

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO TECNOLÓGICO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE
ALIMENTOS**

Gilson Hideki Nabechima

**INATIVAÇÃO TÉRMICA DAS ENZIMAS
POLIFENOLOXIDASE E PEROXIDASE EM FORNO ESTEIRA
E EFEITOS SOBRE A COR DA ERVA-MATE (*Ilex
paraguariensis*)**

Florianópolis – SC
2010

Gilson Hideki Nabechima

**INATIVAÇÃO TÉRMICA DAS ENZIMAS
POLIFENOLOXIDASE E PEROXIDASE EM FORNO ESTEIRA
E EFEITOS SOBRE A COR DA ERVA-MATE (*Ilex
paraguariensis*)**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito parcial para a obtenção de título de Mestre em Engenharia de Alimentos.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Edna Regina Amante

Florianópolis – SC
2010

“INATIVAÇÃO TÉRMICA DAS ENZIMAS POLIFENOLOXIDASE E PEROXIDASE EM FORNO ESTEIRA E EFEITOS SOBRE A COR DA ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis*)”>

Por

Gilson Hideki Nabechima

Dissertação julgada para obtenção do título de **Mestre em Engenharia de Alimentos**, área de Concentração de Desenvolvimento de Produtos e Processos, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina.

Prof^ª. Dr^ª. Edna Regina Amante
Orientadora

Prof^ª. Dr^ª. Alcilene Rodrigues Monteiro Fritz
Coordenadora

Banca examinadora:

Prof^ª. Dr^ª. Edna Regina Amante

Prof^ª. Dr^ª. Márcia Barbosa Henriques
Mantelli

Prof^ª. Dr^ª. Elane Schwinden
Prudêncio

Prof^ª. Dr^ª. Alcilene Rodriguez
Monteiro Fritz

Florianópolis, 25 de junho de 2010

“A experiência adquire-se no fazer; a sabedoria conquista-se no esforço diário; a amizade no convívio; A vida soma experiência, sabedoria e amizade. O resultado é a realização pessoal e profissional”.

[Ângelo Scopel]

Aos meus pais, Edison e Rosa e meu irmão Fábio pelo amor incondicional e por estarem presentes na minha vida.

À Marieli, minha companheira, por todo o amor, companheirismo e apoio durante esses dois lindos anos.

AGRADECIMENTOS

Ninguém se basta sozinho. Não temos a onipotência, nem a onisciência. Por mais que tentemos executar todas as tarefas a nós confiadas, não daríamos conta de realizá-las com eficácia e nos prazos necessários, não fosse o auxílio de outras pessoas. Agradecer é reconhecer o apoio, é demonstrar seu apreço, é valorizar.

Meus sinceros agradecimentos a todos que contribuíram para a concretização deste trabalho, em especial:

À Universidade Federal de Santa Catarina, pela oportunidade de ensino gratuito.

Ao curso de pós-graduação em Engenharia de Alimentos do Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina.

Ao Departamento de Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pela bolsa cedida.

Ao Projeto Ervanova (FINEP/SEBRAE) pelo financiamento do projeto de pesquisa.

À professora Edna pela orientação, compreensão, por sua visão prática, pela motivação e pelas palavras amigas durante todo trabalho.

À professora Elane Schwinden Prudêncio por suas sugestões e por aceitar fazer parte de minha banca

À professora Alcilene Rodrigues Monteiro Fritz por suas sugestões e por aceitar fazer parte de minha banca

À Professora Márcia Barbosa Henriques Mantelli por viabilizar este projeto e por aceitar fazer parte de minha banca.

Aos Professores Geraldo Jorge Mayer Martins e Thomaz Pentead de Freitas Borges pelo suporte no desenvolvimento do forno esteira.

Ao Laboratório de Tubos de Calor (LABTUCAL) do Departamento de Engenharia Mecânica, Universidade Federal de Santa Catarina – em especial: Charles, Luizinho, Carlos, Daniel e Fernando pela construção do forno esteira, pelo empréstimo do aparelho de aquisição de dados, pelo acolhimento e por sempre estarem dispostos a ajudar.

À professora Ana Carolina Maisonnave Arisi e ao Laboratório de Biotecnologia Alimentar do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina – em especial: Carla, Gabriela e Fábio – por ceder a centrífuga para obtenção dos extratos enzimáticos e pelo auxílio prestado.

À professora Renata Dias de Melo Castelo Amboni por ceder o colorímetro para realização das análises de cor deste trabalho.

Ao professor Marcelo Maraschin e ao Laboratório de Morfogênese e Bioquímica Vegetal (LMVB) do Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal de Santa Catarina – por ceder reagentes em ocasiões essenciais.

À professora Valéria Reginatto Spiller pela orientação durante o projeto de iniciação científica, pela valiosíssima indicação no mestrado, pois sem a mesma não teria continuado o mestrado e pelos conselhos.

À família do Laboratório de Frutas e Hortaliças e todos relacionados a ela – João, Ângela, Manu, Cris, Janete, Valéria, Rossana, Fernando, Daniane, Helayne, Aureanna e Diego pela valiosa amizade.

Ao João Gustavo Provesi, grande amigo, sete vidas, flamenguista, consultor de investimentos e ex-pesquisador da erva-mate pelo companheirismo e pela amizade.

Às alunas de iniciação científica Júlia, Cibele, Cláudia e Carolinne pelo auxílio e pela dedicação na realização dos experimentos.

Às indústrias ervateiras da região de Catanduvas – Materva, Tertúlia, Verdinha, Jacutinga e Regina – pelo fornecimento da matéria-prima utilizada neste trabalho e por todo conhecimento sobre o processamento da erva-mate.

À Jozeanne Caldartt por todas as informações, pelo suporte em Catanduvas e pelo frio passado nas geladas manhãs de Catanduvas para me enviar amostras.

Ao Leo Serpa e a Kátia Rezzadori pelos conhecimentos e pelo auxílio na parte estatística.

Aos funcionários do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, em especial Bento, Carlos e Inês Azevedo.

À secretaria de pós-graduação em Engenharia de Alimentos do Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina

A todas pessoas citadas e aquelas que eu possa ter esquecido

MUITO OBRIGADO!

RESUMO

A definição da cor verde da erva-mate comercializada no Brasil é obtida no processo de sapeco, que inativa as enzimas óxido redutases do mate. No sapeco, a erva-mate é submetida à temperatura elevada das chamas, do mesmo modo como era realizado pelos primeiros exploradores desta matéria prima. A falta de controle na temperatura deste processo acarreta na contaminação do produto por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), por pirólise do produto ou carreamento da fumaça. Visando sugerir um sistema ideal de sapeco, foi desenvolvido um sapecador elétrico, forno esteira, com o qual foi estudada a inativação térmica das enzimas polifenoloxidase e peroxidase da erva-mate. As condições testadas em laboratório seguiram a definição das proporções folhas e talos, empregadas nas unidades industriais do município de Catanduvas, SC, bem como, as amostras foram caracterizadas quanto à composição centesimal. As amostras de erva-mate estudadas neste trabalho apresentaram os seguintes teores de proteína ($14,19 \pm 0,62$ g/100g), extrato etéreo ($9,01 \pm 1,10$ g/100g), cinzas ($6,00 \pm 0,29$ g/100g), fibra bruta ($6,00 \pm 0,29$ g/100g) e glicídeos ($48,30 \pm 2,07$ g/100g). A erva-mate como matéria prima apresentou densidade aparente de $27,43 \pm 6,04$ kg/m³ e, proporção folhas/talos de $1,79 \pm 0,29$. A matéria prima apresenta irregularidades em suas dimensões a serem consideradas em futuros projetos industriais, a cinética de inativação térmica das enzimas nas folhas deve levar em consideração estas irregularidades. O forno esteira foi caracterizado em relação às condições de operação. O forno atingiu estabilidade térmica após 90 min. A temperatura de ajuste não correspondeu à temperatura real do forno esteira. O efeito da temperatura sobre o tempo de residência foi mais acentuado nas menores frequências. Neste trabalho, foi avaliado o efeito do sapeco em forno esteira, sem contato direto com as chamas, na inativação das enzimas, a cor e a degradação da clorofila da erva-mate. A POD apresentou maior termo estabilidade em relação a PFO. Os modelos bifásico e por etapas consecutivas apresentaram os melhores ajustes aos dados de inativação térmica da POD ($R^2=0,99$) para a condição estudada. A erva-mate processada em forno esteira foi comparada com a erva-mate processada em escala industrial. Foi verificado que em forno esteira, a temperatura de 255 °C, por 20 segundos, pode substituir a operação de sapeco industrial. Este binômio tempo temperatura tem a vantagem significativa sobre a cor verde e minimização da degradação da clorofila, além de representar uma

redução significativa na temperatura de processamento tradicionalmente empregada na operação industrial de sapeco da erva-mate.

Palavras chave: erva-mate; peroxidase; polifenoloxidase; inativação térmica; clorofila; cor.

ABSTRACT

The green colouring of the mate marketed in Brazil is obtained by submitting mate leaves to the high temperatures of flames. This traditional process is known as *sapeco* and it inactivates the oxide reductase enzymes in mate tea. The *sapeco* process is carried out in the same manner as it used to be carried out by the first exploiters of this raw material. Since there is no temperature control in this process, the product is eventually contaminated by polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), by pyrolysis of the product, or by deposition of smoke. Aiming to suggest an ideal system of *sapeco* that can avoid these contaminants, an electric conveyor oven was developed and the thermal inactivation of polyphenoloxidase and peroxidase enzymes in mate was studied when performed with such conveyor oven. The conditions tested in laboratory followed the same proportion of leaves to twigs as that applied in the industrial units of the municipal district of Catanduvas, SC. Also, the samples were characterized in relation to their centesimal composition. The mate samples studied in this work showed the following contents: protein (14.19 ± 0.62 g/100g), ethereal extract (9.01 ± 1.10 g/100g), ashes (6.00 ± 0.29 g/100g), crude fibres (6.00 ± 0.29 g/100g), and total carbohydrates (48.30 ± 2.07 g/100g). Mate as raw material showed a apparent density of 27.43 ± 6.04 kg/m³ and a leaves to twigs proportion of 1.79 ± 0.29 . There are irregularities in the dimensions of this raw material to be considered in future industrial projects; the kinetics of thermal inactivation of the enzymes in the leaves should take these irregularities in consideration. The conveyor oven was characterized in relation to operating conditions. The oven has reached thermal stability after 90 min. The settled temperature did not match the real temperature. The effect of temperature on the residence time was more pronounced in the lower frequencies. The effect of the *sapeco* on the inactivation of the enzymes, the colour, and the chlorophyll degradation in mate was evaluated in this work, where the *sapeco* was performed in a conveyor oven, without any direct contact with the flames. POD presented more thermal stability than PFO. The biphasic and consecutive steps models showed the best adjustment to the data of thermal inactivation of POD ($R^2=0.99$) in the condition studied. The mate processed in the conveyor oven was compared with mate processed in industrial scale. The results showed that the *sapeco* performed in the conveyor oven at a temperature of 255 °C for 20 seconds can substitute the process of industrial *sapeco*. This time-temperature binomial has a significant advantage on the green colour and on the minimization of chlorophyll degradation, besides

representing a significant reduction in the processing temperature traditionally used in the industrial *sapeco* of mate.

Keywords: mate; peroxidase; polyphenoloxidase; thermal inactivation; chlorophyll; colour.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1		37
Figura 1.1	Ocorrência natural da erva-mate	40
Figura 1.2	Árvore adulta de erva-mate	42
Figura 1.3	Ramos de erva-mate	43
Figura 1.4	Fluxograma do beneficiamento da erva-mate para chimarrão e chá mate tostado (queimado)	49
Figura 1.5	Raídos de erva-mate no pátio da indústria ervateira	51
Figura 1.6	Sapeco da erva-mate de forma manual	52
Figura 1.7	Sapegador mecânico usado no processamento da erva-mate	53
Figura 1.8	Alimentação da erva-mate no sapecador	53
Figura 1.9	Estrutura química dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos considerados poluentes prioritários	55
Figura 1.10	Estrutura do carijó para secagem da erva-mate	57
Figura 1.11	Barbaquá do tipo paraguaiense para secagem da erva-mate	58
Figura 1.12	Barbaquá do tipo brasileiro para secagem da erva-mate	59
Figura 1.13	Estrutura do secador de erva-mate em esteira	60
Figura 1.14	Facão de malhar para a moagem da erva-mate	61
Figura 1.15	Cancheamento da erva-mate utilizando tração animal	62
Figura 1.16	Soque mecânico para moagem da erva-mate	62
Figura 1.17	Reação de oxidação do fenol a catecol e, em seguida, a o-quinona pela ação da enzima polifenoloxidase	66
Figura 1.18	Oxidação do guaiacol à tetraguaiacol pela ação da peroxidase	67

Figura 1.19	Estrutura química do grupo prostético heme ou ferro-porfirina (protoporfirina IX)	67
Figura 1.20	Curvas de progresso de reação para três diferentes concentrações enzimáticas (1.7 $\mu\text{mol/ml}$ (O); 0,85 $\mu\text{mol /mL}$ (\square); 0,43 $\mu\text{mol /mL}$ (\square))	69
Figura 1.21	Curva de inativação enzimática bifásica da enzima luciferase em tampão fosfato 0,067M, pH 6,8, a diferentes temperaturas (45 °C (\circ); 47,5 °C (\bullet); 50 °C (∇))	72
Figura 1.22	Diagrama representando o sistema de cor CIELAB	74
Figura 1.23	Representação do espaço de cores CIELCH: disposição tridimensional, mostrando as coordenadas L*, C* e h° (A) e disposição bidimensional, mostrando as coordenadas C* e h°	75
Figura 1.24	Estrutura química da clorofila com o sistema de numeração mais utilizado	76
Figura 1.25	Representação esquemática da degradação da clorofila	77

CAPÍTULO 3 89

Figura 3.1	Dimensões do forno esteira estudado para o sapeco da erva-mate	94
Figura 3.2	Forno esteira estudado para o sapeco da erva-mate	95
Figura 3.3	Monitoramento da temperatura do forno esteira ao longo do seu comprimento pelo período de 1 hora (300 °C 40,5 Hz)	100
Figura 3.4	Monitoramento da temperatura do forno esteira ao longo do seu comprimento por um período de 4 horas. (400 °C 40,5 Hz)	103
Figura 3.5	Monitoramento da temperatura do forno esteira ao longo do seu comprimento por um período de 7 horas (400 °C 40,5 Hz)	106

CAPÍTULO 4		113
Figura 4.1	Folhas de erva-mate queimadas no tratamento térmico para inativação das enzimas PFO e POD	126
Figura 4.2	Gráfico de Pareto dos efeitos padronizados da atividade residual da POD em função da temperatura e do tempo de tratamento em forno esteira	127
Figura 4.3	Histograma dos resíduos do modelo estatístico da atividade residual da POD em função da temperatura e do tempo de tratamento	129
Figura 4.4	Superfície de contorno para inativação térmica da POD em função da temperatura e do tempo de tratamento em forno esteira	130
Figura 4.5	Ajuste dos modelos de inativação bifásica e por etapas consecutivas aos dados de inativação térmica da POD de erva-mate em forno esteira	131
CAPÍTULO 5		137
Figura 5.1	Amostras de erva-mate dos tratamentos térmicos em forno esteira e processadas nas ervateiras após 21 dias de armazenamento	156

