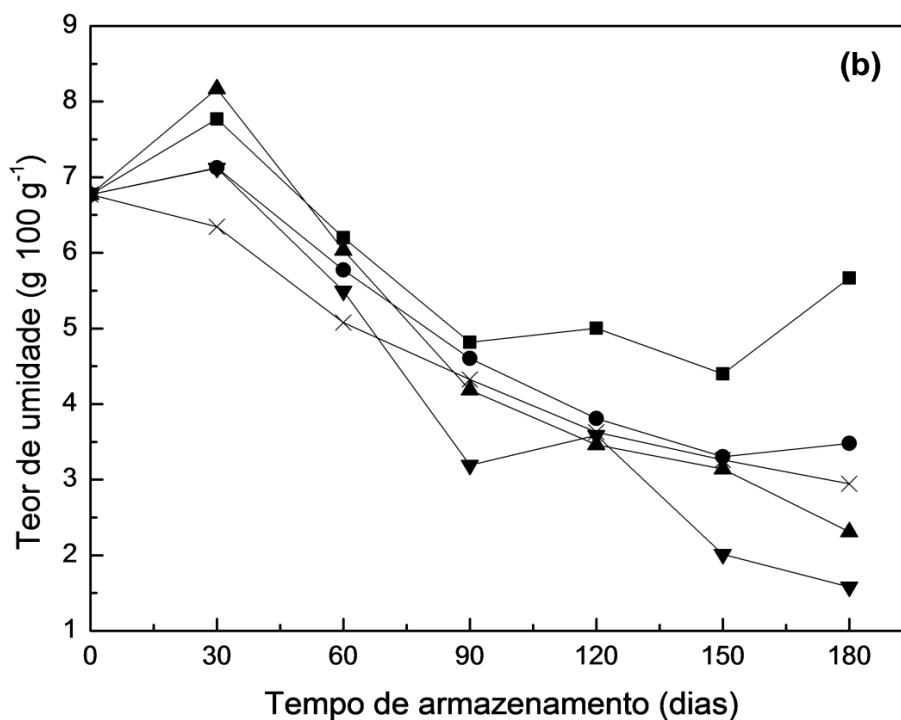


FIGURA 4.6 - TEOR DE UMIDADE DURANTE O ARMAZENAMENTO PARA O ACONDICIONAMENTO AAL. (a) ERVA-MATE COM PALITO E (b) ERVA-MATE SEM PALITO: 32 °C/50 % UR (■), 48 °C/50 % UR (●), 32 °C/10 % UR (▲), 48 °C/10 % UR (▼) E 40 °C/30 % UR (x).

Embora o armazenamento sobre condições controladas seja fator crucial na manutenção da qualidade e aumento do período de conservação do mate, dados a respeito da umidade desta matéria prima como resultado das condições de armazenamento são escassos na literatura, razão pela qual destaca-se a importância da investigação conduzida na presente pesquisa.

4 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos sugerem que o uso de aparelho convencional de micro-ondas é uma técnica promissora na predição rápida da umidade de amostras de erva-mate processada. A avaliação dos resultados obtidos por forno micro-ondas revelou um tempo substancialmente mais curto de análise (4,3 min em comparação com cerca de 6 horas pelo método estufa) ao se utilizar uma potência de 900 W. Não houve diferença significativa entre as médias obtidas pelos dois métodos, que apresentaram uma correlação linear

acima de 0,80. Sugere-se que um estudo mais aprofundado deva ser realizado para melhorar a previsibilidade do teor de umidade para as amostras de erva-mate cancheada (fragmentada) empregando a técnica NIR, considerando o efeito causado pela não homogeneidade das amostras. O comportamento do teor de umidade nas amostras no período de armazenamento (180 dias) nas condições ANI e AAI foi de 4,5 a 6,5 g.100g⁻¹, enquanto as amostras armazenadas sob a condição AAL apresentaram resultados entre 1 a 6 g. 100g⁻¹.

REFERÊNCIAS

ALIBAS-OZKAN, I.; AKBUDAK, B.; AKBUDAK, N. Microwave drying characteristics of spinach. **Journal of Food Engineering**, v.78, n.2, p. 577–583, 2007.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - RDC nº 303, de 07 de novembro de 2002. **Aprova o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade do Composto de Erva-Mate**, 2002.

ARÇARI, D.P.; BARTCHEWSKY, W.; dos SANTOS, T.W.; OLIVEIRA, K.A.; FUNCK, A.; PEDRAZZOLI, J.; de SOUZA, M.F.; SAAD, M.J.; BASTOS, D.H.; GAMBERO, A.; CARVALHO, P. de O.; RIBEIRO, M.L. Antiobesity effects of yerba mate extract (*Ilex paraguariensis*) in high-fat diet-induced obese mice. **Obesity**, v. 17, p.2127-233, 2009.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official methods of the AOAC International**, 18th ed. Maryland: AOAC, 2005.

BAL, L.M.; KAR, A.; SATYA, S.; NAIK, S. N. Drying kinetics and effective moisture diffusivity of bamboo shoot slices undergoing microwave drying. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 45, n.11, p.2321–2328, 2010.

CENI, G.C.; BALDISSERA, E.M.; PRIMO, M.S.; ANTUNES, O.A.C.; DARIVA, C.; OLIVEIRA, J.V.; OLIVEIRA, D. Influence of application of microwave energy on quality parameters of mate tea leaves (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). **Food Technology and Biotechnology**, v. 47, n.2, p. 221–226, 2009.

CHEN, C. Evaluation of air oven moisture content determination methods for rough rice. **Biosystems Engineering**, v.86, n. 4, p. 447–457, 2003.

DADALI, G.; APAR, D.K.; ÖZBEK, B. Microwave drying kinetics of okra. **Drying Technology**, v. 25, n.5, p. 917–924, 2007.

EL-SAYD, N.I.; MAKAWY, M.M. Comparison of methods for determination of moisture in food. **Research Journal of Agriculture and Biological Sciences**, v. 6, n.6, p.906-911, 2010.

ESMELINDRO, A.A.; GIRARDI, J.S.; MOSSI, A.; JACQUES, R.A.; DARIVA, C. Influence of agronomic variables on the composition of mate tea leaves (*Ilex paraguariensis*) extracts obtained from CO₂ extraction at 30 °C and 175 bar. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, p.1990-1995, 2004.

FILIP, R.; DAVICINO, R.; ANESINI, C. Antifungal activity of the aqueous extract of *Ilex paraguariensis* against *Malassezia furfur*. **Phytotherapy Research**, v. 24, n.5, p. 715-719, 2010.

GARCIA, L.G.C.; VENDRUSCOLO, F.; SILVA, F.A. determinação do teor de água em farinhas por micro-ondas. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**,v.16, n.1, p.17-25, 2014.

GULATI, A.; RAWAT, R.; SINGH, B.; RAVINDRANATH, S.D. Application of microwave energy in the manufacture of enhanced-quality green tea. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.51, p. 4764-4768, 2003.

HOLTZ, E.; AHRNÉ, L.; RITTENAUER, M.; RASMUSON, A. Influence of dielectric and sorption properties on drying behaviour and energy efficiency during microwave convective drying of selected food and non-food inorganic materials. **Journal of Food Engineering**, v. 97, p.144–153, 2010.