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1		37
Tabela 1.1	Produção brasileira anual de erva-mate cancheada de 2004 a 2008	41
Tabela 1.2	Possibilidades de utilização da erva-mate por campo de aplicação	47
Tabela 1.3	Exportação brasileira de produtos da erva-mate de 2005 a 2009	48
CAPÍTULO 2		79
Tabela 2.1	Composição centesimal das folhas de erva-mate	85
Tabela 2.2	Proporções folhas/talos e densidade dos ramos de erva-mate	86
CAPÍTULO 3		89
Tabela 3.1	Temperaturas ao longo do comprimento do forno esteira e temperatura média no intervalo de tempo de 50 a 60 min para a condição de ajuste 300 °C e 40,5 Hz	101
Tabela 3.2	Temperaturas ao longo do comprimento do forno esteira no intervalo de tempo de 230 a 240 min para a condição de ajuste 400 oC e 40,5 Hz	104
Tabela 3.3	Temperaturas ao longo do comprimento do forno esteira no intervalo de tempo de 230 a 240 min para a condição de ajuste 400 oC e 40,5 Hz	107
Tabela 3.4	Temperatura média do forno esteira em função das condições de ajuste de temperatura e tempo	109

Tabela 3.5	Tempo em função da frequência do motor e da temperatura para o forno esteira	109
CAPÍTULO 4		113
Tabela 4.1	Níveis das variáveis independentes: temperatura e tempo de tratamento para o estudo inativação térmica das enzimas PFO e POD da erva-mate em forno esteira	121
Tabela 4.2	Planejamento experimental e respectivos níveis reais e codificados das variáveis independentes para o estudo da inativação térmica das enzimas PFO e POD da erva-mate em forno esteira	122
Tabela 4.3	Modelos cinéticos utilizados para avaliar a inativação da POD da erva-mate em forno esteira	123
Tabela 4.4	Atividade enzimática residual da POD e PFO de erva-mate sapecada em forno esteira nos diferentes ensaios realizados	125
Tabela 4.5	Coefficientes de regressão para a resposta da atividade residual da POD da erva-mate em forno esteira	128
Tabela 4.6	Análise de variância para o modelo quadrático para inativação da enzima POD	128
Tabela 4.7	Coefficiente de determinação e erro padrão dos modelos ajustados para inativação da POD em forno esteira	131
Tabela 4.8	Atividade residual da peroxidase da erva-mate em função do tempo de tratamento a temperatura de 255 °C em forno esteira	132
Tabela 4.9	Atividade enzimática residual da POD e PFO em erva-mate sapecada em condições industriais	133

Tabela 5.1	Atividade residual da POD da erva-mate ao longo do armazenamento das amostras processadas em forno esteira e comercial (sapeco nas ervateiras)	146
Tabela 5.2	Teores de clorofila ao longo do armazenamento das amostras de erva-mate tratadas termicamente em forno esteira e da amostra proveniente das ervateiras	148
Tabela 5.3	Parâmetros de cor L*, a* e b* para as amostras de erva-mate dos tratamentos térmicos em forno esteira e para a amostra processada nas ervateiras, ao longo do armazenamento	150
Tabela 5.4	Parâmetros da escala de cor CIELCh para as amostras de erva-mate dos tratamentos térmicos em forno esteira e para a amostra processada nas ervateiras, ao longo do armazenamento	153
Tabela 5.5	Varição de cor total (ΔE^*) para as amostras de erva-mate dos tratamentos térmicos em forno esteira e para a amostra processada nas ervateiras, ao longo do armazenamento	155

LISTA DE SIGLAS

CIE	<i>Commission Internationale de L'Eclairage</i> (Comissão Internacional da Iluminação)
FAO	<i>Food and Agriculture Organization</i> (Organização de Alimentos e Agricultura)
HPAs	Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos
IARC	International Agency for Research on Cancer (Agência Internacional de Estudos sobre o Câncer)
INM	Instituto Nacional do Mate
IUB	<i>International Union of Biochemistry</i> (União Internacional de Bioquímica)
LABTUCAL	Laboratório de Tubos de Calor - UFSC
PFO	Polifenoloxidase
PN	Padrão Nacional
POD	Peroxidase
SIDRA	Sistema IBGE de Recuperação Automática
USEPA	<i>United States Environmental Protection Agency</i> (Agência Americana de Proteção Ambiental)

LISTA DE SÍMBOLOS

a	Atividade enzimática residual (%)
a_0	Atividade enzimática residual no tempo zero (%)
a_r	Atividade enzimática residual no tempo ∞ (%)
a_i	Atividade enzimática residual inicial da isozima termo lábil (%)
a_s	Atividade enzimática residual inicial da isozima termo estável (%)
a_1	Atividade enzimática residual inicial da enzima forma natural (%)
a_2	Atividade enzimática residual inicial da enzima com < atividade (%)
A	Atividade enzimática ($\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg de proteína}^{-1}$)
A_0	Atividade enzimática inicial ($\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg de proteína}^{-1}$)
Abs	Absorbância (abs)
D	Tempo de morte térmica (s)
k	Constante de inativação (variável)
k_i	Constante de inativação da isozima termo lábil (s^{-1})
k_s	Constante de inativação da isozima termo estável (s^{-1})
k_1	Constante de inativação da enzima forma natural (s^{-1})
k_2	Constante de inativação da enzima com < atividade (s^{-1})
n	Ordem da reação

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	37
1 Erva – mate	38
1.1 Histórico.....	38
1.2 Ocorrência e produção da erva-mate.....	39
1.3 Aspectos botânicos.....	41
1.4 Composição química e propriedades da erva-mate	43
1.5 Produtos e usos alternativos da erva-mate.....	46
2 Processamento da erva-mate	49
2.1 Ciclo do Cancheamento	50
2.1.1 Colheita	50
2.1.2 Sapeco	51
2.1.3 Secagem	56
2.1.4 Moagem.....	60
2.2 Ciclo do beneficiamento do chimarrão.....	63
3 Enzimas	63
3.1 Polifenoloxidase	65
3.2 Peroxidase	66
3.3 Atividade enzimática.....	68
3.4 Inativação enzimática.....	70
4 Cor.....	73
5 Clorofila	75

CAPÍTULO 2 - COMPOSIÇÃO CENTESIMAL E PROPORÇÕES ENTRE FOLHAS E TALOS DA ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis*) COMO MATÉRIA PRIMA 79

RESUMO.....	80
ABSTRACT.....	81
1 INTRODUÇÃO.....	82
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	83
2.1. Material.....	83
2.2. Análise Físico-Química.....	83
2.3 Determinação das proporções entre folhas e talos.....	83
2.4. Determinação da densidade aparente.....	84
2.5 Análise estatística.....	84
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	85
4 CONCLUSÃO.....	87

CAPÍTULO 3 - CARACTERIZAÇÃO E ADEQUAÇÃO DO FORNO ESTEIRA PARA A DETERMINAÇÃO DA TEMPERATURA DE SAPECO DA ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis*) 89

RESUMO.....	90
ABSTRACT.....	91
1 INTRODUÇÃO.....	92
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	94
2.1 Equipamento.....	94
2.2 Determinação e ajustes da temperatura de operação do equipamento.....	96
2.3 Determinação do tempo de residência no interior do forno.....	98
2.4. Análise estatística.....	98

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	99
4 CONCLUSÃO	111
CAPÍTULO 4 - INATIVAÇÃO TÉRMICA DAS ENZIMAS PEROXIDASE E POLIFENOLOXIDASE DE FOLHAS DE ERVA-MATE (<i>Ilex paraguariensis</i>) EM FORNO ESTEIRA	113
RESUMO	114
ABSTRACT	115
1 INTRODUÇÃO	116
2 MATERIAL E MÉTODOS	118
2.1 Material	118
2.2. Experimento de inativação térmica	118
2.3. Obtenção do extrato enzimático	119
2.4 Determinação da atividade enzimática da PFO	119
2.5 Determinação da atividade enzimática da POD	119
2.6 Determinação de proteínas totais	120
2.7 Testes preliminares de inativação enzimática	120
2.8 Superfície de resposta.....	121
2.9 Cinética da inativação térmica da enzima peroxidase da erva-mate em forno esteira.....	122
2.10 Atividade enzimática da POD e PFO após o sapeco industrial ...	123
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	124
3.1 Testes Preliminares	124
3.2 Superfície de resposta.....	124
3.3 Cinética da inativação térmica enzimática da POD.....	130
3.4 Atividade enzimática da PFO e POD da erva-mate após sapeco industrial.....	133
4 CONCLUSÃO	135

CAPÍTULO 5 - AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DE DIFERENTES TRATAMENTOS TÉRMICOS NAS ATIVIDADES RESIDUAIS DE POD, COR E TEOR DE CLOROFILA DURANTE O ARMAZENAMENTO DE ERVA-MATE (<i>Ilex paraguariensis</i>)	137
RESUMO.....	138
ABSTRACT.....	139
1 INTRODUÇÃO.....	140
2 MATERIAL E MÉTODOS	142
2.1 Material.....	142
2.2. Preparo da amostra.....	142
2.3 Obtenção do extrato enzimático.....	143
2.4 Determinação da atividade enzimática da POD.....	144
2.5 Determinação de proteínas totais	144
2.6. Determinação da cor	144
2.7 Extração e determinação da clorofila.....	145
2.8 Análise estatística.....	145
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	146
4 CONCLUSÃO	157
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	161

INTRODUÇÃO

A erva-mate (*Ilex Paraguariensis* A. St. Hill) é uma cultura economicamente muito importante no Sul da América. Sua produção pode ser natural ou cultivada, ocorrendo principalmente, no sul do Brasil, oeste do Paraguai e nordeste da Argentina (GUGLIUCCI; STAHL, 1995; FILIP et al., 2000; FILIP et al., 2001). O produto comercial nomeado “mate”, “erva-mate” ou “yerba-mate” é utilizado na preparação de vários tipos de bebidas, como o “chimarrão”, “tererê”, bebidas refrescantes, chás entre outros (SOUZA; LORENZI, 2005). Sua popularidade está aumentando nos EUA, Canadá, Europa e em alguns países do Oriente Médio (GUGLIUCCI; STAHL, 1995; FILIP et al., 2001; SCHMALKO; ALZAMORA, 2001).

O consumo da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St Hil.), na forma de chimarrão, é tradicional nos estados do sul do Brasil e em alguns países da América Latina (MORAWICKI et al., 1999; VALDUGA et al., 2005). A preferência do brasileiro é pela erva-mate verde, enquanto os argentinos consomem a erva-mate *estacionada*, produto com tonalidade verde-amarelada.

A obtenção da erva-mate verde requer a inativação das enzimas óxido redutases endógenas das folhas, predominantemente, as polifenoloxidasas e as peroxidases (COSTA, 1989; VALDUGA, 1995). A presença destas enzimas, ainda ativas no produto, resulta em importantes alterações da cor, aroma e sabor comprometendo a comercialização do produto verde.

O processamento da erva-mate consiste de três diferentes fases principais: uma rápida secagem por direta exposição da erva às chamas do fogo objetivando inibir a atividade enzimática e reduzir a umidade, denominada “*sapeco*”; uma secagem, a qual é usualmente realizada em um cilindro rotativo com direta exposição ao calor e à fumaça da queima de lenha, e uma subsequente trituração. O produto resultante dessas etapas denomina-se erva-mate cancheada (SCHMALKO; ALZAMORA, 2001; ESMELINDRO et al., 2002).

O contato direto com as chamas pode acarretar o aquecimento excessivo das folhas, gerando compostos de pirólise. Assim, os hidrocarbonetos policíclicos (HPAs), compostos tóxicos, podem ser resultantes do calor excessivo durante o sapeco ou derivados da queima da madeira (CAMARGO; TOLEDO, 2002; LIN et al., 2004).

As operações de sapeco e secagem foram estudadas por inúmeros pesquisadores (BENDLIN, 2003; PERALTA; SCHMALKO,

2007; ZANOELO et al., 2008). No entanto, ainda hoje, a maioria das empresas processadoras do mate para o chimarrão, utiliza o processo tradicional, o que resulta na presença de HPAs em todas as etapas do processo produtivo e elevado gasto energético sendo aproveitado efetivamente apenas 20% (VIEIRA, 2009). Esta realidade revela a necessidade de estudos visando mudar este cenário.

Desde 2006, o Grupo de Pesquisas em Tecnologias Limpas no Processamento de Alimentos, da Universidade Federal de Santa Catarina, vem estudando o processamento da erva-mate, com o objetivo geral de minimizar os resíduos de fumaça da erva-mate. Em um trabalho conjunto com a Engenharia Mecânica, o Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Farmácia, Engenharia de Alimentos, Fitotecnia e o SENAI foi estudado o processo de sapeco e as consequências para o produto.

Diante desse cenário o presente trabalho tem por objetivo geral estudar as melhores temperaturas e tempos de sapeco em forno esteira, avaliando as atividades enzimáticas residuais da peroxidase e polifenoloxidase, clorofila e cor, visando fornecer informações que subsidie construção de um sapecador que minimize a geração e incorporação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos na erva-mate.

O trabalho está apresentado em cinco capítulos sendo: 1) Revisão bibliográfica sobre a erva-mate e fatos relacionados às características ao produto; 2) Caracterização da matéria-prima; 3) Caracterização do forno esteira; 4) Estudo da inativação térmica da polifenoloxidase e peroxidase da erva-mate em forno esteira; 5) Avaliação do tratamento térmico sobre a peroxidase, cor e conteúdo de clorofila da erva-mate durante o armazenamento da erva-mate.

CAPÍTULO 1
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1 Erva – mate

A erva-mate é uma planta da família das aquifoleáceas, natural da América do Sul. Seu cultivo e beneficiamento possuem grande importância econômica na região Sul do Brasil. Suas folhas são utilizadas no preparo de chás e bebidas, tendo o chimarrão, uma infusão de folhas e talos de erva-mate em água quente, como a sua forma mais comum de consumo (COELHO et al., 2002). Devido à sua composição química, também é empregada no setor farmacêutico, de cosméticos e alimentício. Utilizada pelos índios como bebida tônica e estimulante, diversas pesquisas sobre suas propriedades nutricionais e medicinais são realizadas (SCHINELLA et al., 2000; BENDLIN, 2003; MEJIA et al., 2005).

Poucas modificações foram implantadas na estrutura e no processo produtivo ervateiro, onde a exposição direta às chamas da fogueira realizada pelos índios é ainda empregada, porém de maneira mecânica, mantendo o mesmo princípio. Essa operação apresenta problemas no controle de qualidade devido às altas temperaturas empregadas e implica na incorporação de compostos potencialmente mutagênicos e carcinogênicos na erva-mate processada (CAMARGO; TOLEDO, 2002; ZUIN et al., 2005; ROCHA JUNIOR et al., 2007; VIEIRA, 2009). Em relação a outras plantas e/ou produtos industrializáveis, a erva-mate se encontra em fase inicial de descobertas dos usos industriais, em nível internacional (MAZUCHOWSKI et al., 2000).

1.1 Histórico

O primeiro relato do consumo da erva-mate foi feito em 1554, pelo general paraguaio Irala, ao observar índios do Guairá consumindo em um pequeno porongo e um canudo de taquara uma bebida feita com folhas. O produto consumido era constituído por folhas tostadas e fragmentadas, esse fato levou os colonizadores espanhóis a concluírem, equivocadamente, que a bebida era proveniente de uma planta de pequeno porte, considerando-a como folhas de uma erva, e denominaram-na “erva do Paraguai”. Quanto ao termo mate, a opinião mais aceita é que seja originário da língua indígena quíchua, do termo

“mati”, que significa cuia, cabaça ou porongo, recipiente, feito do fruto maduro da cucurbitácea *Legenaria vulgaris*, no qual é preparada e bebida a infusão de folhas de erva-mate (DA CROCE; FLOSS, 1999; MACCARI JUNIOR, 2005).

O impulso definitivo na economia ervateira surgiu no século XVII na época da companhia de Jesus e seus 30 povos das Missões de Guarani, situados na faixa ao longo dos rios Paraguai e Uruguai, onde, por orientação dos jesuítas, os indígenas iniciaram as plantações de erva-mate. Paralelamente à implantação dos ervais, os jesuítas definiram preceitos sobre a época da colheita de sementes, do preparo e do cultivo (MAZUCHOWSKI, 1991; DA CROCE; FLOSS, 1999).

A erva-mate teve expressiva contribuição na formação socioeconômica do Brasil, sendo considerada a mais importante indústria extrativista depois da borracha. Os bandeirantes que, de 1628 a 1632, percorreram as regiões de Guaíra, conheceram o uso do mate através de contatos com povos indígenas, e regressaram trazendo índios guaranis prisioneiros e com eles o hábito da bebida (MAZUCHOWSKI, 1991; DA CROCE; FLOSS, 1999).

O nome científico da erva-mate, *Ilex paraguariensis*, foi dado pelo botânico francês August de Saint Hillaire que percorreu o Brasil entre 1816 a 1822 e coletou amostras de erva-mate nas proximidades de Curitiba. Quanto ao nome específico *Ilex paraguariensis*, o botânico assim denominou por considerar a planta exatamente igual a erva do Paraguai (BRAGAGNOLO, 1980; MAZUCHOWSKI, 1991).

Em dois de dezembro de 1927, através do decreto nº 54 foi criado em Joinville, Santa Catarina, o Instituto do Mate devido à importância socioeconômica da planta e, com o objetivo de aperfeiçoar, defender e divulgar o produto no País e no exterior (DA CROCE; FLOSS, 1999).

1.2 Ocorrência e produção da erva-mate

A erva-mate ocorre em regiões de clima temperado da América do Sul (ALENCAR, 1960). Sua ocorrência natural está concentrada em três países: Brasil, Argentina e Paraguai (MAZUCHOWKI et al., 2000; BENDLIN, 2003) (Figura 1.1).



Figura 1.1 Ocorrência natural da erva-mate
 Fonte: Resende et al. (2000) apud Pagliosa (2009)

No Brasil, a distribuição geográfica da erva-mate abrange a região centro-oeste do Rio Grande do Sul, quase todo o Estado de Santa Catarina excluindo a faixa litorânea, centro-sul do Paraná, Sul do Mato Grosso do Sul e uma pequena parte do sudeste de São Paulo. Também parte da província de Misiones na Argentina e a parte oriental do Paraguai. Segundo Mazuchowski (1991) essa área corresponde a uma superfície aproximada de 540.000 km².

Segundo dados da FAO (2009) o Brasil é o maior produtor mundial de erva-mate *in natura* obtendo uma produção de 436.000 toneladas, em 2008, seguido da Argentina com 300.000 toneladas e do Paraguai com 87.500 toneladas. No Brasil, o maior produtor é o Rio Grande do Sul, com 256.652 toneladas, seguido dos estados do Paraná, Santa Catarina e Mato Grosso do Sul com a produção de 132.556, 41.890 e 3.929 toneladas, respectivamente (IBGE, 2008).

O parque industrial ervateiro é constituído por cerca de 750 empresas, sendo a maioria com pequena capacidade industrial. Este setor possui elevada importância social, envolvendo um total aproximado de 180.000 produtores rurais, gerando cerca de 710.000 empregos (MAZUCHOWSKI, 2000; MACCARI JUNIOR, 2005).

O Estado de Santa Catarina possui em seu território um grande número de indústrias que processam erva-mate para chá ou chimarrão. Integram o setor ervateiro do Estado, 118 pequenas e médias empresas envolvendo aproximadamente 140 municípios pertencentes a dez

regiões administrativas, estando concentradas mais densamente no município de Canoinhas, sendo dezesseis no total (ROCHA JUNIOR, 2001). O município de Catanduvas, localizado no centro oeste de Santa Catarina a uma latitude 27°04'14" sul e a uma longitude 51°39'42" oeste, estando a uma altitude de 945 metros, é considerado a capital catarinense do chimarrão, possuindo cinco indústrias processadoras de erva-mate com capacidade de processamento individual de 1100 a 1300 kg de ramos erva-mate *in natura* por hora. A região de Catanduvas é considerada propícia para a cultura da erva-mate e apresenta uma abundante ocorrência de plantas de erva-mate nativas e grandes áreas de cultivo (PAGLIOSA, 2009; VIEIRA, 2009).

A produção de erva-mate cancheada, erva-mate após etapa de secagem e moagem, manteve-se constante ao longo dos últimos anos atingido valores superiores a 200.000 toneladas (Tabela 1.1).

Tabela 1.1 Produção brasileira anual de erva-mate cancheada de 2004 a 2008

Produtores	Produção anual (toneladas)				
	2004	2005	2006	2007	2008
Paraná	137.809	139.657	152.971	156.444	154.701
Santa Catarina	66.078	61.635	41.833	40.559	39.637
Rio Grande do Sul	42.350	37.173	38.127	28.603	25.156
Mato Grosso do Sul	600	404	429	352	279
Brasil	246.837	238.869	233.360	225.957	219.773

Fonte: IBGE (2008)

Destaca-se como maior produtor de erva-mate cancheada o Estado do Paraná, apresentando elevação na produção ao longo dos anos. Nos demais estados produtores ocorreu queda da produção como o passar dos anos (IBGE, 2008).

1.3 Aspectos botânicos

A erva-mate *Ilex paraguariensis* St. Hillaire, pertence à família das aquifoláceas da qual fazem parte cerca 550 a 600 espécies, sendo a maioria do gênero *Ilex* (MAZUCHOWSKI, 1991). No Brasil existem 68 espécies desse gênero sendo que apenas cinco podem ser utilizadas para o beneficiamento (MACCARI JUNIOR, 2005).

A árvore da erva-mate (Figura. 1.2) apresenta porte semelhante ao da laranjeira possuindo tronco acinzentado, geralmente com 20 a 25 cm de diâmetro, podendo chegar aos 50 cm. Apresenta ramos cilíndricos e subcilíndricos. A altura é variável sendo influenciada pelas condições do local, pelo manejo e pela idade da planta, podendo atingir até 15 metros, mas quando podadas não passa de 7 metros (BRAGAGNOLO et al., 1980; MAZUCHOWSKI, 1991).



Figura 1.2 Árvore adulta de erva-mate
Fonte: Acervo do autor (2009)

As folhas (Figura 1.3) são verde-escuras na parte de cima e mais claras na parte inferior e possuem comprimento médio de 5 a 8 cm e, largura de 4 a 5 cm (MACCARI JUNIOR, 2005). Segundo Coelho et al. (2002) as características morfológicas das folhas como área e espessura sofrem grande influência das condições ambientais como intensidade de luz e suprimento de água. Além da heterogeneidade das dimensões das folhas, a proporção folha/ramo também é um fator variável que deve ser considerado no processamento da erva-mate, pois cada uma destas partes da planta possui comportamento diferenciado durante o processo (PERALTA; SCHMALKO, 2003; MACCARI JUNIOR, 2005)



Figura 1.3 Ramos de erva-mate

Fonte: Bendlin (2003)

A cultura da erva-mate é uma espécie que sofre pouco com as oscilações do clima, quando comparada aos outros cultivos agrícolas em geral, o que a torna uma espécie de grande importância na fixação do homem ao campo (VIDOR et al., 2002).

Os ervais podem ser nativos ou cultivados, sendo nativos aqueles que são formados e mantidos pela natureza. A erva-mate cultivada é considerada mais amarga do que a nativa. No Brasil a maior parte da erva-mate extraída provém de ervais nativos (ROCHA JUNIOR, 2001; PAGLIOSA et al., 2008).

1.4 Composição química e propriedades da erva-mate

Na erva-mate é detectada a presença de compostos como as metilxantinas, taninos, vitaminas (A, B1, B2, C e E), sais minerais (alumínio, cálcio, fósforo, ferro magnésio, manganês e potássio), proteínas (aminoácidos essenciais), glicídeos (glucose, frutose, rafinose e sacarose), lipídeos (óleos essenciais e substâncias ceráceas), além da celulose, dextrina e gomas (BARBOZA, 2006).

As metilxantinas são os compostos mais conhecidos da erva-mate sendo a principal a cafeína (0,5 a 1,73 %), seguida pela teobromina (0,01 a 0,88 %) e em pequena quantidade teofilina (0,03 %). A variação do conteúdo desses compostos é influenciada tanto por fatores sazonais (ocorre decréscimo de setembro a dezembro), como por fatores

genéticos e geográficos. As metilxantinas possuem diversas propriedades farmacológicas dentre elas: estimulante do sistema nervoso central, vaso constricção periférica, relaxação do músculo liso e estímulo miocárdico (SALDAÑA et al., 2002; SCHUBERT et al., 2006; CARDOZO JR et al., 2007).

Schenkel et al. (1995) detectaram na erva-mate, dez saponinas triterpênicas derivadas do ácido ursólico e oleanólico, com predominância do primeiro, com os açúcares arabinose, glicose e ramnose. As saponinas são substâncias glicosídicas altamente solúveis em água e parcialmente responsáveis pelo gosto amargo do mate. Possuem ação detergente e emulsificante, além de ação antifúngica devido à complexação com esteróides (SCHENKEL et al., 1995; GNOATTO et al., 2005).

Bastos et al. (2006b) identificaram o limoneno, o linalol e o geraniol como os principais constituintes do óleo essencial da erva-mate cancheada, e o trans-geraniol cetona, limoneno e beta-E-ionona, como os principais constituintes do óleo essencial do chá-mate tostado. Essa alteração na composição do óleo essencial ocorre durante a etapa de tostagem do mate verde. As principais alterações são a degradação de compostos responsáveis pelo aroma floral (limoneno e linalol) e formação de compostos que conferem ao chá-mate tostado, o sabor e aroma adocicado e esfumaçado (furanonas e óxidos terpênicos).

Os compostos fenólicos, amplamente distribuídos no reino vegetal, englobam desde moléculas simples até aquelas com alto grau de polimerização, como a lignina e os taninos condensados. Na planta da erva-mate os ácidos fenólicos são os compostos fenólicos mais encontrados, ao contrário do que é observado na *Camelia sinensis* (chá preto; chá da Índia) que apresenta elevado teor de flavonóides (PAGLIOSA, 2009).

Filip et al. (2001) estudaram os compostos fenólicos em oito espécies do gênero *Ilex* provenientes da América do Sul. A espécie *Ilex paraguariensis* apresentou maior quantidade de ácidos fenólicos (9,6%) e flavonóides do que as outras espécies. Os ácidos fenólicos detectados foram ácido clorogênico, ácido cafeico, ácido 3,4-dicafeoilquínico, ácido 3,5-dicafeoilquínico e ácido 4,5-dicafeoilquínico. Os flavonóides detectados foram a rutina (0,06 %), a quercetina (0,0031 %) e o campferol (0,0012 %). Os compostos fenólicos estão diretamente ligados a atividade antioxidante da erva-mate (BASTOS et al., 2006a; BRAVO et al., 2006).

Vários estudos sobre as propriedades antioxidantes da erva-mate têm sido realizados. Segundo Bastos et al. (2006b) as infusões

aquosas de chá-mate tostado e de chá-mate verde apresentaram o mesmo efeito antioxidante na prevenção à oxidação do ácido linoleico quando comparado ao antioxidante sintético BHT.

Schinella et al. (2000) estudaram o efeito antioxidante de extratos aquosos da erva-mate na peroxidação enzimática e não enzimática de células hepáticas de ratos. Suas conclusões foram que, a ingestão de extratos da infusão da erva-mate pode contribuir para o aumento da defesa do organismo contra radicais livres.

Um estudo realizado em ratos demonstrou que o extrato aquoso da erva-mate possui efeito cardioprotetor, atenuando os danos oxidativos através de um mecanismo óxido nítrico dependente (SCHINELLA et al., 2005).

Em seu estudo Mejia et al. (2005) concluíram que a infusão de erva-mate produziu inibição da atividade da topoisomerase e da proliferação de células cancerígenas bucais em teste *in-vitro*.

Em contrapartida aos estudos indicando os benefícios da erva-mate à saúde, a Agência Internacional de Pesquisas sobre o Câncer conclui que a ingestão do chimarrão quente seja provavelmente cancerígena para humanos (GOLDENBERG, 2002). Nas regiões onde há o consumo de erva-mate na forma de chimarrão é observada maior incidência de câncer de esôfago (BASTOS; TORRES, 2003). Bates et al. (2007) concluíram que o consumo do chimarrão, associado ao hábito do fumo aumentou os riscos de se desenvolver o câncer de bexiga.

Goldenberg (2002) realizou uma revisão bibliográfica e concluiu que embora o mecanismo da carcinogênese seja incerto, o consumo do mate possui significativa influência no desenvolvimento do câncer bucal e de faringe.

A injúria térmica causada devido ao consumo do chimarrão a temperaturas elevadas, que pode atingir valores acima de 60 °C em algumas regiões do Sul do Brasil, é sugerida por alguns estudos, como o único fator de risco. Em contrapartida, outros estudos sugerem que a infusão do chimarrão possui compostos potencialmente carcinogênicos, ou que potencializem o efeito da lesão causada pela temperatura elevada (BASTOS; TORRES, 2003).

Alguns autores identificaram na erva-mate a presença de compostos potencialmente cancerígenos e mutagênicos, os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), provenientes da queima da lenha durante o processo de sapeco e secagem (CAMARGO; TOLEDO, 2002; ZUIN et al., 2006; VIEIRA, 2009). Esses estudos indicam a necessidade de melhorias no processamento da erva-mate, mantendo a qualidade natural desta importante matéria-prima.

1.5 Produtos e usos alternativos da erva-mate

As formas tradicionais de consumo da erva-mate são o chimarrão e o chá-mate. O chimarrão é uma infusão de folhas de erva-mate em água quente com temperatura próxima a ebulição, bebida com o auxílio da cuia e uma “bombilha” (ALENCAR, 1960, MACCARI JUNIOR, 2005 apud PARANÁ, 1997).

Os três estados da região Sul são os maiores consumidores dos produtos da erva-mate representando 90% do consumo brasileiro, com destaque para o Rio Grande do Sul, maior consumidor (60%). Nesses estados e nos estados que apresentam forte presença de imigrantes do Sul, como no Mato Grosso do Sul e Rondônia, o consumo na forma de chimarrão responde por mais de 90% da erva-mate consumida. Nos estados do Rio de Janeiro e São Paulo a forma mais comum de consumo é o chá-mate (WINGE et al., 1995; MAZUCHOWSKI, 2000; MACCARI JUNIOR, 2005 apud PARANÁ, 1997).

Segundo Mazuchowski (2000) a erva-mate também apresenta inúmeras aplicações industriais, decorrentes da composição química das folhas, sendo utilizada como aditivo alimentar (corante natural, conservante alimentar), medicamentos diversos, produtos de higiene, cosméticos e produtos de despoluição ambiental (Tabela 1.2).

Tabela 1.2 Possibilidades de utilização da erva-mate por campo de aplicação

APLICAÇÃO INDUSTRIAL	SUBPRODUTOS COMERCIAIS	COMPOSTOS QUÍMICOS UTILIZADOS
Bebidas	Refrigerantes e Sucos Cerveja Vinho	Extrato de folhas diluído
Insumos de Alimentos	Corante natural Conservante natural Balas, Bombons e caramelo Chicletes e gomas	Clorofila e óleo essencial
Medicamentos	Estimulante do sistema nervoso central Compostos para o tratamento de hipertensão, bronquite e pneumonia	Extrato de flavonóides
Higiene Geral	Bactericida e antioxidante hospitalar e doméstico Esterilizante Emulsificante Tratamento de esgoto Reciclagem de lixo urbano	Extrato de saponinas e óleo essencial
Produtos de uso pessoal	Perfumes e desodorantes Cosméticos Sabonetes	Extrato de folhas seletivo e clorofila

Fonte: adaptado de Paraná (1997) apud Contreras (2007)

Várias pesquisas envolvendo o desenvolvimento de novos produtos a partir de folhas de erva-mate e/ou subprodutos da indústria ervateira estão sendo realizadas.