LABUZA, T.P.; TANNERNBAUM, S.R.; KAREL, M. Water content and stability of low moisture and intermediate moisture foods. **Food Technology**, v. 24 p.543-550, 1970.

MARTINS, F.; SUZAN, A.J.; CERUTTI, S.M.; ARÇARI, D.P.; RIBEIRO, M.L.; BASTOS, D.H.; CARVALHO, P.de O. Consumption of mate tea (*Ilex paraguariensis*) decreases the oxidation of unsaturated fatty acids in mouse liver. **British Journal of Nutrition**,v.101, n.4, p. 527-32, 2009.

MAZUR, L.; OLIVEIRA, G.A.; BICUDO, M.O.P.; RIBANI, R.H.; NAGATA, N.; PERALTA-ZAMORA, P. Multivariate calibration and moisture control in yerba mate by near infrared spectroscopy. **Acta ScientiarumTechnology**, v. 36, n.2, p. 369-374, 2014.

MILLER, CH.E. **Chemical Principles of Near Infrared Technology, in Near Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries**, 2nd edn., ed. by P.C. Williams, K.H. Norris (American Association of Cereal Chemist, USA), p. 19-39, 2001.

MOTTA, O.C.L.; ALVES, C.E.S.; PEREIRA, N.C.; MENDES, E.S. “**Isotermas de Equilíbrio para Celulose do Tipo Fibra Longas**”. Anais do XIV Congresso Brasileiro de Engenharia Química (COBEQ), Natal-BR, 2002.

MORGANO, M.A.; FARIA, C.G.; FERRÃO, M.F.; BRAGAGNOLO, N.; FERREIRA, M.M.C. Determination of moisture in raw coffee by near infra-red reflectance spectroscopy and multivariate regression. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.28, n.1, p. 12-17, 2008.

MURRAY, I. **The NIR spectra of homologous series of organic compounds, in Proceedings of the International NIR/NIT Conference**, ed. by J. Hollo, K.J. Kaffka, J.L. Gonczy, Akademiai Kiado, Budapest, 1986, p.13–28.

PUANGPRAPHANT, S.; BERHOW, M.A.; de Mejia, E.G. Mate (*Ilex paraguariensis* St Hilaire) saponins induce caspase-3-dependent apoptosis in human colon cancer cells *in vitro*. **Food Chemistry**, v. 125, p.1171-1178, 2011.

ROSINI, F.; NASCENTES, C.C.; NÓBREGA, J.A. Experimentos didáticos envolvendo radiação microondas. **Química Nova**, v.27, n.6, p.1012-1015, 2004.

SINIJA, V.R.; MISHRA, H.N. FTNIR spectroscopic method for determination of moisture content in green tea granules. **Food Bioprocess Technology**, v. 4, p. 136–141, 2011.

TAMASI, O.P.; FILIP, R.; FERRARO, G.; CALVIÑO, A.M. Total Polyphenol Content and Perceived Astringency of Yerba Mate "*Ilex paraguariensis*" Infusions. **Journal of Sensory Studies**, v. 22, p. 653-664, 2007.

TEXEIRA NETO, R.O. Alterações na qualidade de frutas e hortaliças desidratadas durante a estocagem. **Desidratação de Frutas e Hortaliças**. Campinas: ITAL, 2002, p. 8.1-8.9.

VEILLET, S.; TOMAO, V.; VISINONI, F.; CHEMAT, F. New and rapid analytical procedure for water content determination: Microwave accelerated Dean–Stark. **Analytica Chimica Acta**, v. 632, n.2, p. 203–207, 2009.

CAPÍTULO 5

APLICAÇÃO DE MÉTODOS MULTIVARIADOS PARA AVALIAR A ACEITAÇÃO DO CONSUMIDOR DE GOMA DE MASCAR SEM AÇÚCAR A BASE DE ERVA-MATE VERDE, ESTACIONADA E TOSTADA

RESUMO

A erva-mate (*Ilex paraguariensis*) é diariamente consumida na América do Sul sob forma das bebidas chimarrão, tererê e chá mate. Esta prática está relacionada com o expressivo valor funcional da erva-mate, o qual vem sendo visado por outros países não consumidores das bebidas por conta do interesse no desenvolvimento de novos produtos. Unindo o sabor do mate aos constituintes da matéria prima da goma de mascar, formulou-se uma apresentação prática e atrativa de utilização do mate. O presente estudo avaliou a aceitação de consumidores (n = 105) deste novo produto, goma de mascar *diet* elaborada com erva-mate beneficiada (verde, estacionada e tostada) e aromatizante (camomila, laranja e maçã-verde), totalizando 9 formulações. A maior parte dos consumidores (83,8 %) declarou consumir algum produto à base de erva-mate. A análise de componentes principais (PCA) demonstrou que as duas primeiras dimensões foram capazes de explicar 51,12 % da variabilidade das respostas dos participantes no estudo em relação à apreciação das gomas de mascar, gerando-se dois grupos de aceitação, um deles formado pelas gomas de mascar com erva verde e estacionada e tostada, ambas com aroma de camomila, e o segundo e maior grupo, formado por gomas de mascar com erva verde, estacionada e tostada, porém com aromas de laranja e maçã-verde. A segmentação dos consumidores, realizada com base na aceitação, gerou três grupos: o segmento 1, composto por 35 indivíduos com faixa etária entre 18 e 35 anos, em sua maior parte mulheres (54 %), com nível de escolaridade pós-graduação; o segmento 2, que possui 45 indivíduos, também com predomínio de mulheres (77 %), com idade entre 18 e 25 anos, cursando ensino superior;

segmento 3, composto de 28 pessoas, em sua maioria homens, com faixa etária maior que 25 anos e com curso superior incompleto. Verificou-se que no segmento 1 os produtos tiveram baixa aceitação, no segmento 2, a maior aceitação foi para as gomas com erva estacionada com sabor laranja e maçã-verde, e no segmento 3, os indivíduos apreciaram a maior parte das gomas, menos as com erva tostada. Para finalizar, a análise aglomerativa hierárquica (HCA) indicou que há possibilidade de comercialização dos produtos selecionados no estudo.

Palavras-chave: erva-mate, goma de mascar, análise sensorial, métodos multivariados.

ABSTRACT

Yerba mate is consumed daily in South America in the form of three drinks called "chimarrão", "mate" and "tererê". This practice is related to the significant functional value of mate, reason why this plant has attracted the interest of other countries that do not traditionally consume these beverages with the purpose of developing new products. In the current study, a practical and attractive presentation of use of mate in chewing gums was formulated, joining the flavor ascribed to yerba mate and the constituents of the raw material of the chewing gum. The consumer acceptance (n = 105) regarding this new product, a diet chewing gum benefited from the properties of mate (green, parked and toasted) and flavorings (chamomile, orange and green apple) was assessed totaling 9 formulations. Most consumers (83.8 %) reported the consumption of some product based on yerba mate. The principal component analysis (PCA) indicated that the first two dimensions were able to explain 51.12 % of the variability of the participants' responses in relation to how much they liked the chewing gum, forming two acceptance groups. The former group was composed of chewing gums with green mate or parked and toasted mate, both with chamomile aroma, and the second and larger group was formed of chewing gums with green or parked and toasted yerba mate, however added of orange and green apple aromas. The segmentation of

consumers, carried out based on acceptance tests, generated three groups: segment 1 consists of 35 individuals composed mostly by women (54 %) aged between 18-25 years with graduation as education level; segment 2, containing 45 individuals, mostly women (77 %), aged between 18 and 25 years, with higher education level; and segment 3, composed of 28 individuals, mostly men, with age greater than 25 years and with incomplete higher education. Group 1 was characterized by low consumer acceptance; group 2 had higher acceptance for the chewing gums of parked mate flavored of orange and green apple; the products from group 3 were highly appreciated, except for those made of toasted mate. Finally, the hierarchical cluster analysis (HCA) indicated the possibility of marketing the products selected in this research.