Barboza (2006) desenvolveu uma bebida à base de erva-mate enriquecida com fibras (polidextrose), tendo como ingredientes: erva-mate cancheada verde nova, ácido ascórbico, sorbato de potássio, sacarose e água mineral.

O Grupo de Pesquisa em Tecnologias Limpas da Universidade Federal de Santa Catarina em parceria com ervateiros do município catarinense de Catanduvas desenvolveu um xarope a partir da folha da erva-mate para produção de refrigerantes e refrescos (UFSC, 2002).

Os subprodutos da indústria da erva-mate também possuem aplicação. Contreras (2007) elaborou uma bebida à base dos extratos aquosos do pó de folhas cancheandas (pó do mate) e de ramos desidratados, subprodutos da produção da erva-mate que não possuem valor comercial. A bebida apresentou atividade antioxidante semelhante a dos extratos aquosos de chá verde, chá preto e chimarrão, demonstrando boa atividade antioxidante.

Vieira et al. (2008) desenvolveram uma bala de goma utilizando o pó do mate. A adição do pó do mate resultou no aumento significativo no conteúdo de polifenóis, fibras, metilxantinas e minerais, além de uma maior capacidade antioxidante. As balas foram aceitas e aprovadas quanto à intenção de compra.

O Brasil exporta produtos da erva-mate para diversos países (Tabela 1.3) como Uruguai, Chile, México, Paraguai, países da Europa (Alemanha, Bélgica, França, Itália, etc), Japão, EUA, China, entre outros (BRASIL, 2009).

Tabela 1.3 Exportação brasileira de produtos da erva-mate de 2005 a 2009

Exportações	Quantidade exportada (toneladas)				
	2005	2006	2007	2008	2009
Uruguai	27578	27922	26598	28277	27614
Chile	2634	2174	2442	1755	1964
Europa	943	849	1336	902	805
Outros	297	675	777	664	592
TOTAL	33456	33626	33159	33606	32983

Fonte: BRASIL (2009)

Ao longo dos últimos cinco anos essa exportação manteve-se constante, apresentando um valor aproximado de 33000 toneladas. Gerando U\$\$ 42.763.735,00 no ano de 2009 (BRASIL, 2009). O Uruguai representa mais de 80 % do destino das exportações da erva-mate brasileira.

2 Processamento da erva-mate

O processamento da erva-mate, segundo a resolução n^o 485 do INM - *Instituto Nacional do Mate* (INM, 1955), é constituído por dois ciclos: o do cancheamento que compreende as etapas de colheita, sapeco, secagem, trituração e peneiramento; e ciclo do beneficiamento no qual são realizadas as etapas de retificação da secagem, limpeza e trituração da planta cancheada a várias granulometrias e, peneiramento para composição dos diferentes tipos de produtos. A Figura 1.4 ilustra em fluxograma as etapas do processamento do chimarrão e do chá mate tostado.

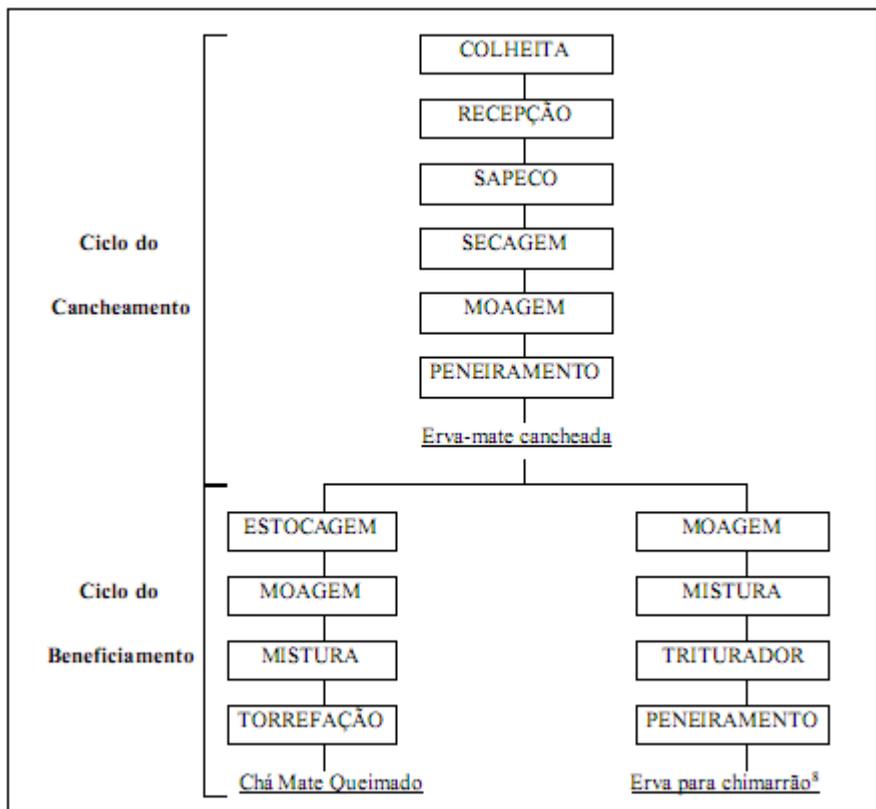


Figura 1.4 Fluxograma do beneficiamento da erva-mate para chimarrão e chá mate tostado (queimado)

Fonte: Maccari Junior (2005)

O ciclo do beneficiamento do chá mate tostado tem como produto uma erva-mate tostada, sem talos e com maior granulometria do que a erva-mate para chimarrão. O ciclo do beneficiamento do tererê é muito semelhante ao do chimarrão, diferindo apenas na etapa de trituração que resulta em uma erva-mate com maior granulometria.

2.1 Ciclo do Cancheamento

2.1.1 Colheita

A primeira colheita da erva-mate, normalmente, é feita após 3 ou 4 anos do plantio da erva-mate. Essa operação é realizada através da poda manual dos ramos com talos de diâmetro menor do que 10 cm, caso os galhos removidos sejam muito grossos a erva pode necessitar de mais 3 ou 4 anos para que nova poda possa ser feita (BRAGAGNOLO, 1980; PAGLIOSA, 2009).

O instrumento mais utilizado é o facão, porém outros instrumentos como o podão e a tesoura comum de podar também são utilizados. Caso seja utilizado o facão este deve estar bem afiado e o corte deve ser feito de baixo para cima para evitar lascas o galho (MAZUCHOWSKI, 1991).

A época mais apropriada para a colheita é durante o período de safra, compreendido entre os meses de maio a setembro, em especial entre junho e agosto. Nesse período, a erva sofre menos danos, pois não há brotação, as folhas estão maduras e está em repouso fisiológico. Durante a safra, constituída pelos meses fora do período de safra e concentrada entre dezembro e fevereiro, a colheita é realizada embora haja alguns inconvenientes, devido a fatores climáticos como geadas precoces e insolação que prejudicam o desenvolvimento da planta podada, além de menor rendimento, pois a folha é menos espessa e possui umidade mais elevada. A colheita durante a safra visa aperfeiçoar o uso da estrutura de beneficiamento e o fluxo de caixa e, também a necessidade de atender a preferência dos consumidores brasileiros, fornecendo durante o ano todo um produto de cor verde intensa, característica da erva-mate recém-processada (MAZUCHOWSKI, 1991; MACCARI JUNIOR, 2005).

A colheita mecanizada é realizada somente na Argentina e exige o emprego de máquinas colheitadeiras especiais. O alto custo de mão de obra e o risco de migração desta para atividades mais rentáveis levaram as empresas a desenvolver métodos de colheita automatizados e semi-automatizados (MAZUCHOWSKI, 2001; PRAT KRICUN, 2003).

2.1.2 Sapeco

O sapeco, uma das mais importantes etapas do processamento, tem por objetivo principal a inativação das enzimas polifenoloxidase e peroxidase, responsáveis pelo escurecimento enzimático, impedindo assim que ocorram alterações indesejáveis na cor, sabor e aroma da erva-mate (MAZUCHOWSKI, 1991; ESMELINDRO et al., 2002; CABRAL-MALHEIROS, 2007). O sapeco deve ser realizado logo após a colheita. Os ramos de erva-mate chegam na indústria agrupados na forma de raídos (Figura 1.5). Se essa operação não for realizada em 24 horas, os raídos devem ser despeitados os ramos de erva-mate devem ser espalhados em camadas delgadas para evitar murchamento (MAZUCHOWSKI, 1991).



Figura 1.5 Raídos de erva-mate no pátio da indústria ervateira

Fonte: Acervo do autor (2008)

O sapeco era, primordialmente, realizado pelos índios, no local de colheita, através da exposição rápida dos ramos da erva-mate ao calor obtido através da combustão da madeira (Figura 1.6). Essa exposição era realizada até o término da crepitação das folhas (BRAGAGNOLO, 1980; MAZUCHOWSKI, 1991; BENDLIN, 2003; MACCARI JUNIOR, 2005). O termo sapeco (do guarani “sapecá”) significa “abrir os olhos”, pois à ação do fogo direto sobre as folhas, abre seus estômatos e facilita a desidratação. O teor de umidade das folhas varia de 60 para 16 % ao final desta operação (MAZUCHOWSKI, 1991; PERALTA; SCHMALKO, 2007).

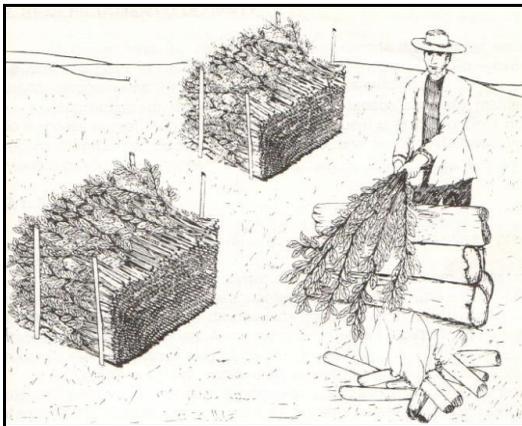


Figura 1.6 Sapeco da erva-mate de forma manual
Fonte: Mazuchowski (1991)

O sapeco manual era uma das principais causas do alto índice de tuberculose entre ervateiros, pois era realizado a céu aberto e, no inverno, a diferença de temperatura entre a proximidade da fogueira e o ambiente era muito elevada (MAZUCHOWSKI, 1991). Atualmente o sapeco é realizado em um sapecador mecânico formado por um cilindro metálico rotativo inclinado ligado em uma de suas extremidades a uma fornalha cujas chamas são formadas pela combustão da madeira ou gás propano. O cilindro tem em média de 1,8 a 2,5 m de diâmetro e de 6 a 9 m de comprimento (Figura 1.7) (NUÑHEZ; KÄNZIG, 1995; SCHMALKO; ALZAMORA, 2001; MACCARI JUNIOR, 2005; PERALTA; SCHMALKO, 2007; VIEIRA, 2009).

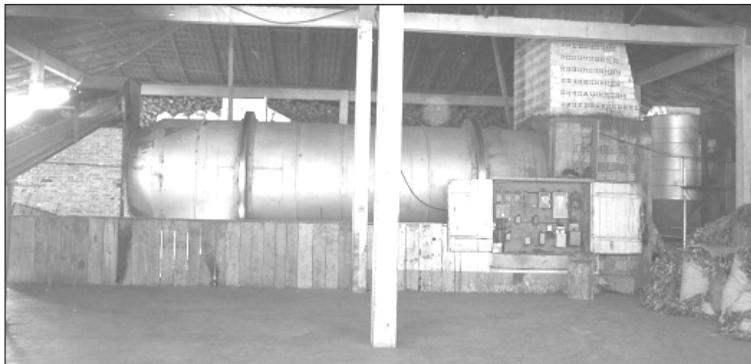


Figura 1.7 Sapecador mecânico usado no processamento da erva-mate
Fonte: Maccari Junior (2005)

Os ramos de erva-mate, que são alimentados manualmente ou por esteiras pelo topo do cilindro, entram em contato rapidamente com o calor proveniente das chamas da fornalha e seguem ao longo do sapecador, devido à inclinação do cilindro rotativo e às aletas em seu interior e, também, devido ao arraste dos gases de combustão (MACCARI JUNIOR, 2005) (Figura 1.8).

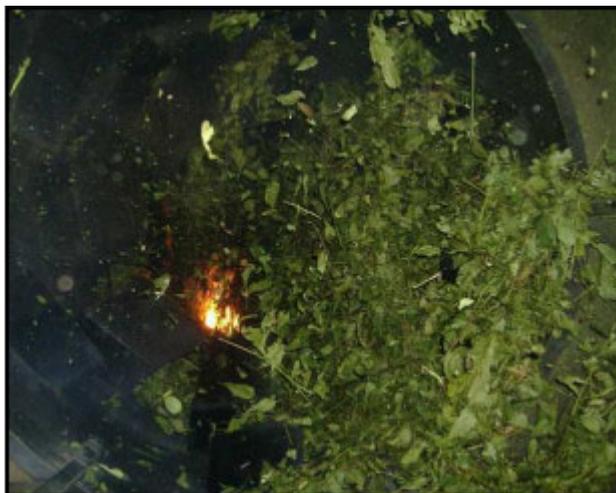


Figura 1.8 Alimentação da erva-mate no sapecador
Fonte: Vieira (2009)

A temperatura no sapecador varia de 400 a 620°C na entrada e de 120 a 200 °C na saída, com tempo de residência variando de 2 a 7

minutos (NUÑHEZ; KÄNZIG, 1995; SCHMALKO et al., 2002; VIEIRA, 2008).

As altas temperaturas empregadas e a heterogeneidade das folhas e talos da erva-mate são fatores que dificultam a execução e controle do sapeco. O controle é ineficiente e realizado de maneira empírica. As variáveis analisadas no controle do processo são o crepitar das folhas durante o processo e a coloração e o aroma das folhas após o sapeco. Desta maneira, se houver escurecimento das folhas após o sapeco é uma indicação de que o tratamento térmico foi insuficiente para a inativação enzimática; e, caso haja queima das folhas há indicação de um tratamento excessivo (VALDUGA et al., 2003). A correção do processo é lenta e resulta na perda de grande quantidade de matéria prima e/ou em um produto de baixa qualidade.

As alterações da erva-mate durante o sapeco exercem as influências mais importantes sobre a qualidade do mate. Por exemplo, a formação dos aromas característicos do mate só ocorre após o sapeco (MAZUCHOWSKI, 1991), podendo estar associada ao contato com os gases da combustão da madeira ou às diversas reações químicas (MACCARI JUNIOR, 2005).

Segundo estudo de Schmalko e Alzamora (2001), na etapa do sapeco ocorre a maior variação na cor da erva-mate, redução de 84 % da clorofila total, 70 % da umidade e 8 % da cafeína.

Schmalko et al. (2002) estudaram a degradação do dimetanoato, pesticida organofosforado utilizado na cultura da erva-mate, e constataram que ocorre redução de 25 % no teor de dimetanoato, após a etapa de sapeco.

No sapeco, a fumaça proveniente da queima da lenha carrega compostos, como os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), que são incorporados a erva-mate (ZUIN et al., 2005). Traços de HPAs têm sido detectados em vários alimentos incluindo óleos vegetais, frutas, frutos do mar, carne grelhada e defumada, peixe defumado, chás e café (BISHNOI et al., 2005).

Segundo Camargo e Toledo (2002) as quatro principais fontes de contaminação por HPAs em alimentos e bebidas são: fontes naturais (queimadas em florestas, processos geoquímicos); poluição ambiental (tráfego, sistemas de aquecimento, atividades industriais, vazamentos de óleo); alguns tipos de processamentos (defumação, secagem direta com madeira, torrefação) e materiais de embalagem.

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) constituem uma ampla classe de compostos orgânicos, que possuem em sua estrutura dois ou mais anéis aromáticos condensados, gerados pela

combustão incompleta de matéria orgânica. Há mais de 100 HPAs, porém dezesseis (Figura 1.9) são considerados poluentes prioritários pela Agência Americana de Proteção Ambiental (USEPA – *United States Environmental Protection Agency*). A Agência Internacional de estudos sobre o Câncer (IARC) identificou sete desses compostos como cancerígenos para animais e potencialmente cancerígenos para humanos, são eles: benzo(a)antraceno, criseno, benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, benzo(a)pireno, dibenzo(a, h)antraceno e indeno(1, 2, 3-cd)pireno (USEPA, 1998).

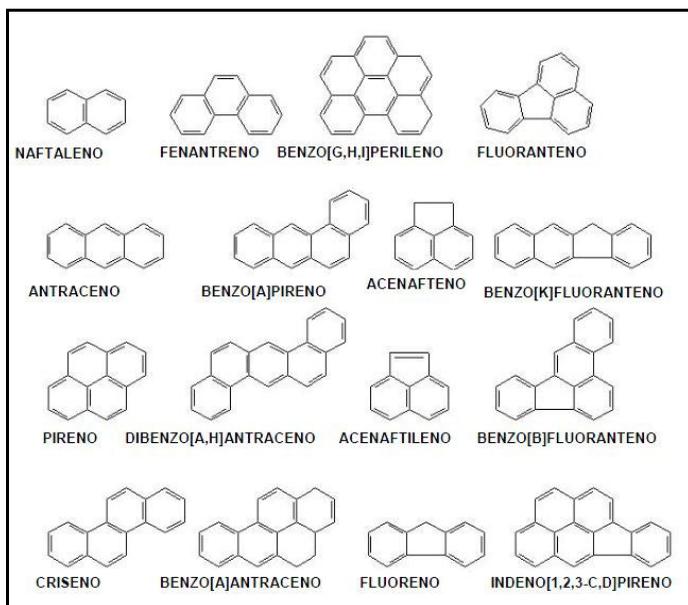


Figura 1.9 Estrutura química dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos considerados poluentes prioritários

Fonte: USEPA (1998)

Os HPAs possuem alta hidrofobicidade, baixa reatividade no meio ambiente e grande tendência de acumular nos tecidos dos organismos vivos. Apesar de serem potencialmente prejudiciais à saúde, no Brasil não existe legislação específica sobre o assunto (SCHWARZENBACH et al., 1991; BETTIN; FRANCO, 2005).

Alguns países como Alemanha, Áustria, República Tcheca, Suíça, Eslováquia, Itália e Polônia adotam como limite máximo

tolerável para o benzopireno 1 µg/kg em alimentos defumados (MORET; CONTE, 2000; SIMKO, 2002).

Fagundes et al. (2006) realizaram um estudo avaliando a relação entre o consumo do chimarrão e do cigarro e a concentração de 1-hidroxipireno glucoronídeo (1-OHPG), um metabólito do benzopireno, na urina de 200 habitantes do Rio Grande do Sul. Suas conclusões foram que tanto o cigarro como o chimarrão estão associados a uma maior concentração de 1-OHPG na urina, e podem estar associados a maior incidência de câncer de esôfago nessa região.

Embora a extração dos HPAs em água seja baixa, a ausência de um mecanismo de filtração apropriado na bomba (tubo metálico com perfurações em uma das extremidades) utilizada para o consumo do chimarrão, permite que haja presença do pó da erva-mate na infusão resultando em níveis bastante elevados de benzopireno (CAMARGO; TOLEDO, 2002).

Vieira et al. (2010) avaliaram o conteúdo de HPAs ao longo do processamento da erva-mate para chimarrão. A concentração total de HPAs nas folhas *in-natura*, após a etapa do sapeco e após a secagem variaram de 443 a 593 µg/kg; 5336 a 6095 µg/kg e 7614 a 9001 µg/kg respectivamente. Os HPAs que possuem de 2 a 4 anéis benzênicos, considerados menos tóxicos foram encontrados em maior quantidade, correspondendo a mais de 90 % dos HPAs totais. O benzopireno, o mais carcinogênico dos HPAs segundo a Agência Americana de Proteção Ambiental, foi encontrado nas amostras após a etapa de secagem e apresentou concentrações variando de 20,6 a 54,7 µg/kg, valores superiores aos permitidos pela legislação dos países europeus (1 µg/kg) . A maior incorporação dos HPAs ocorre no sapeco e durante a etapa da secagem ocorre a incorporação do benzopireno, indicando que melhorias no processamento são necessárias.

2.1.3 Secagem

Na secagem, as folhas e os talos da erva-mate sofrem uma nova desidratação até atingir o teor de umidade de aproximadamente 3 % e 11 a 28 %, respectivamente (SCHMALKO; ALZAMORA, 2001; PERALTA; SCHMALKO, 2007).

Os secadores mais empregados no século passado eram o carijo, a furna e o barbaquá. O carijo é uma estrutura aberta de todos os lados construída com madeira ou telha (Figura 1.10). Na parte superior e

interior do sistema existem varas entrelaçadas nas quais os feixes de erva sapecada ou quebrada são amarradas, dispostas na vertical umas ao lado das outras, de forma a receber o calor do fogo, feito no chão, abaixo do carijo. A massa de ramos é cuidadosamente distribuída e afrouxada para uniformizar o conjunto e assim permitir a penetração do calor e secagem uniforme dos mesmos. O controle do fogo e observação constante é necessário para evitar o incêndio da erva a ser desidratada. Outro fator negativo deste tipo de secagem é o gosto acentuado de fumaça conferido às folhas e talos (BRAGAGNOLO, 1980).

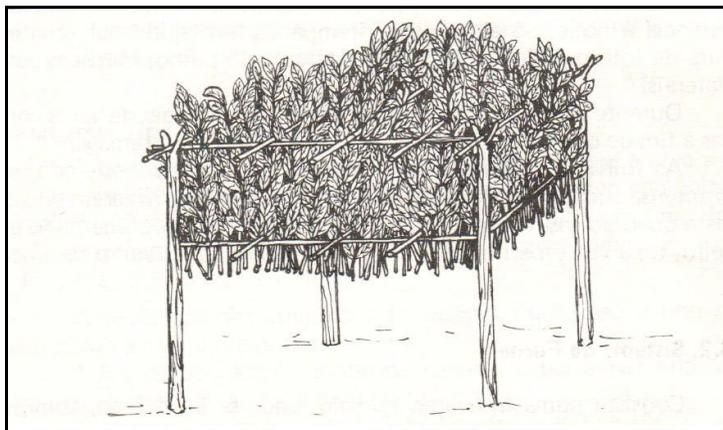


Figura 1.10 Estrutura do carijo para secagem da erva-mate

Fonte: Mazuchowski (1991)

A furna é um sistema de secagem intermediário ao carijo e o barbaquá. Não há o contato direto das chamas com os ramos de erva-mate, o fogo é feito dentro de uma escavação no solo e o calor gerado entra em contato com a estrutura de madeira onde os ramos da erva-mate ficam dispostos através de um pequeno túnel na terra. Desta maneira, ocorre melhor aproveitamento do calor e o risco de ocorrer incineração da erva-mate é menor (MAZUCHOWSKI, 1991).

A secagem no barbaquá também é realizada sem o contato direto das chamas com os ramos de erva-mate, porém sua estrutura é bem mais avançada quando comparada a da furna. O barbaquá é constituído por um conduto subterrâneo, feito com tijolos, de 10 a 20 metros de comprimento com suave declividade (cerca de 5 %) que serve de comunicação entre a fogueira e a câmara de secagem dos ramos de erva-mate. A câmara está localizada acima da parte superior do conduto. A estrutura é construída com tijolos e possui duas portas para o controle

da temperatura e funciona como uma estufa. O calor produzido pela fogueira penetra na câmara através de uma “boquilha” de 60 a 70 centímetros que possui uma chapa de ferro para proporcionar a irradiação do calor (BRAGAGNOLO, 1980).

A armação utilizada para sustentar os ramos da erva-mate durante a secagem possui diferenças no barbaquá do tipo paraguaio e no sistema brasileiro. No primeiro, a armação é formada por um arcabouço de longas varas arqueadas (Figura 1.11). A erva é disposta a granel sobre o arcabouço e durante a secagem o encarregado do serviço, denominado “uru”, revolve de tempos em tempos a erva-mate para que a secagem seja uniforme. Esta operação é realizada de 10 a 20 horas (BRAGAGNOLO, 1980).



Figura 1.11 Barbaquá do tipo paraguaio
Fonte: Bragagnolo (1980)

No bárbaqua do tipo brasileiro a armação onde fica disposta a erva-mate para secagem, não é curva e, assemelha-se a estrutura utilizada no carijo, sendo idêntica a posição dos feixes nos varais (Figura 1.12).

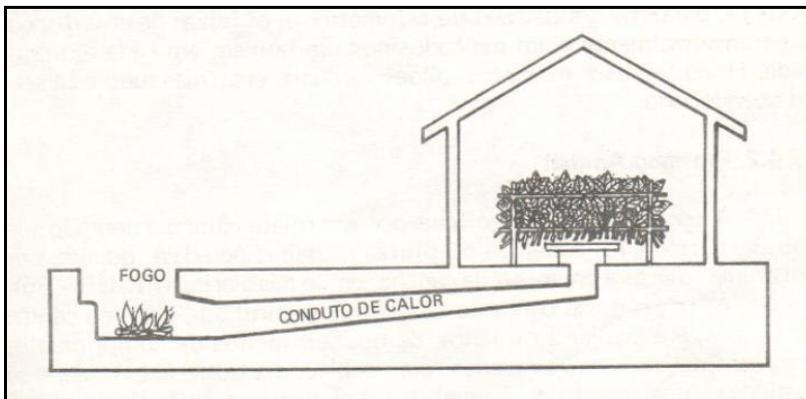


Figura 1.12 Barbaquá do tipo brasileiro
Fonte: Bragagnolo (1980)

Os secadores do século passado eram todos de operação lenta. A evolução do processo levou ao uso de novos modelos, como o secador de esteiras e os secadores giratórios.

No secador esteira não há o contato direto da fumaça da fornalha com a erva-mate. As folhas são dispostas sobre a esteira em camadas de 30 a 80 cm, a esteira se move lentamente ao longo do secador por um tempo médio de secagem de 3 a 6 horas a um temperatura de 80 a 130 °C (ESMELINDRO et al., 2002; MACCARI JUNIOR, 2005).

Segundo Känzig (1996) o secador de esteira é descrito como uma estrutura de alvenaria, com dois pavimentos de 4 metros de altura, 3,5 a 4 metros de largura e 25 a 30m de comprimento, com uma esteira em cada pavimento (Figura 1.13). Os secadores esteira podem apresentar variações na altura dos pavimentos e no número de esteiras de acordo com a indústria (NUÑEZ; KÄNZIG, 1996; MACCARI JUNIOR, 2005).



Figura 1.13 Estrutura do secador de erva-mate em esteira
Fonte: Maccari Junior (2005)

O secador rotativo é constituído por um cilindro metálico rotativo com dimensões variáveis, que possui aletas em seu interior para facilitar o deslocamento da erva-mate. Sua estrutura é similar a do equipamento utilizado no sapeco.

Anteriormente a secagem, os ramos de erva-mate passam por um picador para diminuir seu tamanho e facilitar a secagem. O tempo de contato com o calor e a fumaça, provenientes da fornalha, é de 5 minutos para as folhas e 15 minutos para os talos à temperatura média de 350 °C na entrada a 110 °C na saída do secador (ESMELINDRO et al., 2002).

Existem, também, secadores no formato cilíndricos não giratórios, denominados secadores de tambor. Nesses secadores a erva-mate é transportada ao longo do secador por dispositivos giratórios internos de movimentação (MACCARI JUNIOR, 2005).

2.1.4 Moagem

A moagem ou trituração da erva-mate é também denominada cancheamento. O termo cancheamento deriva de “cancha” nome do equipamento utilizado para fragmentar as folhas e talos da erva-mate. Segundo Mazuchowski (1991) a cancha consiste em um tabuleiro

circular, de 4 a 5 metros de diâmetro, com piso de tijolos, ladrilhos ou tábuas, e paredes laterais ou tabiques reforçados, de 70 a 80 cm de altura.

Antigamente, essa operação era realizada de forma manual ou por tração animal. O processo de trituração manual era realizado com auxílio de um facão de malhar (Figura 1.14) ou bastões de 1,20 metros de comprimento.



Figura 1.14 Facão de malhar
Fonte: Maccari Junior (2005)

A erva-mate sapecada e seca era depositada sobre couro de boi ou lonas colocadas no chão e, em seguida, era fracionada pela ação dos instrumentos. Posteriormente, o cancheamento passou a ser realizado entre duas paredes de madeira paralelas e, separadas por 1 metro de distância. A erva-mate seca era disposta entre as paredes e dois operários se colocavam em cada extremidade e desferiam golpes, triturando, assim, a erva-mate (BRAGAGNOLO, 1980).

No cancheamento utilizando tração animal (Figura 1.15), um triturador, constituído por um cone de madeira pesada, com numerosos dentes muito resistentes de cabreúva ou de outra madeira dura, era movimentado em círculos dentro da cancha, fragmentando a erva-mate (MAZUCHOWSKI, 1991).

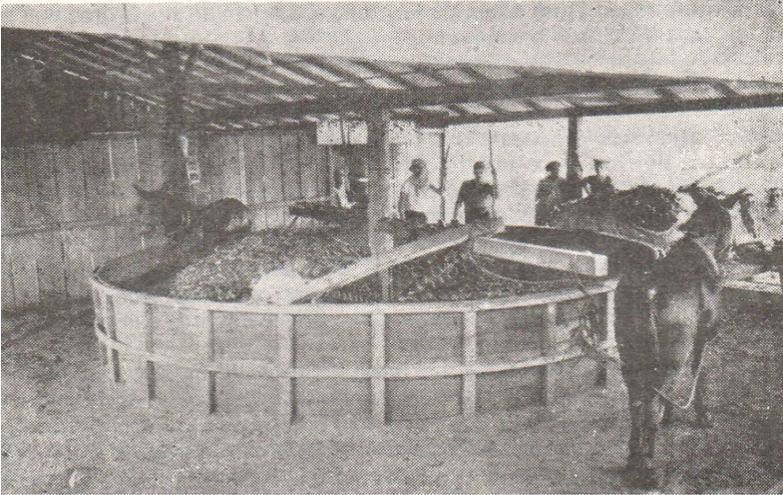


Figura 1.15 Cancheamento da erva-mate utilizando tração animal
Fonte: Mazuchowski (1991)

Atualmente a fragmentação da erva-mate é realizada em um triturador mecânico, denominado “soque”, feito de madeira dura ou de ferro (MENDES, 2005; VIEIRA, 2009). As folhas e talos da erva-mate são fragmentados devido aos choques sucessivos ocasionados pelos soques (Figura 1.16).