Keywords: Yerba mate, chewing gum, sensory analysis, multivariate methods.

1 INTRODUÇÃO

O interesse em erva-mate tem aumentado nos últimos anos, sendo estendida a outras regiões do mundo, onde é usada em fitoterápico e preparações cosméticas ou como ingrediente alimentar (LUNCEFORD e GUGLIUCCI, 2005; SCHERER *et al.*, 2006; HECK e de MEJIA, 2007) e não apenas para o preparo da bebida chimarrão (infusão quente) e tererê (infusão gelada), conforme consumida em países da América do Sul ao longo dos séculos.

Devido à variedade de componentes bioativos, incluindo os ácidos fenólicos, flavonóides, xantinas, saponinas e minerais (HECK e de MEJIA, 2007), a matriz erva-mate tem sido referenciada como benéfica à saúde humana em decorrência de suas propriedades antioxidantes (GUGLIUCCI e STAHL, 1995; GUGLIUCCI, 1996), hepatoprotetora (GORZALCZANY *et al.*, 2001), diurética (MAZUCHOWSKI, 1991), anti-inflamatória (PUANGPRAPHANT e de MEJIA, 2009), antimicrobiana (CARELLI *et al.*, 2011) e anti-obesidade (ANDERSEN e FOGH, 2001). Estes benefícios à saúde alavancam o desenvolvimento de novos produtos que auxiliariam na expansão

da indústria ervateira no Brasil, Argentina e Paraguai, onde erva-mate de qualidade é de fácil obtenção. Sabe-se ainda que cada vez é maior a demanda por produtos naturais e com boa palatabilidade, o que é um requisito difícil de ser alcançado na matéria prima em questão devido ao elevado teor de polifenóis com residual amargo e presentes na matriz de erva-mate, lembrando que quando se trata de novos produtos de sucesso, o consumidor é o juiz final (BROWN e EISENHARDT, 1995).

Segundo Dodds (2012), a goma de mascar sem açúcar previne doenças dentárias e pode ser considerado um dos métodos preventivos anti-cárie mais tradicionais. Para Stocket (2008) o uso de goma de mascar promove uma “auto limpeza” da cavidade oral, seja pelo aumento do fluxo salivar ou pelo estímulo mecânico dos músculos da mastigação e língua, o que conseqüentemente gera um efeito preventivo à cárie. Levando em conta essas considerações, a goma de mascar à base de erva-mate seria uma possibilidade inédita para a utilização dos compostos fenólicos encontrados na erva-mate. Este produto de forma simples e prática aumentará a oferta de novos produtos e sabores com erva-mate, popularizando seu consumo em regiões que não possuem o hábito do consumo do mesmo.

Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo investigar a aceitação de consumidores em relação a gomas de mascar *diet* elaboradas com erva-mate beneficiada de três formas (verde, estacionada e tostada) e adicionada de diferentes aromas (camomila, laranja e maçã verde), aplicando métodos multivariados, análise de componentes principais (PCA) e análise aglomerativa hierárquica (HCA) para fins de avaliação sensorial.




2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2 Processamento da erva-mate

As amostras de erva-mate foram fornecidas por uma empresa ervateira localizada no sudeste do estado do Paraná, Brasil. Após o processamento industrial padrão da empresa (sapeco, pré-secagem, secagem e

cancheamento), as amostras foram beneficiadas (verde, estacionada e tostada) de acordo com as descrições da Tabela 5.1.

TABELA 5.1- DESCRIÇÃO DAS AMOSTRAS.

BENEFICIAMENTO/ ERVA-MATE	CONDIÇÕES DO PROCESSAMENTO
 Verde	O produto foi armazenado em condições naturais - temperatura em torno de 18 °C e umidade relativa de 80 % - durante 9 meses.
 Estacionada	O produto foi armazenado sob condições controladas de temperatura, 45 °C, e de umidade, 31 %, com circulação de ar durante 90 dias.
 Tostada	Por fim, a erva foi submetida ao processo de tostagem, durante o qual é tratada a 150 °C por 10 minutos.

Em seguida, as amostras foram moídas em um moinho de facas, tipo *Willey*, em partículas iguais ou menores do que a malha de 100 *mesh* e armazenadas em embalagens de polipropileno sob refrigeração. O uso dos diferentes tipos de erva beneficiada pretendeu abranger a preferência dos consumidores por erva-mate, que inclui o sabor amargo mais pronunciado (erva-verde), o sabor amargo mais suave acompanhado de cor amarelo-ouro (erva-estacionada) e a erva-tostada, conforme consumida no mercado brasileiro sob a forma de chá.

2.3 Elaboração de goma de mascar

Foram desenvolvidas nove formulações de goma de mascar sem açúcar com adição de erva-mate (verde, estacionada e tostada) e dos aromas de camomila, laranja e maçã-verde, separadamente. As formulações foram preparadas misturando os seguintes ingredientes: goma base, xarope maltitol,

glicerina, lecitina de soja, aspartame, sorbitol, os aromas citados e as diferentes ervas beneficiadas, conforme informação técnica da empresa Proaroma. Os ingredientes foram adicionados em uma misturadora, sendo a massa então moldada em extrusora em tabletes individuais (14 x 14 x 6 mm), resfriada e embalada conforme processo da Indústria Proaroma (Diadema, SP, Brasil), a que gentilmente cedeu as instalações para a obtenção dos produtos, seguindo as normas de higiene e segurança exigidas (BRASIL, 2002).

2.4 Seleção dos consumidores

Para o recrutamento de participantes consumidores, anúncios sobre o estudo foram enviados por email e exibidos no *campus* Centro Politécnico da Universidade Federal do Paraná (Curitiba, Brasil). Foi aplicado um questionário semi-estruturado para a obtenção de dados dos participantes (Anexo 1) incluindo gênero, idade, nível de instrução, hábito de consumo de gomas de mascar e de produtos com erva-mate, frequência no consumo desses produtos e estado de saúde do participante, conforme proposto por Ferreira *et al.*(2000).

2.4.1 Aplicação da avaliação sensorial

Os consumidores selecionados participaram da primeira sessão dos testes sensoriais avaliando cinco amostras em um dia e as quatro restantes no dia seguinte. Um tablete de cada formulação (aproximadamente 2 g) foi servido para os consumidores embalado e codificado separadamente com números de três dígitos aleatórios. Os consumidores foram instruídos a beberem água mineral entre o consumo das amostras a fim de “limpar seus paladares”.