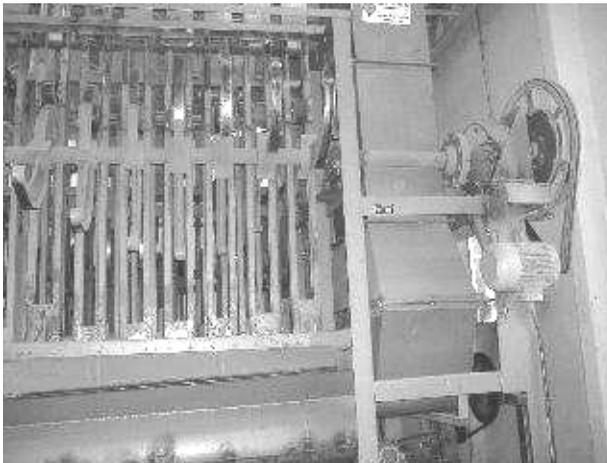


Figura 1.16 Soque mecânico
Fonte: Vieira (2008)

Após a moagem, a erva é peneirada para a separação dos talos e folhas, passando a ser chamada de erva cancheada. A erva mate cancheada é, então, armazenada e serve de matéria prima para o beneficiamento do chá, tererê e chimarrão (BRAGAGNOLO, 1980; ESMELINDRO et al., 2002). Na Argentina a erva-mate cancheada é armazenada por um período de 9 meses, a temperatura ambiente ou em câmaras a 60°C, durante 30 a 60 dias, para sofrer maturação e desenvolver a coloração amarela (SCHMALKO; ALZAMORA, 2001; PERALTA; SCHMALKO, 2007). No Brasil, ocorre a preferência pela erva-mate não estacionada que possui a cor verde brilhante.

2.2 Ciclo do beneficiamento do chimarrão

O ciclo do beneficiamento, constituído por poucas etapas, possui como objetivo principal a correção ou retificação da umidade, a separação e, em seguida, a mistura das folhas e talos para se adequar aos padrões de mercado (MENDES, 2005). No ciclo de beneficiamento do chimarrão a erva-mate é submetida a uma nova trituração para reduzir a granulometria. Em seguida, é feita uma mistura das proporções folha e talos, e por final, o produto é enviado para o setor de embalagem.

Segundo a Portaria nº 234, de 25 de março de 1998, a erva-mate para chimarrão era classificada de acordo com a proporção de folhas em PN-1, PN-2 e PN-3 possuindo 70, 60 e 50% de folhas, respectivamente (BRASIL, 1998). Em 2002 ocorreu a revogação dessa resolução e, atualmente a proporção utilizada é determinada pela própria indústria e cabe ao consumidor escolher o produto adequado à sua preferência (BRASIL, 2002).

3 Enzimas

Enzimas são catalisadores complexos que aceleram a velocidade das reações que ocorrem nos sistemas biológicos. Apresentam ótima eficiência catalítica, geralmente, maior do que os catalisadores sintéticos, além de possuir alto grau de especificidade por seu substrato e atuar em soluções aquosas e condições brandas de pH e temperatura. (LEHNINGER et al., 1995)

As enzimas são classificadas em função das reações que catalisam. A Comissão de Nomenclatura e Classificação de Enzimas da

International Union of Biochemistry padronizou a forma de denominação das enzimas. A toda enzima se atribui um código com quatro números, sendo que o primeiro representa a classe (oxidoredutase, transferase, hidrolase, liase, isomerase, ligase), o segundo representa a subclasse, o terceiro a sub-subclasse e quarto é o número de série da enzima dentro de sua sub-subclasse (RICHARDSON; HYSLOP, 1993).

As enzimas possuem importante papel na sobrevivência e proliferação das células e manutenção da vida, algumas doenças podem ocorrer devido à ausência ou deficiência de uma ou mais enzimas. Também possuem aplicação na indústria química (produção de biossensores ou procedimentos enzimáticos de análise, na produção de detergente), em medicamentos e análises clínicas (L-asparaginase é usada no tratamento de leucemia), na indústria têxtil (α -amilase para ajustes das características do amido dos tecidos), em curtumes (proteases são utilizadas para quebra do colágeno), na produção de antibióticos (penicilina amidase é utilizada na produção de penicilina), na agricultura, entre outras aplicações (LEHNINGER et al., 1995; NETO, 2001; FATIBELO-FILHO; VIEIRA, 2002).

No processamento de alimentos as enzimas possuem diversas aplicações. Algumas enzimas endógenas podem provocar alterações benéficas como a amilase da batata doce que auxilia no processo de cura e melhoria da textura e as enzimas pectinolíticas empregadas na clarificação de sucos. A adição de enzimas comerciais é empregada na produção de cervejas, vinhos, bebidas destiladas, pães, na cura de queijo, amaciamento de carnes, produção de dextrose, clarificação de vinhos, liquefação de doces. Algumas oxidases são empregadas visando alterações desejáveis na cor, sabor e aroma dos alimentos e para aumentar a vida de prateleira e o valor nutricional (REED, 1975; WHITAKER et al., 2003).

As enzimas endógenas, também, podem causar alterações indesejáveis nos alimentos; por exemplo, o escurecimento de frutas e vegetais, a rancificação de farinhas causada pelas lípases e lipoxigenases do germe do trigo, ou o amolecimento de pickles por ação das pectinases (REED, 1975). Como citado no item 2.1.7.2, na erva-mate as principais enzimas que causam alterações indesejáveis são as polifenoloxidasas e as peroxidases responsáveis pelo escurecimento enzimático e alterações no sabor e no aroma. Apesar das diferentes origens, neste trabalho estas enzimas serão tratadas por polifenoloxidase e peroxidase.

3.1 Polifenoloxidase

A polifenoloxidase (PFO, E.C. 1.10.3.1), que faz parte da classe das oxidoredutases, também é conhecida como tirosinase, catecolase, o-difenoloxidase, monofenoloxidase, polifenolase, fenolase, catecoloxidase, cresolase e catecolase devido aos diversos substratos catalisados por essa enzima (SCOTT, 1975; FATIBELO-FILHO; VIEIRA, 2002).

Foi detectada pela primeira vez em cogumelos no ano de 1856 por Schoenbein. Em 1896 após Bourquelot e Bertrand observarem, na presença de tirosina, o aparecimento de uma substância escura em cogumelos foi denominada de tirosinase. (SCOTT, 1975; FATIBELO-FILHO; VIEIRA, 2002; RAMÍREZ et al., 2003).

A polifenoloxidase possui o íon Cu^{+2} como cofator. Está amplamente presente em plantas e vegetais e se apresenta em altas concentrações em cogumelos, tubérculos de batata, pêssegos, maçãs, bananas, erva-mate, grãos de café e folhas de tabaco, além de ser encontrada em micro-organismos e no tecido de invertebrados (TAUBER, 1949; REED, 1975; EISENMENGER; REYES-DE-CORCUERA, 2007).

A polifenoloxidase catalisa a oxidação tanto de monofenóis (p-cresol, tirosina, fenol) a difenóis, bem como a oxidação de difenóis (catecol, L-dopa, dopamina, adrenalina) a benzoquinonas (Figura 1.17) (FATIBELO-FILHO; VIEIRA, 2002).

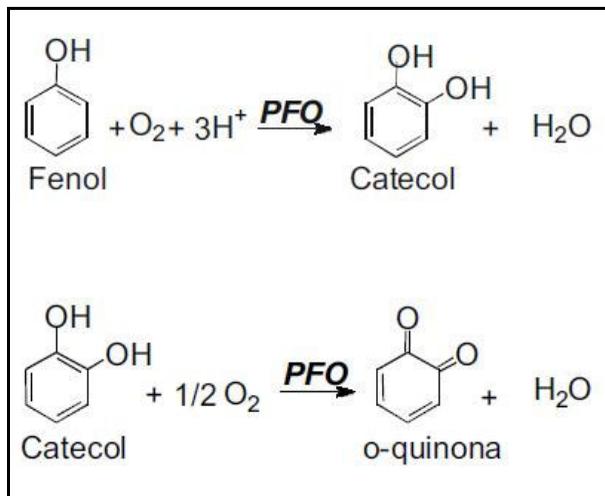


Figura 1.17 Reação de oxidação do fenol a catecol e, em seguida, a o-quinona pela ação da enzima polifenoloxidase
 Fonte: Fatibelo-Filho e Vieira (2002)

As benzoquinonas são altamente reativas com o O_2 , sulfidrilas, aminas, aminoácidos, e proteínas. Portanto vários produtos são gerados nessas reações, dentre eles as melaninas que podem apresentar coloração amarela, vermelha, marrom e preta, caracterizando o escurecimento enzimático (GOUPY et al., 1995; RAMÍREZ et al., 2003). A oxidação de compostos fenólicos pela polifenoloxidase é a maior responsável pelo escurecimento dos alimentos durante a colheita, manipulação, armazenamento e processamento. Devido ao escurecimento, estima-se que ocorrem mais de 50% das perdas de frutas, diminuição do valor nutricional e alterações sensoriais indesejadas (NÚÑEZ-DELICADO et al., 2007; EISENMENGER; REYES-DE-CORCUERA, 2009). O desenvolvimento da cor causada pela ação da polifenoloxidase é desejável no processamento de chás, café, cacau, maçãs, sidra, ameixas, passas pretas, figos pretos, zapote (RAMÍREZ et al., 2003).

3.2 Peroxidase

Peroxidases (POD, E.C. 1.11.1.7) são enzimas oxidases que utilizam o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) para catalizar a oxidação de

monofenóis, difenóis, polifenóis, aminofenóis, entre outros (Figura 1.18) (FATIBELLO-FILHO; VIEIRA, 2002).

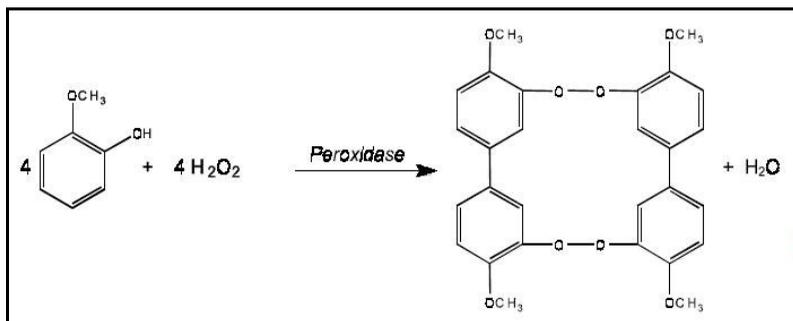


Figura 1.18 Oxidação do guaiacol à tetraguaiacol pela ação da peroxidase
Fonte: Fatibello-Filho e Vieira (2002)

Encontrada em plantas, micro-organismos e animais, foi isolada e nomeada em 1898 por Linossier, após Schöbein, em 1855, observar a formação de um composto de coloração intensa ao reagir extratos de plantas com peróxido de hidrogênio e guaiacol (FATIBELLO-FILHO; VIERA, 2002; YUAN; JIANG, 2003). As peroxidases de vegetais superiores possuem, em sua maioria, a protoporfina IX (Figura 1.19) como grupo prostético (CONESA et al., 2002).

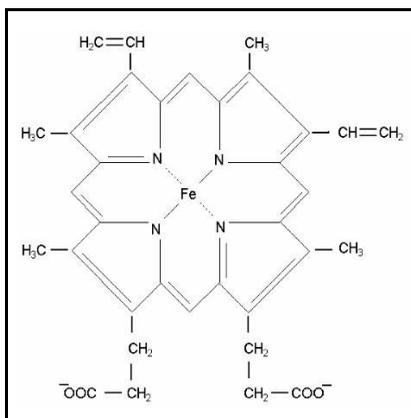


Figura 1.19 Estrutura química do grupo prostético heme ou ferro-porfirina (protoporfirina IX)

Fonte: Wilberg (2003) apud Ceni (2005)

Por ser a enzima mais termoestável em sistemas vegetais, uma vez que pode recuperar sua atividade após tratamento térmico, a peroxidase é utilizada como parâmetro de eficiência do branqueamento (GONÇALVES et al., 2007; AGÜERO et al., 2008).

No organismo humano a peroxidase possui função antioxidante impedindo que o peróxido de hidrogênio gere radicais livres como o íon hidroxila (OH^-) e o ácido hipocloroso (HOCl). Níveis baixos de peroxidase e outras enzimas antioxidantes estão relacionados ao câncer, doenças relacionadas ao sistema nervoso e distúrbios cardiovasculares (ANESINI et al., 2006).

A peroxidase apresenta aplicação industrial no tratamento de esgotos, biossínteses químicas finas, no tratamento de polpa de papel, entre outros (EISENMENGER; REYES-DE-CORCUERA, 2009). Muitas técnicas são citadas na literatura utilizando a peroxidase de extratos vegetais de aspargo, uva, abacaxi, rabanete, nabo, alface, entre outros e extrato bruto de abobrinha para determinação de peróxido de hidrogênio (FATIBELLO-FILHO; VIEIRA, 2002).

Nos alimentos a peroxidase é responsável por mudanças indesejáveis no aroma, cor (escurecimento), textura e no valor nutricional (FATIBELLO-FILHO; VIEIRA, 2002; GONÇALVES et al., 2007). No entanto provoca alterações desejáveis na textura devido à formação de ligações protéicas inter cruzadas (DUARTE-VÁZQUEZ et al., 2000).

3.3 Atividade enzimática

A atividade enzimática de uma enzima é medida através de sua velocidade de reação, em condições de ensaio estabelecidas. A Figura 1.20 ilustra a curva de formação de produto para três concentrações enzimáticas. É possível observar que no início a concentração de produto aumenta linearmente em relação ao tempo (velocidade de reação constante). Após esse período a velocidade de reação decresce com o tempo. Esse decréscimo na velocidade de reação pode ser causado por diversos fatores, dentre eles: diminuição da concentração de substrato, inativação parcial da enzima no decorrer da reação, inibição por produto e deslocamento do equilíbrio se a reação for reversível. A atividade enzimática deve ser quantificada considerando-se a velocidade

da reação durante a fase linear para evitar a interferência dos fatores citados (LIMA et al., 2001).

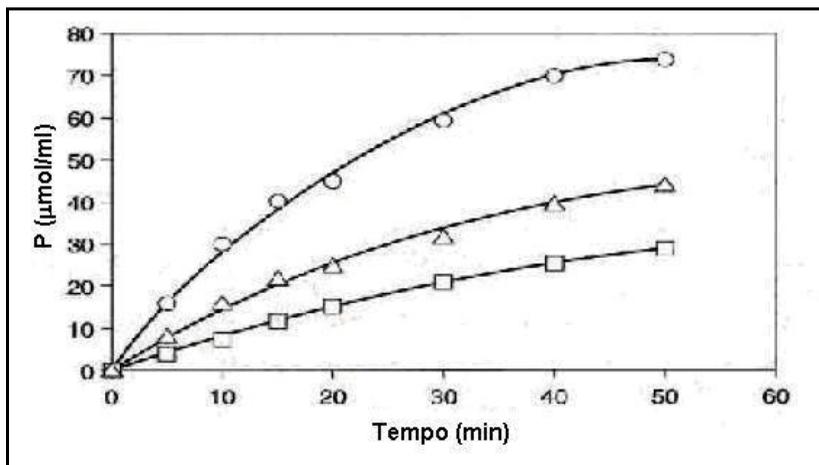


Figura 1.20 Curvas de progresso de reação para três diferentes concentrações enzimáticas (1.7 μmol/ml (O); 0,85 μmol/mL (△); 0,43 μmol /mL (□))

Fonte: Lima et al. (2001)

A atividade enzimática é expressa em unidades de atividade. Segundo a IUB (*International Union of Biochemistry*) uma unidade internacional (UI) de atividade enzimática representa a quantidade de enzima que catalisa a transformação de um micromol de substrato por minuto nas condições de ensaio definidas. A atividade enzimática específica é utilizada em várias situações e expressa em unidades (UI) por massa de proteína. A atividade enzimática residual é definida como a atividade enzimática após tratamento térmico sobre a atividade enzimática inicial (REED, 1967; LIMA et al., 2001; SHALINI et al., 2008).

Normalmente o teor de proteínas dos extratos enzimáticos é determinado por métodos espectrofotométricos diretos que utilizam a soroalbumina bovina (BSA) como padrão, são eles: o método de Biureto, de Lowry, de Bradford, da BCA e de absorção de proteínas no ultravioleta. Embora sejam, normalmente, métodos de rápida execução, vários compostos podem interferir nos resultados e a diferença entre a absorvidade específica da BSA e da proteína a ser analisada também interfere nos resultados (ZAIA et al., 1998; MIWA et al., 2008).

Uma alternativa aos métodos espectrofotométricos é a quantificação das proteínas pelo método de Kjeldahl. Nesse método, o

teor de nitrogênio total é determinado e multiplicado pelo fator de conversão 5,25, para se obter o teor de proteínas totais. (AOAC, 2005). Embora seja um método trabalhoso e demorado é confiável e serve como parâmetro de calibração para métodos de determinação direta (PEARSON, 1962).

3.4 Inativação enzimática

Na indústria alimentícia, a inativação enzimática visa eliminar ou retardar reações enzimáticas que resultam na degradação dos alimentos. A inativação enzimática é considerada um processo químico. Lumry e Eyring (1954) propuseram um esquema geral para inativação térmica enzimática onde ocorre primeiramente um desdobraimento parcial reversível seguido de uma etapa irreversível onde a enzima encontra-se inativada. Em 1982, Mozhaev e Martinek sugeriram sete fenômenos principais envolvidos na inativação enzimática incluindo agregação, dissociação em subunidades e desnaturação (mudanças conformacionais) (POLAVKOVIC; VRÁBEL, 1996).

A cinética de inativação enzimática é o acompanhamento do progresso da inativação em relação ao tempo. Modelos matemáticos são utilizados para descrever o comportamento da curva de inativação e, a taxa de inativação é determinada pelos parâmetros cinéticos desses modelos (LOEY et al., 2003).

A equação geral (Equação 1.1) descreve o decréscimo da atividade enzimática em função do tempo de processo, onde A é a atividade enzimática no tempo t , k_{obs} é a taxa de reação e n representa a ordem da reação (TOLEDO; 1999; LOEY et al., 2003).

$$\frac{dA}{dt} = -k_{obs} A^n \quad (\text{Equação 1.1})$$

A inativação de enzimas e microrganismos pode muitas vezes ser descrita por cinéticas de primeira ordem, onde se assume que a inativação ocorra pela ruptura de apenas uma ligação ou estrutura (Equações 1.2a e 1.2b). Essa hipótese é muito simples considerando que as enzimas possuem estruturas complexas e que a inativação enzimática é um processo complexo envolvendo diversos passos (FUJIKAWA; ITOH, 1996; SHALINI; et al, 2008). Porém, vários autores demonstraram como simples cinéticas de primeira ordem podem

representar comportamentos cinéticos mais complexos quando um dos fenômenos predomina em relação aos outros (FUJIKAWA; ITOH, 1996; TOLEDO, 1999).

$$A = A_o \exp(-kt) \quad (\text{Equação 1.2a})$$

$$\log\left(\frac{A}{A_o}\right) = -\frac{t}{D} \quad (\text{Equação 1.2b})$$

Na área de Ciência e Tecnologia de Alimentos é comum tratar as reações de primeira ordem utilizando o conceito de Tempo de Morte Térmica. O Tempo de redução decimal (D) é o tempo necessário, a uma dada temperatura e pressão, para que haja redução de 90% do valor da atividade inicial (Equação 1.3) (TOLEDO; 1999; LOEY et al, 2003).

$$D = \frac{\ln(10)}{k} \quad (\text{Equação 1.3})$$

No entanto, geralmente, as cinéticas apresentam comportamento mais complexo, resultantes de processos consecutivos ou paralelos, ou presença de isozimas (formas multimoleculares diferentes de uma mesma enzima), inibidores, ou outros componentes dos alimentos (FUJIKAWA; ITOH, 1996; PLAVKOVIC; VRÁBEL, 1996).

Em alguns casos a atividade enzimática, após longo período de tratamento térmico, tende para uma assíntota com valor diferente de zero (a_r). Esse comportamento é descrito pela equação 1.4 onde k é a constante de inativação e a_o e a_r são os valores da atividade enzimática residual no tempo zero e após longo período de tratamento térmico (RIZVI; TONG, 1997; LOEY et al., 2003).

$$a = a_r + (a_o - a_r) \exp(-kt) \quad (\text{Equação 1.4})$$

O desvio mais comum em relação a cinética de primeira ordem é a inativação bifásica, onde ocorre duas inativações de primeira ordem, explicada pela presença de duas isozimas, uma mais termolábil e outra mais termoestável (POLAKOVIC; VRÁBEL, 1996; BOBROVNIK, 2000).

A Figura 1.21 ilustra a inativação bifásica onde, primeiramente, há um rápido decréscimo na atividade devido à inativação da enzima termolábil, seguido, de um decréscimo menos acentuado correspondente a inativação da enzima mais termoestável.

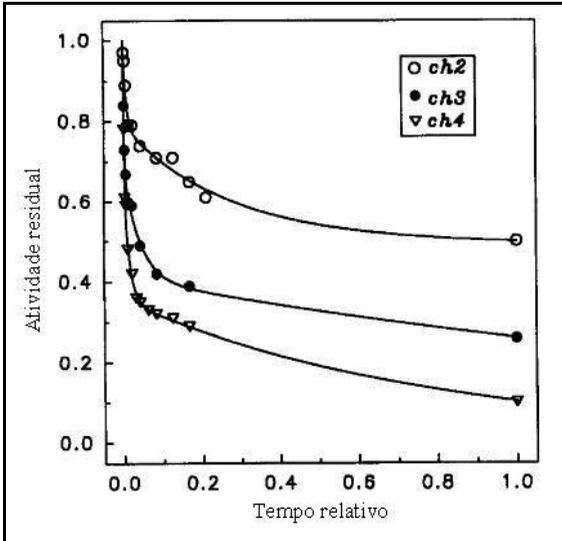


Figura 1.21 Curva de inativação enzimática bifásica da enzima luciferase em tampão fosfato 0,067M, pH 6,8, a diferentes temperaturas (45°C (○); 47,5°C (●); 50°C (▽)

Fonte: Polakovic e Vrabel (1996)

Esse comportamento é descrito pela Equação 1.5 onde os termos “a” e “k” representam a atividade enzimática residual e a constante de inativação e os subscritos “l” e “s” se referem a enzima mais termolábil e a mais termoestável, respectivamente (LOEY et al., 2003; SHALINI et al., 2008)

$$a = a_l \exp(-k_l t) + a_s \exp(-k_s t) \quad (\text{Equação 1.5})$$

Na inativação por etapas consecutivas ocorre uma sucessão de duas reações de primeira ordem irreversíveis. Uma conversão irreversível da enzima na sua forma natural para uma com menor atividade específica e, em seguida, a conversão irreversível para uma forma desnaturada. Este modelo pode ser descrito pela equação 1.6 (LOEY et al., 2003).

$$a = \left(a_1 - a_2 \left(\frac{k_1}{k_1 + k_2} \right) \right) \exp(-k_1 t) + a_2 \left(\frac{k_1}{k_1 + k_2} \right) \exp(-k_2 t) \quad (\text{Equação 1.6})$$

Existem outros desvios, que ocorrem com menor frequência, descritos na literatura, como inativação com período de latência. No início do tratamento térmico a atividade enzimática se mantém constante e, posteriormente ocorre o decréscimo ou a inativação com período de ativação onde o decréscimo da atividade enzimática é precedido por um aumento da mesma (POLAKOVIC; VRÁBEL, 1996).

4 Cor

Dos atributos de qualidade da erva-mate, a cor é o primeiro critério de escolha utilizado pelos consumidores. No Brasil há preferência pela cor verde brilhante. Entretanto, nos outros países da América do Sul (Argentina, Paraguai e outros) a preferência é pela erva-mate estacionada de cor verde-oliva a amarelo-dourado (MORAWICKI et al., 1999; VALDUGA et al., 2005).

A cor observada por humanos é resultado da percepção dos comprimentos de onda provenientes da superfície do objeto pela retina do olho. Portanto sua percepção e interpretação são subjetivas (TIJSKENS et al., 2001).

As cores são expressas em termos de seu matiz, brilho e saturação. O matiz é o termo utilizado para classificar as cores em vermelho, amarelo, azul, etc. O brilho refere-se à quão clara ou escura é a cor. O termo saturação está ligado à vivacidade. A medição numérica das cores pode ser feita criando-se escalas para o matiz, brilho e saturação (MINOLTA, 2007).

A CIE (*Comission Internationale de L'Eclairage*) criou, em 1976, a escala de cor uniforme CIEL*a*b, com objetivo de padronizar e facilitar a comparação. Por ser uma escala uniforme de cor, a diferença entre dois pontos na escala de cor corresponde às diferenças visuais entre as cores (CABRAL-MALHEIROS, 2007).

A escala de cor CIELAB (Figura 1.22) é representada em coordenadas cartesianas e possui como parâmetros de cor o L*, que se refere ao brilho, e os parâmetros a* e b* que são as coordenadas de cromaticidade. O eixo L* vai do topo à base, sendo que o valor máximo é 100 (branco) e o mínimo é zero, o qual representa o preto. Os eixos a*

e b^* não possuem limites numéricos específicos, de forma que o vermelho é representado por $+a$ e o verde por $-a$; o amarelo como $+b$ e o azul $-b$. O ponto central da escala é acromático (HUNTERLAB, 1996a).

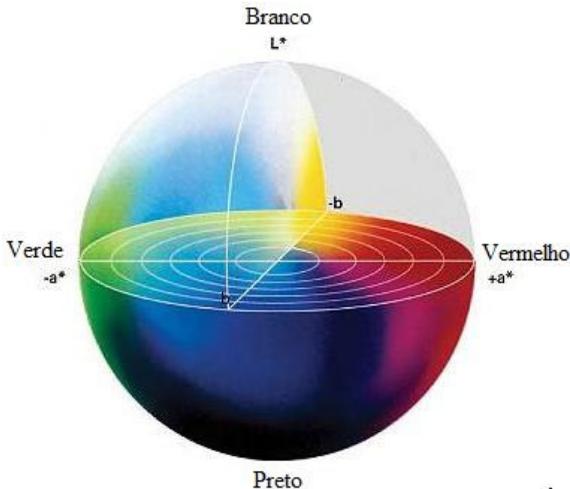


Figura 1.22 Diagrama representando o sistema de cor CIELAB
Fonte: MINOLTA (2007)

O parâmetro diferença total de cor (ΔE^*) (Equação 1.7) foi criado para se aproximar de uma diferença perceptível ao olho humano e leva em consideração os parâmetros L^* , a^* e b^* . O ΔE^* concentra as diferenças entre L^* , a^* e b^* de duas amostras em um único valor numérico (MENDES, 2005).

$$\Delta E^* = \sqrt{\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2}} \quad (\text{Equação 1.7})$$

O sistema CIELCH é outro espaço de cor criado para facilitar a comparação ou a compreensão de cores. É representado em coordenadas cilíndricas sendo formado pelos parâmetros, L^* similar ao do espaço CIELAB, o croma (C^*) e ângulo de matiz (h°) (Figura 1.23). O ângulo de matiz refere-se a percepção da cor do objeto (verde, por exemplo). O Croma indica quanto um dado matiz desvia do cinza neutro, ou seja, quanto uma dada cor difere do cinza (HUNTERLAB, 1996b; LAWLESS; HEYMANN, 1999).

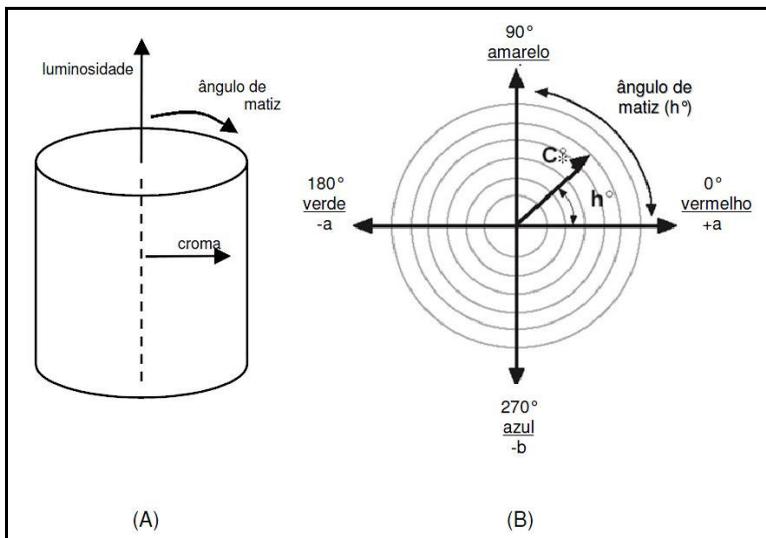


Figura 1.23 representação do espaço de cores CIELCH: disposição tridimensional, mostrando as coordenadas L^* , C^* e h° (A) e disposição bidimensional, mostrando as coordenadas C^* e h°

Fonte: Cabral-Malheiros (2007)

O valor do croma no centro é 0 e aumenta de acordo com a distância do centro. O ângulo de matiz é definido em relação ao eixo $+a^*$ (vermelho), o eixo $+b$ representa o amarelo (90°), o eixo $-a^*$ o verde (180°) e eixo $-b^*$ o azul (270°) (HUNTERLAB, 1996b).

Os parâmetros C^* e h° são derivados dos parâmetros a^* e b^* e podem ser calculados pelas Equações 1.8 e 1.9 (HUNTERLAB, 1996b).

$$C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad \text{(Equação 1.8)}$$

$$h^\circ = \tan^{-1} \left\{ \frac{a^*}{b^*} \right\} \quad \text{(Equação 1.9)}$$

5 Clorofila

Clorofilas são pigmentos, responsáveis pela cor verde de microalgas e de diversas frutas e vegetais, envolvidos no mecanismo da fotossíntese nas plantas superiores. Estão localizadas nos cloroplastos da

célula vegetal, incorporadas em uma capa de proteína e lipídeos e possuem um carotenóide situado ao longo da sua cadeia fitol (FRANCIS, 1995; HEATON; MARANGONI, 1996).

Nas plantas superiores a clorofila apresenta-se sobre duas formas: clorofila a e b, em uma proporção de 3:1 (KOCA et al., 2008). Ambas são verdes, porém seus espectros de absorção são ligeiramente diferentes, resultando que para o olho humano a clorofila a apresenta uma tonalidade verde-azulada, e a clorofila b, verde-amarelada (STEET; TONG, 1996).