Os consumidores avaliaram cada goma utilizando a escala hedônica para o teste de aceitação de nove pontos, que variam de “gostei extremamente” (9) a “desgostei extremamente” (1), conforme a NBR 14141 (ABNT, 1998), bem como a sua intenção de compra utilizando uma escala de 5 pontos cujas extremidades são de 1 (certamente compraria) e 5 (certamente não compraria o produto). A ordem de apresentação das amostras codificadas

seguiu um delineamento inteiramente equilibrado (MACFIE *et al.*,1989), do mais suave ao mais amargo, para evitar a contaminação sobre os efeitos. Os participantes foram incentivados a escrever comentários sobre as suas opiniões para auxiliar na melhor compreensão das pontuações auferidas.

A execução da avaliação sensorial do projeto de pesquisa foi previamente aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Setor de Ciência da Saúde da Universidade Federal do Paraná (Registro CEP/SD: 885.622, CAAE: 38764114.0.0000.0102).

2.5 Análise estatística

Dois métodos multivariados foram utilizados para a análise de dados: a análise de componentes principais (PCA) e a análise aglomerativa hierárquica (HCA). A PCA é uma técnica utilizada para reduzir a dimensionalidade de grandes conjuntos de dados sem perda de informação. Novas variáveis obtidas por combinações lineares das originais são calculadas de tal maneira a manter a maior parte das informações presentes nos dados originais fixadas com o menor número possível de novas variáveis ou componentes principais (PCs). A PCA também foi aplicada para a visualização de tendências de dados. A HCA, por sua vez, fornece meios para a classificação de uma determinada população em grupos (clusters), com base em medidas de similaridade ou de proximidade. A análise de variância (ANOVA) e o teste de média (Tukey a 5 %) foram aplicados para verificar a diferença entre os segmentos de consumidores. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa estatístico XLSTAT - Sensory 2014 (Addinsoft, France).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Características dos consumidores selecionados

Foram selecionados cento e cinco consumidores entre alunos de graduação, pós-graduação e funcionários da UFPR, de origem de várias

regiões do Brasil e exterior. A equipe de consumidores selecionada foi composta por 54,30 % de mulheres e 45,70 % de homens, sendo o grupo predominante composto de pessoas com idade entre 18 e 25 anos, dentre as quais 56,14 % do sexo feminino e 52,08 % do sexo masculino. Quanto à instrução, a maioria dos consumidores mulheres possuem grau de escolaridade de pós-graduação (49,12 %) e os homens possuem ensino superior incompleto (58,33 %). Dos participantes, 83,81 % declararam consumir produtos a base de erva-mate, principalmente na forma de chá mate (45,7 %).

TABELA 5.2 - CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS E HÁBITOS DE CONSUMO DA POPULAÇÃO DE CONSUMIDORES INQUIRIDOS (n =105).

CARACTERÍSTICAS	Nº CONS.	PERCENTUAL (%)	HÁBITO DE CONSUMO	Nº CONS.	PERCENTUAL (%)
Gênero			Goma de mascar		
F	57	54,30	Sim	94	89,52
M	48	45,70	Não	11	10,47
Faixa etária			Erva-mate		
18-25 anos	57	54,28	Sim	88	83,81
25-35 anos	42	40,00	Não	17	16,19
35-45 anos	04	3,80			
< 45 anos	02	1,90	Formas de produtos		
			Chimarrão		27,7
Nível de instrução			Tererê		25,9
Seg. grau inc.	02	1,90	Chá-mate		45,7
Sup. incomp.	54	51,43			
Sup. completo	04	3,81	Frequência/consumo		
Pós-graduação	45	42,86	1x ao dia	11	10,47
			2x ao dia	5	4,76
			1x na semana	19	18,09
			2 a 3x na semana	14	13,33
			A cada 15 dias	17	16,19
			1x ao mês	22	20,95

Seg. grau inc.= Segundo grau incompleto

Sup. incomp.= Superior incompleto

Sup. completo= Superior completo

3.2 Aceitação dos consumidores

Os dados de aceitação analisados pela técnica PCA demonstraram que as duas primeiras dimensões foram capazes de explicar 51,12 % da variabilidade das respostas dos participantes do estudo em relação ao quanto gostaram das gomas de mascar (Figura 5.1(a) e 5.1(b)). A PC1 (29,75 %) descreveu o máximo do espalhamento das amostras, sendo responsável pela explicação de grande parte da variância apresentada pelo conjunto. No entanto, a PC1 apenas não é suficiente para explicar o comportamento global deste conjunto de dados, sendo necessária uma segunda componente (PC2), a qual deve ser ortogonal a primeira e responsável pela explicação de uma parcela importante da variância observada.

A separação espacial das amostras de gomas de mascar sugere a formação de dois grupos com aceitações distintas (Figura 5.1(a)). No primeiro quadrante observa-se o grupo formado pelas gomas de mascar com erva verde, estacionada e tostada, ambas com aroma camomila, o qual pode definir como um grupo com preferência por amostras mais adocicadas; o segundo grupo, o maior deles e localizado no quarto quadrante, é formado pelas gomas de mascar com erva verde, estacionada e tostada, mas com aromas de laranja e maçã-verde.

A goma erva verde com aroma de maçã-verde possui uma particularidade: a localização desta amostra em termos de escores mostra que ela apresenta valores positivos da PC1, mas faz parte do grupo negativo da PC2 junto com as demais amostras, com aromas de laranja e maçã-verde. Esta amostra teve boa aceitação por ambos os grupos.

Na Figura 5.1(b) cada ponto representa as correlações entre os dados de aceitação de um consumidor com as duas primeiras PCs. Os consumidores correlacionados com pelo menos um dos componentes revelaram diferença na aceitação das amostras. A maioria dos consumidores situou-se no quarto quadrante, no espaço definido pelas amostras do segundo grupo (erva-mate verde, estacionada e tostada sabor laranja e maçã-verde), que representa uma preferência por estes produtos.

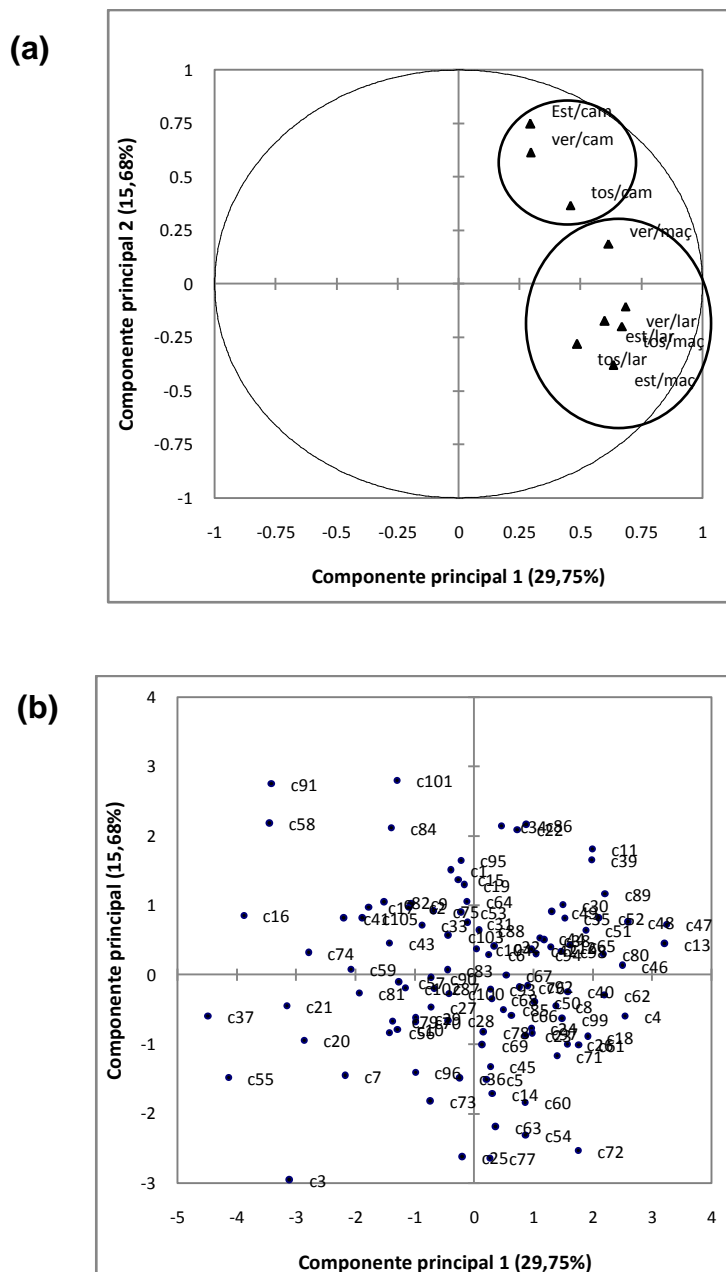


FIGURA 5.1 - ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA) DAS AMOSTRAS DE GOMAS DE MASCAR. (a) DISPERSÃO DAS AMOSTRAS EM RELAÇÃO À ACEITAÇÃO DOS CONSUMIDORES; (b) POSIÇÃO DOS CONSUMIDORES NO ESPAÇO DEFINIDO PELA PRIMEIRA E SEGUNDA DIMENSÃO.

3.3 Divisão e identificação dos clusters

Quando a análise de clusters foi aplicada, os consumidores foram agrupados em três segmentos (compostos por 35, 45 e 25 consumidores) cujo dendrograma pode ser visto na Figura 5.2, que evidencia a divergência de opiniões quanto à aceitação das gomas de mascar com diferentes sabores de mate e aromas.

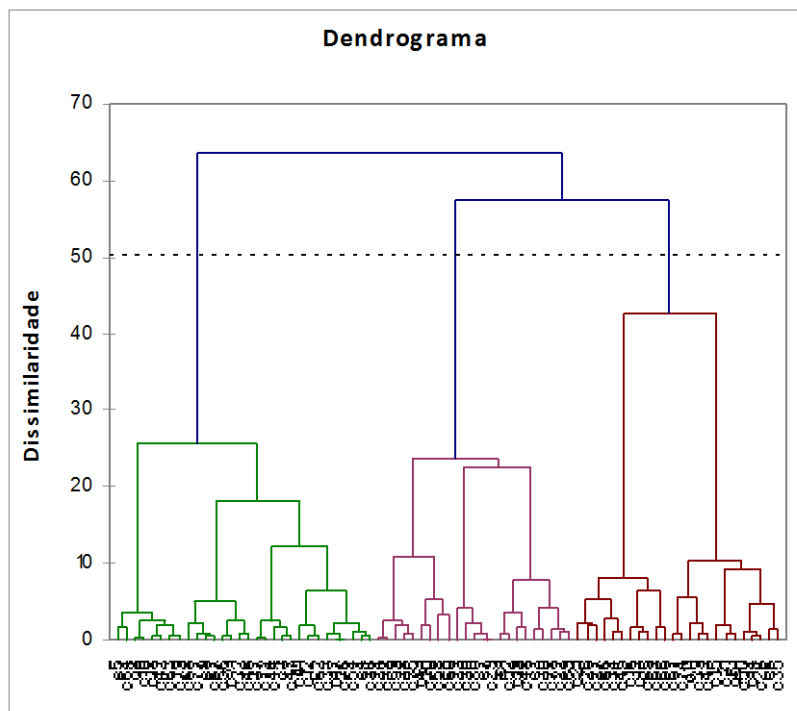
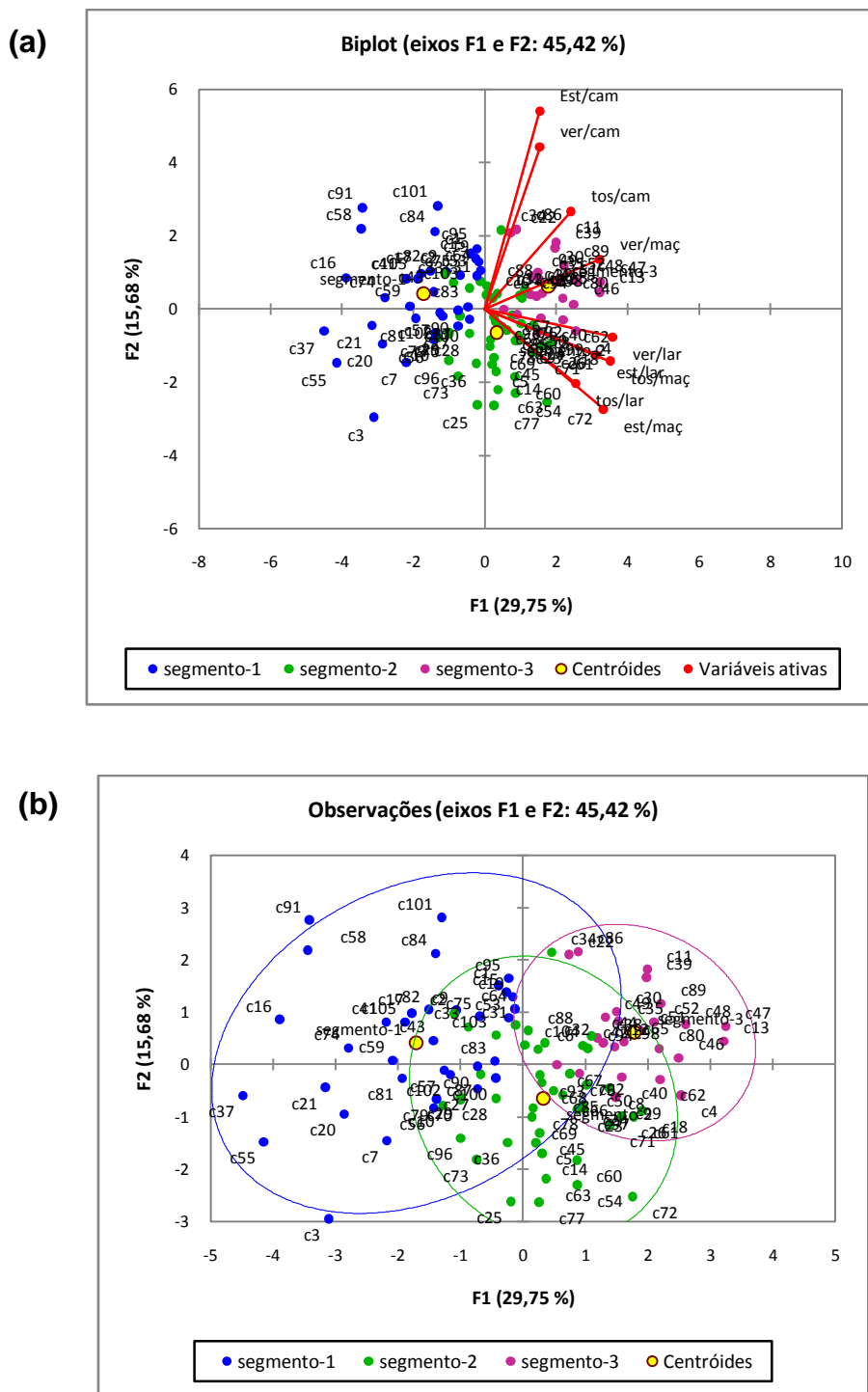


FIGURA 5.2 - DENDROGRAMA DOS CONSUMIDORES (n=105).

As Figura 5.3(a) e 5.3(b), por sua vez, representam os gráficos onde se concentram os consumidores, separados por segmentos, e as amostras. Verifica-se que no segmento 1 os indivíduos estão localizados em regiões opostas às das amostras, o que indica baixa aceitação dos produtos. No segmento 2, os indivíduos situam-se na região mais central do gráfico, apresentando aceitação apenas por algumas amostras. O segmento 3, situado no primeiro e quarto quadrantes, representa os consumidores com alto grau de aceitação em relação à maioria das amostras.



com nível de escolaridade pós-graduação. A maior parte consome gomas de mascar e também produtos com erva-mate como chimarrão, chá mate e tererê, sendo o chá mate o mais comum e mais frequente. Dentre todos os grupamentos este é o que contém o maior número de indivíduos que não consomem produtos com erva-mate (34 %), conforme Figura 5.3(a), provavelmente sendo esta a razão pela baixa apreciação do produto. Neste grupo nenhum dos produtos alcançou notas maiores que 7 (região de aceitação da escala hedônica).

No segmento 2 também houve predomínio de provadores mulheres (60 %) com idade entre 18 e 25 anos (77 %) cursando ensino superior. A maior parte destes indivíduos consome gomas de mascar e produtos com erva-mate, principalmente o chá mate, 1 vez na semana. Neste segmento as duas amostras que atingiram a região de aceitação foram as gomas com erva-mate estacionada tanto com aroma de laranja (7,244) quanto com aroma de maçã-verde (7,200), embora estatisticamente não tenham diferido de outras amostras.

No segmento 3 (28 pessoas), a maior parte dos indivíduos consistiu em homens com faixa etária maior que 25 anos e com curso superior incompleto. Estes indivíduos apreciaram a maior parte das gomas de mascar, exceto as elaboradas com erva-mate tostada (aroma camomila e maçã-verde). As demais amostras receberam notas satisfatórias de aceitação. Este foi o segmento que menos discriminou as amostras.

Sabe-se que a influência dos hábitos alimentares, atitudes, crenças e opiniões sobre escolha de alimentos é de particular importância para a aceitação ou rejeição de alimentos. Portanto, alguns consumidores mencionaram após a avaliação sensorial que as amostras com sabor mais acentuado da erva-mate são bem interessantes, com longa persistência do sabor mate, e acreditam que a questão é adaptar o gosto do consumidor a este tipo de sabor para que a comercialização tenha sucesso. Outros percebiam um sabor suave interessante nas amostras com erva-mate estacionada. Já as amostras com erva tostada lembrava o refrigerante coca-cola, chá mate tostado ou café para alguns consumidores, além disso, sua cor não foi muito apreciada.

TABELA 5.3 - MÉDIAS DA ACEITAÇÃO DE GOMAS DE MASCAR ELABORADAS COM ERVA-MATE E AROMATIZANTES POR SEGMENTO DE CONSUMIDORES.

AMOSTRAS	SEGMENTO 1 (n=35)	SEGMENTO 2 (n=45)	SEGMENTO 3 (n=25)
Estacionada/camomila (196)	5,771 ^{bcdef}	5,200 ^{ef}	7,040 ^{ab}
Verde/camomila (278)	6,029 ^{bcde}	5,667 ^{cdef}	7,640 ^a
Tostada/camomila (305)	4,714 ^{fg}	5,622 ^{cdef}	6,560 ^{abcd}
Estacionada/laranja (466)	6,257 ^{abcde}	7,244 ^a	7,440 ^a
Verde/laranja (532)	5,114 ^{efg}	6,733 ^{abc}	7,440 ^a
Tostada/laranja (206)	5,400 ^{def}	6,333 ^{abcd}	7,560 ^a
Estacionada/maçã-verde (447)	5,486 ^{def}	7,200 ^a	7,600 ^a
Verde/maçã-verde (168)	5,629 ^{cdef}	6,067 ^{bcde}	7,400 ^a
Tostada/maçã-verde (739)	3,943 ^g	6,822 ^{ab}	6,920 ^{ab}

Médias seguidas pela mesma letra na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. Escala hedônica estruturada de nove pontos, sendo 1: desgostei extremamente e 9: gostei extremamente. N=105

3.4 Intenção de compra

Com relação à intenção de compra das gomas de mascar (9 formulações), verificou-se que as amostras de modo geral foram aceitas pelos consumidores, uma vez que a maioria atribuiu a elas as notas 2 e 3, correspondentes a “possivelmente compraria o produto” e “talvez comprasse/talvez não comprasse” (Figura 5.4). A amostra 466 (goma a base de erva-estacionada com aroma laranja) teve maior intenção de compra, “certamente compraria” (29 %). O impacto visual do produto pode ter sido um dos fatores que contribuiu para as notas.

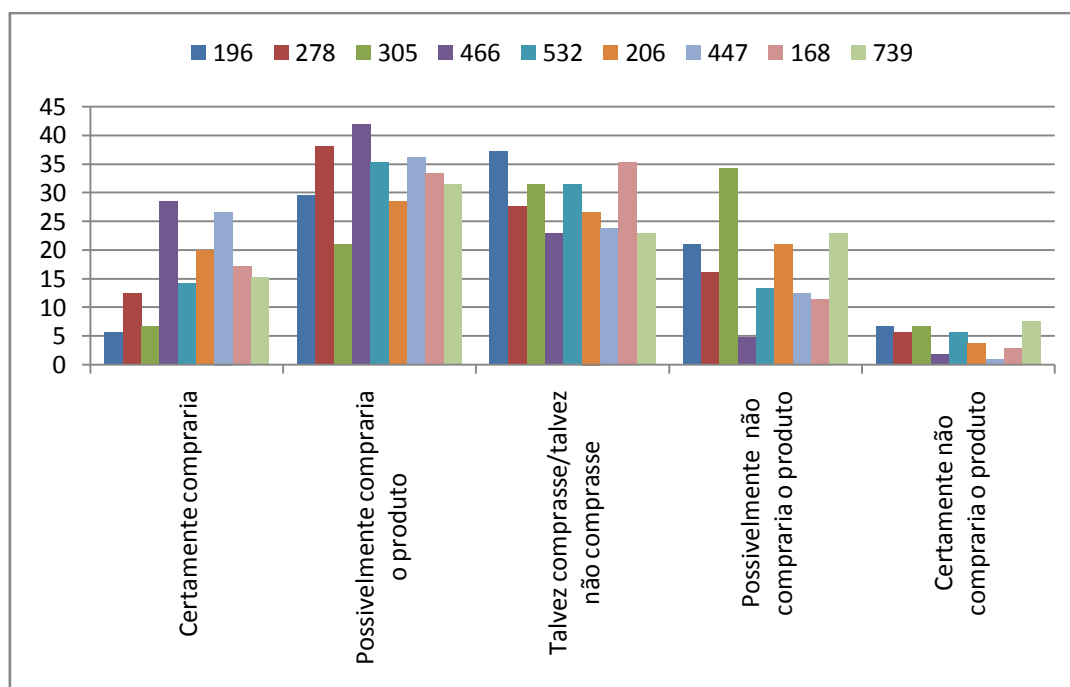


FIGURA 5.4 - ATITUDE DE COMPRA DOS PROVADORES EM RELAÇÃO ÀS GOMAS DE MASCAR. 1=CERTAMENTE COMPRARIA; 2=POSSIVELMENTE COMPRARIA O PRODUTO; 3=TALVEZ COMPRASSE/TALVEZ NÃO COMPRASSE; 4=POSSIVELMENTE NÃO COMPRARIA O PRODUTO E 5=CERTAMENTE NÃO COMPRARIA O PRODUTO.

4 CONCLUSÃO

A maior parte dos consumidores utiliza gomas de mascar e produtos com erva-mate, principalmente o chá-mate, predominante em todos os segmentos. Os produtos com maior aceitação foram as gomas de mascar elaboradas com erva-mate estacionada e aromatizadas com laranja e maçã-verde, respondendo por 67 % do total de aceitação. A análise aglomerativa hierárquica possibilitou um conhecimento mais detalhado dos segmentos de consumidores, gerando informações que podem ser utilizadas de maneira estratégica pelo setor produtivo no desenvolvimento desses produtos.

REFERÊNCIAS

ANDERSEN, T.; FOGH, J. Weight loss and delayed gastric emptying following a South American herbal preparation in overweight patients. **Journal of Human Nutrition and Dietetics**, v.14, p.243-250, 2001.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS E TÉCNICAS (ABNT). NBR 14141. **Escalas utilizadas em análise sensorial de alimentos e bebidas**. Rio de Janeiro, 1998.

BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução RDC n. 275, de 21 de outubro de 2002. Dispõe sobre o “**Regulamento Técnico de Procedimentos Operacionais Padronizados aplicados aos estabelecimentos produtores/industrializadores de alimentos e a lista de verificação das Boas Práticas de Fabricação em estabelecimentos produtores/industrializadores de alimentos**”. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 06 nov. 2002

BROWN, S.L.; EISENHARDT, K.M. Product development: past research, present findings, and future directions. **Academy of Management Review**, v. 20, n.2, p. 343–378, 1995.

CARELLI, G.; MACEDO, S.M.D.; VALDUGA, A.T.; CORAZZA, M.L.; OLIVEIRA, J.V.; FRANCESCHI, E.; VIDAL, R.; JASKULSKI, M.R. Avaliação preliminar da atividade antimicrobiana do extrato de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St. - Hil.) obtido por extração com CO₂ supercrítico. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.13, n.1, p. 110-115, 2011.

DODDS, M.W.J. The oral health benefits of chewing gum. Peer-reviewed **Journal of the Irish Dental Association**, v. 58, n.5, p. 253-261, 2012.

FERREIRA, V.L.; ALMEIDA, T.C.A.; PETTINELLI, M.L.C.; SILVA, M.A.A.P.; CHAVES, J.B.P.; BARBOSA, E.M. **Análise Sensorial de Testes Discriminativos e Afetivos**. Campinas: SBCTA, 2000. (Manual: Série Qualidade).

GORZALCZANY, S.; FILIP, R.; ALONSO, M.R.; MINÓ, J.; FERRARO, G.E.; ACEVEDO, C. Choleric effect and intestinal propulsion of ‘mate’ (*Ilex paraguariensis*) and its substitutes or adulterants. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 75, p. 291–294, 2001.

GUGLIUCCI, A. Antioxidant effects of *Ilex paraguariensis*: induction of decreased oxidability of human LDL in vivo. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 224, p. 338–44, 1996.

GUGLIUCCI, A.; STAHL, A.J. Low density lipoprotein oxidation is inhibited by extracts of *Ilex paraguariensis*. **Biochemistry and Molecular Biology International**, v. 35, p. 47-56, 1995.

HECK, C.I.; MEJIA, E.G. Yerba Mate tea (*Ilex paraguariensis*): A Comprehensive review on chemistry, health implications, and technological considerations. **Journal of Food Science**, v. 72, p. 138-151, 2007.

LUNCEFORD, N.; GUGLIUCCI, A. *Ilex paraguariensis* extracts inhibit AGE formation more efficiently than green tea. **Fitoterapia**, v. 76 p. 419– 427, 2005.

MACFIE, H.J.H.; BRATCHELL, N. ; GREENHOFF, K.; VALLIS, L.V. Designs to balance the effect of order of presentation and first-order carry-over effects in hall tests. **Journal of Sensory Studies**, Malden, v. 4, p. 129-148, 1989.

MAZUCHOWISKI, J.Z. **Manual da erva-mate** (*Ilex paraguariensis* St. Hill).2^a ed, EMATER–Paraná: Curitiba, Brasil, 1991. 104 p.

PUANGPRAPHANT, S.; E.G. de MEJIA. Saponins in yerba mate tea (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil) and quercetin synergistically inhibit iNOS and COX-2 in lipopolysaccharide-induced macrophages through NFκB pathways. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 8873-8883, 2009.

SCHERER, R.; JANSSENS, M. J.J.; MARX, F.; URFER, P.; SCHNEIDER, E. Saponin content and quality-related traits of mass-selected yerba-maté (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil) trees. **Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants**, v. 12, p. 73-85, 2006.

STOOKEY, G.K., The effect of saliva on dental caries. **Journal of the American Dental Association**, v. 139, p. 11S-17S, 2008.

CONCLUSÕES GERAIS

Os resultados obtidos nos vários estudos que constituem este trabalho permitiram algumas conclusões importantes.

A espectroscopia no infravermelho próximo mostrou-se adequada para quantificar compostos fenólicos totais e taninos, em erva-mate identificando amostras obtidas de diferentes condições de cultivo e em cada etapa do processamento industrial.

A predição dos modelos PLS não se mostrou eficiente quando estes foram empregados para determinar o teor de umidade nas amostras armazenadas sob diferentes condições de temperatura e UR, o que pode ser atribuído à heterogeneidade das amostras. O método de determinação umidade por micro-ondas, contudo, mostrou-se eficaz, mais rápido frente ao método convencional que utiliza estufa, quando empregado nas condições, 900 W de potência com tempo de 4,3 minutos.

A análise de componentes principais (PCA) evidencia as características comuns e discrepantes entre as diferentes amostras utilizadas no Capítulo 2 (amostras de erva-mate de diferentes regiões do estado do Paraná, Brasil (Metropolitana de Curitiba, Sudeste, Centro-Sul) e no Capítulo 3 (diferenciação das amostras de erva-mate convencional e orgânica), o que é de suma importância para o controle de qualidade dos produtos.

A técnica PCA também foi eficiente quando empregada para avaliar a preferência dos consumidores em relação ao consumo de goma de mascar à base de erva-mate. A análise hierárquica por agrupamento completou a análise de componentes principais fornecendo meios para classificar os consumidores em três segmentos: o segmento 1, composto por 35 indivíduos, com faixa etária entre 18 a 35 anos, em sua maior parte mulheres (54 %), com nível de escolaridade pós-graduação, no segmento 2, que possui 45 indivíduos, também houve predomínio de mulheres (77 %) com idade entre 18 e 25 anos cursando ensino superior; o segmento 3 foi composto de 28 pessoas, maioria homens, na faixa etária maior que 25 anos e com curso superior incompleto. Os produtos com maior aceitação foram as gomas de mascar elaboradas com

erva-mate estacionada e aromatizadas com laranja e maçã-verde, respondendo por 67 % do total de aceitação da goma de mascar.

Dos modelos desenvolvidos para cada grupo de amostras de erva-mate, quanto ao local de cultivo e tipo de manejo (orgânica, convencional), conclui-se que a sua maioria é capaz de descrever e auxiliar na quantificação eficaz quanto a CFT e taninos totais cada um dos parâmetros, não sendo eficiente para descrever a determinação de umidade, podendo ser melhorada com o aumento do número de amostras analisadas e com intervalo maior de variação no teor de umidade.

A espectroscopia de infravermelho próximo mostrou-se uma técnica alternativa adequada para quantificar compostos fenólicos em erva-mate e apresentando vantagens significativas, como informação rápida, eliminação da etapa de preparação da amostra, o que se traduz em economia de custos com reagentes e menor emissão de danos ao meio ambiente em decorrência da eliminação do uso de solventes e de reagentes tóxicos.

Com base no novo produto de erva-mate estabelecido nesse trabalho foi possível contribuir para uma maior repercussão do consumo diferenciado de erva-mate, além do hábito de consumo regional restrito às áreas onde é cultivado contribuindo também para o aumento do consumo de produtos saudáveis pela população em geral.

ANEXO 1**AVALIAÇÃO SENSORIAL DE GOMA DE MASCAR *DIET*
À BASE DE ERVA-MATE**

Nome: _____ Data: _____

Sexo: ()M ()F Idade:()<18 ()18-25 ()25-35 ()35-45 ()> de 45

Nível de instrução:

() Primário completo () Secundário incompleto () Secundário completo
() Superior incompleto () Superior completo () Pós-graduação

Você possui alergia a algum alimento?

Sim (). Qual/ Quais? _____

Não ()

Possui algum problema em utilizar gomas de mascar? Sim () Não ()

Você consome goma de mascar? Sim () Não ()

Você consome produtos à base de erva-mate? Sim () Não ()

() Chimarrão

() Chá mate

() Tererê

() Outros _____

Com que frequência você consome produtos de erva-mate?

() 1 vez ao dia () 2 vezes ao dia () 1 vez na semana () 2 a 3 vezes na semana

() a cada quinze dias () 1 vez ao mês

Prezado provador, agora avalie de forma geral as gomas de mascar dizendo o quanto você gostou ou não gostou da amostra:

Amostra 196

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
desgostei extremamente	desgostei muito	desgostei moderadamente	desgostei ligeiramente	não gostei e nem desgostei	gostei ligeiramente	gostei moderadamente	gostei muito	gostei extremamente

Se você encontrasse esta goma de mascar a venda, qual seria sua atitude?

Certamente compraria o produto ()

Possivelmente compraria o produto ()

Talvez comprasse/talvez não comprasse ()

Possivelmente não compraria o produto ()

Certamente não compraria o produto ()

Amostra 278

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
desgostei extremamente	desgostei muito	desgostei moderadamente	desgostei ligeiramente	não gostei e nem desgostei	gostei ligeiramente	gostei moderadamente	gostei muito	gostei extremamente

Se você encontrasse esta goma de mascar a venda, qual seria sua atitude?

Certamente compraria o produto ()

Possivelmente compraria o produto ()

Talvez comprasse/talvez não comprasse ()

Possivelmente não compraria o produto ()

Certamente não compraria o produto ()

Amostra 305

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
desgostei extremamente	desgostei muito	desgostei moderadamente	desgostei ligeiramente	não gostei e nem desgostei	gostei ligeiramente	gostei moderadamente	gostei muito	gostei extremamente

Se você encontrasse esta goma de mascar a venda, qual seria sua atitude?

Certamente compraria o produto ()

Possivelmente compraria o produto ()

Talvez comprasse/talvez não comprasse ()

Possivelmente não compraria o produto ()

Certamente não compraria o produto ()

Amostra 466

desgostei extremamente
 desgostei muito
 desgostei moderadamente
 desgostei ligeiramente
 não gostei e nem desgostei
 gostei ligeiramente
 gostei moderadamente
 gostei muito
 gostei extremamente

Se você encontrasse esta goma de mascar a venda, qual seria sua atitude?

Certamente compraria o produto ()

Possivelmente compraria o produto ()

Talvez comprasse/talvez não comprasse ()

Possivelmente não compraria o produto ()

Certamente não compraria o produto ()

Amostra 532

desgostei extremamente
 desgostei muito
 desgostei moderadamente
 desgostei ligeiramente
 não gostei e nem desgostei
 gostei ligeiramente
 gostei moderadamente
 gostei muito
 gostei extremamente

Se você encontrasse esta goma de mascar a venda, qual seria sua atitude?

Certamente compraria o produto ()

Possivelmente compraria o produto ()

Talvez comprasse / talvez não comprasse ()

Possivelmente não compraria o produto ()

Certamente não compraria o produto ()

Amostra 206

desgostei extremamente
 desgostei muito
 desgostei moderadamente
 desgostei ligeiramente
 não gostei e nem desgostei
 gostei ligeiramente
 gostei moderadamente
 gostei muito
 gostei extremamente

Se você encontrasse esta goma de mascar a venda, qual seria sua atitude?

Certamente compraria o produto ()

Possivelmente compraria o produto ()

Talvez comprasse / talvez não comprasse ()

Possivelmente não compraria o produto ()

Certamente não compraria o produto ()

Amostra 447

desgostei extremamente
 desgostei muito
 desgostei moderadamente
 desgostei ligeiramente
 não gostei e nem desgostei
 gostei ligeiramente
 gostei moderadamente
 gostei muito
 gostei extremamente

Se você encontrasse esta goma de mascar a venda, qual seria sua atitude?

Certamente compraria o produto ()

Possivelmente compraria o produto ()

Talvez comprasse / talvez não comprasse ()

Possivelmente não compraria o produto ()

Certamente não compraria o produto ()

Amostra 168

desgostei extremamente
 desgostei muito
 desgostei moderadamente
 desgostei ligeiramente
 não gostei e nem desgostei
 gostei ligeiramente
 gostei moderadamente
 gostei muito
 gostei extremamente

Se você encontrasse esta goma de mascar a venda, qual seria sua atitude?

Certamente compraria o produto ()

Possivelmente compraria o produto ()

Talvez comprasse / talvez não comprasse ()

Possivelmente não compraria o produto ()

Certamente não compraria o produto ()

Amostra 739

desgostei extremamente
 desgostei muito
 desgostei moderadamente
 desgostei ligeiramente
 não gostei e nem desgostei
 gostei ligeiramente
 gostei moderadamente
 gostei muito
 gostei extremamente

Se você encontrasse esta goma de mascar a venda, qual seria sua atitude?

Certamente compraria o produto ()

Possivelmente compraria o produto ()

Talvez comprasse / talvez não comprasse ()

Possivelmente não compraria o produto ()

Certamente não compraria o produto ()

AGRADECEMOS PELA SUA PARTICIPAÇÃO!!!