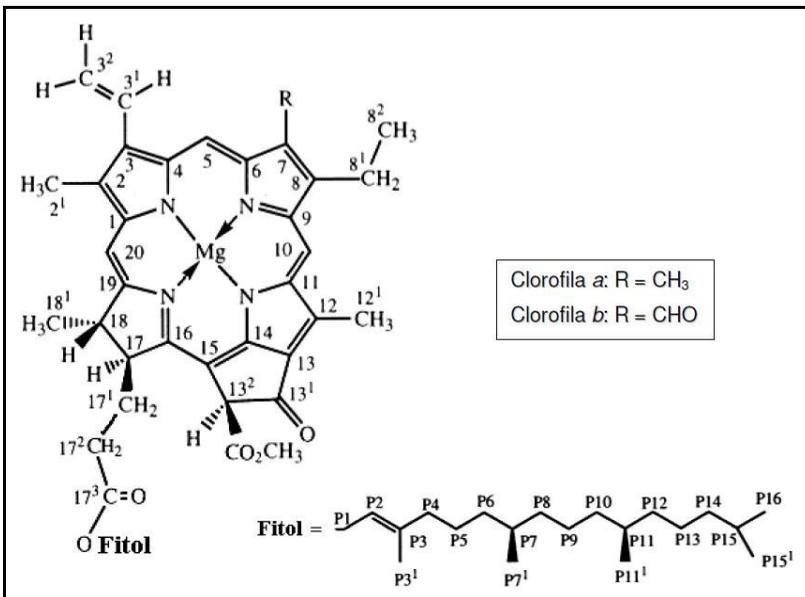


Figura 1.24 Estrutura química da clorofila com o sistema de numeração mais utilizado

Fonte: Cabral-Malheiros (2007)

Quimicamente, a clorofila a é uma estrutura tetrapirrólica com um átomo de magnésio central, possuindo uma metila na posições 2, 7, 12, 18, vinila na posição 3, etila na posição 8, na posição 17 um resíduo de ácido propiônico esterificado com uma porção fitol, uma longa e hidrofóbica cadeia álcool, com 20 carbonos, na posição 13 um grupo ceto e na posição 14 um grupo carbometoxila (Figura 1.24). A clorofila b possui a mesma configuração que a clorofila a exceto que na posição

7 existe um grupo formil em substituindo o metil encontrado na clorofila a (FRANCIS, 1995; CABRAL-MALHEIROS, 2007).

A clorofila é facilmente degradada durante o processamento de alimentos. O pH, enzimas, temperatura, luz e oxigênio têm maior ou menor influência na sua degradação, de acordo com a atividade de água do meio (FRANCIS, 1995; VAN BOECKEL, 1999).

A degradação da clorofila pode ocorrer por diversos mecanismos químicos ou bioquímicos (Figura 1.25).

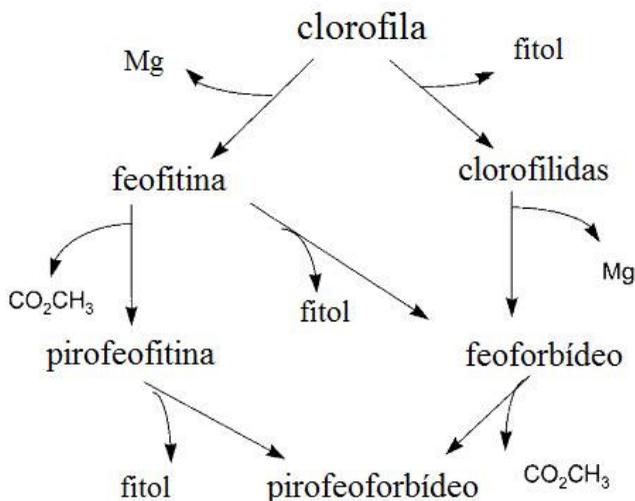


Figura 1.25 Representação esquemática da degradação da clorofila

Fonte: Heaton e Marangoni (1996)

A alteração mais comum da clorofila no processamento de alimentos é a feofitinação, onde ocorre a substituição do átomo central de magnésio por hidrogênio, devido aos ácidos formados durante o processamento térmico e/ou calor e a consequente formação das feofitinas de coloração verde oliva parda (marrom oliva) (FRANCIS, 1995; RUDRA et al., 2008).

A clorofila presente em vegetais processados é sensível a fotodegradação, processo no qual, devido à oxidação, ocorre a abertura do anel tetrapirrólico e a sua fragmentação em compostos de menor massa molecular, entre eles monopirróis, resultando na perda de cor irreversível da clorofila (CABRAL-MALHEIROS, 2007).

A degradação enzimática é causada por várias enzimas: a clorofilase atua na transformação das clorofilas em clorofilidas e na transformação das feofitinas em feoforbídeos; a peroxidase e a lipoxigenase causam degradação da clorofila devido à produção de radicais livres; entre outras como, Mg-“dequetalase”, feoforbídeo oxidase, clorofila vermelha catabólito redutase (VAN BOECKEL, 1999; FUNAMOTO et al., 2008; SHALINI et al., 2008).

A inativação térmica das enzimas reduz seu efeito na degradação da clorofila, porém em contrapartida, o aquecimento excessivo também pode resultar na degradação da clorofila (RUDRA et al., 2008). Vários procedimentos visando preservar a clorofila da degradação durante o tratamento térmico, vêm sendo realizados, tais como: ajuste do pH, tratamentos térmicos HSTS (*High-Temperature Short Time*) ou uma combinação de tratamento HSTS com ajuste do pH (KOCA et al., 2008).

A degradação de clorofila também pode ser retardada com a redução do teor de umidade e atividade de água, nessas condições as clorofilas são mantidas em compartimentos não reativos (SCHWARTZ et al., 1999).

CAPÍTULO 2

**Composição centesimal e proporções entre folhas e talos da erva-
mate (*Ilex paraguariensis*) como matéria prima**

Composição centesimal e proporções entre folhas e talos da erva-mate (*Ilex paraguariensis*) como matéria prima

RESUMO

As folhas da erva-mate possuem características morfológicas, como área e espessura, muito diferentes entre si e fortemente influenciadas por fatores climáticos, ambientais e genéticos. Como consequência destes fatores, a composição centesimal da matéria prima pode sofrer importantes mudanças, que deverão ser levadas em consideração no processamento da erva-mate. Adicionalmente, tanto as proporções folhas/talos, quanto a densidade da matéria prima, devem ser consideradas. O presente trabalho teve como objetivo a determinação da composição centesimal, da densidade e da proporção folhas/talos da erva-mate como matéria prima. As amostras de erva-mate estudadas neste trabalho apresentaram os seguintes teores de proteína ($14,19 \pm 0,62$ g/100g), extrato etéreo ($9,01 \pm 1,10$ g/100g), cinzas ($6,00 \pm 0,29$ g/100g), fibra bruta ($6,00 \pm 0,29$ g/100g) e glicídios ($48,30 \pm 2,07$ g/100g). A erva-mate como matéria prima apresentou densidade de $27,43 \pm 6,04$ kg/m³ e, proporção folhas/talos de $1,79 \pm 0,29$. Estes valores são importantes para o dimensionamento de equipamentos para o processamento da erva-mate.

Palavras chave: erva-mate; composição; densidade aparente.

Centesimal composition and proportions between leaves and twigs of mate (*Ilex paraguariensis*) as raw material

ABSTRACT

The leaves of mate have morphologic characteristics (such as area and thickness) that are very different from each other and are strongly influenced by several factors. As a consequence of these factors, the centesimal composition of the raw material can suffer important changes, which should be considered in mate processing. Moreover, both the leaves to twigs proportion and the apparent density of the raw material should be considered. The goal of this work was to determine the centesimal composition, the apparent density, and the leaves to twigs proportion of mate as raw material. The mate samples studied in this work showed the following contents: protein ($14,19 \pm 0.62$ g/100g), ethereal extract (9.01 ± 1.10 g/100g), ashes (6.00 ± 0.29 g/100g), crude fibres (6.00 ± 0.29 g/100g), and total carbohydrates (48.30 ± 2.07 g/100g). Mate as raw material showed apparent density of 27.43 ± 6.04 kg/m³ and a leaves to twigs proportion of 1.79 ± 0.29 . These data are important for the dimensioning of equipment for mate processing.

Keywords: mate; composition; apparent density.

1 INTRODUÇÃO

A erva-mate, matéria prima empregada na elaboração do chimarrão, é submetida a um tradicional processamento industrial, cujos princípios foram adequados das antigas práticas indígenas, constituído por três principais etapas: uma exposição das folhas e talos à altas temperaturas (sapeco) para que haja inativação das enzimas que causam o escurecimento enzimático: uma secagem subsequente, à temperatura mais branda; e, por fim, uma trituração (PERALTA; SCHMALKO, 2007).

As etapas de transferência de calor, sapeco e secagem, são as mais importantes do processamento da erva-mate. Nessas etapas ocorre o maior consumo de energia e o controle dos principais fatores que causam a degradação da erva-mate (SCHMALKO; ALZAMORA, 2005b; ZANOELO et al., 2007)

Diversos fatores influenciam no tratamento térmico de alimentos e conhecê-los é de suma importância. A composição química está diretamente ligada às propriedades térmicas dos alimentos, sendo utilizada em algumas correlações para o cálculo do calor específico (HELDMAN; SINGH, 1981, CHOI; OKOS, 1983) e da condutividade térmica (SWEAT, 1986), por exemplo.

As folhas da erva-mate possuem características morfológicas, como área e espessura, muito diferentes entre si e fortemente influenciadas por diversos fatores. Por exemplo, a intensidade da luz e suprimento de água, o estágio de desenvolvimento da planta, tipo de erval, entre outros (SCHMALKO; ALZAMORA, 2001; COELHO et al., 2002). Essas diferenças, assim como as diferentes proporções entre folhas e talos e a densidade aparente dos ramos de erva-mate influenciam na transferência de calor durante o sapeco e a secagem.

Visando conhecer algumas caracterizar a matéria prima de estudo, foram avaliadas a composição centesimal das folhas de erva-mate, provenientes de diferentes ervateiras, bem com a proporção entre folhas e talos e a densidade aparente dos ramos de erva-mate.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Material

As folhas de erva-mate utilizadas na determinação da composição centesimal foram retiradas de misturas de ramos de erva-mate proveniente de três ervateiras do município de Catanduvas, localizado na região Centro-Oeste do Estado de Santa Catarina, latitude sul 27°04'14", longitude leste 51°40'42" e altitude de 945 metros. As amostras foram coletadas em três períodos do mês de dezembro de 2009. Previamente, às análises, as folhas de erva-mate foram secas em estufa com circulação de ar (Modelo 171, FABBE, São Paulo, Brasil) a 50 °C até peso constante, e trituradas.

As amostras de erva-mate utilizadas nas determinações da proporção entre folhas e talos e da densidade aparente foram retirada de uma mistura de ramos de erva-mate provenientes de três diferentes ervateiras do município de Catanduvas/SC, coletadas em junho de 2009.

2.2. Análise Físico-Química

A determinação da umidade a 105 °C e, de fibra bruta foram realizadas de acordo com os método 012/IV e 044/IV, respectivamente, do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2005).

O resíduo mineral fixo foi determinado em forno mufla (Modelo Q318M, QUIMIS, Diadema, Brasil) a 550 ± 1 °C. O extrato etéreo foi quantificado pelo método de Soxhlet (AOAC, 2005). A determinação da quantidade de proteína (N x 5,25) foi realizada pelo método de Kjeldahl. As análises utilizadas seguiram a metodologia da *Association of Official Analytical Chemists*, métodos 923.03, 920.85, 920.87, respectivamente (AOAC, 2005). A fração glicídica foi determinada por diferença (YAMADA et al., 2003; GONDIM et al., 2005).

2.3 Determinação das proporções entre folhas e talos

A proporção entre folhas e talos dos ramos foi determinada por método gravimétrico. Aproximadamente 50 g de amostra foram

pesadas, posteriormente as folhas foram separadas dos talos manualmente e pesadas e, por fim, os cálculos foram feitos.

2.4. Determinação da densidade aparente

A densidade aparente (kg/m^3) foi determinada utilizando-se uma caixa de volume conhecido (15,4 x 33,5 x 50,5 cm). Preenchida com ramos e talos sem pressionar. Os cálculos foram realizados após a pesagem da matéria-prima que ocupava o referido volume.

2.5 Análise estatística

Todas as análises foram conduzidas em triplicata e os dados expressos como médias \pm desvios padrões. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), ao nível de 5 % de significância, seguido pelo teste de Tukey para comparação das médias.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 2.1 apresenta a composição centesimal de folhas de erva-mate *in natura* em base peso úmido e em base peso seco, com a finalidade de considerar as características das folhas secas e comparar com a maioria dos dados referenciados de trabalhos que estudam a erva-mate comercial, no estado seco.

Tabela 2.1 Composição físico-química das folhas de erva-mate

Composição Centesimal	Base peso úmido	Base peso seco
	g/100g (média ± DP)	
Umidade	62,11 ± 1,54	-
Proteínas	5,38 ± 0,22	14,19 ± 0,61
Extrato etéreo	3,43 ± 0,54	9,01 ± 1,10
Cinzas	2,27 ± 0,03	6,00 ± 0,29
Fibra Bruta	8,51 ± 0,04	22,50 ± 0,91
Fração Glicídica	18,31 ± 1,14	48,30 ± 2,07

DP - desvio padrão

As folhas são transportadas dos ervais para as agroindústrias, ainda frescas, no entanto, na literatura encontram-se dados para composição centesimal, apenas em base peso seco, valores entre 8,3 e 14,49 g/100g; para proteínas, 5,57 e 9,10 g/100g para o extrato etéreo; 5,07 e 6,60 g/100g para o teor de cinzas e, entre 14,96 e 21,10 g/100g para teor de fibra bruta (ESMELINDRO et al., 2002; BURGSTALLER, 1994 apud ESMELINDRO et al., 2002 PAGLIOSA, 2009).

Os valores de composição físico-química deste trabalho encontram-se dentro da faixa apresentada por outros estudos com a erva-mate. A variação entre os dados encontrados na literatura pode ser atribuída a diferentes fatores como tipo de erval, idade da planta, fatores ambientais (luminosidade, clima) entre outros fatores (ESMELINDRO et al., 2004; JACQUES et al., 2007). Adicionalmente à estas considerações, as amostras para as análises foram coletadas no mês de dezembro de 2009, as diferenças inerentes à fisiologia da planta pode ter sido outro importante fator para as diferenças encontradas, principalmente para o teor de fibra bruta, visto que Pagliosa (2007) coletou o material para seu experimento em agosto de 2007.

A Tabela 2.2 apresenta o resultado das análises da proporção entre folha e talo e a densidade aparente dos ramos de erva-mate.

Tabela 2.2 Proporções folhas/talos e densidade dos ramos de erva-mate

Densidade (kg/m ³)	Proporção Folhas / Talos
27,43 ± 6,04	1,79 ± 0,29

O estudo de Peralta e Schmalko (2007) apresentou proporção entre folhas e talos de 1,5 g de folha/g de talo. Maccari Junior (2005) avaliou essa proporção em três ervateiras e obteve valores entre 1,5 e 2,3. Valor similar foi encontrado nesse estudo.

A determinação, tanto da proporção folhas/talos, quanto da densidade, servem como base para trabalhos futuros, tais como dimensionamento da área de recepção de matéria prima, do sapecador e secador. O valor encontrado para a densidade da erva-mate como matéria prima foi de 27,43 kg/m³. Na literatura encontram-se valores de densidade aparente apenas para folhas e talos separadamente, 839 e 1899 Kg/m³, respectivamente. Os valores densidade aparente para ramos são maiores devido aos espaços vazios entre folhas e talos produzidos pelas ramificações (SCHMALKO et al., 1997; RAMALLO et al., 2001; SCHMALKO; ALZAMORA, 2005a; PERALTA; SCHMALKO, 2007). O elevado desvio padrão apresentado para a densidade desta matéria prima, dá idéia das possíveis diferenças a serem consideradas em futuros projetos de equipamentos para o processamento da erva-mate.

4 CONCLUSÃO

A composição centesimal das folhas de erva-mate e a proporção entre folhas e talos dos ramos de erva-mate apresentaram resultados coerentes com a literatura, bem como com as variabilidades esperadas para matérias primas vegetais. A proporção entre folhas e talos foi seguida nos posteriores estudo de tratamento térmico.

A proporção entre folhas e talos e a densidade dos ramos poderão ser utilizadas no estudo e em futuros trabalhos de dimensionamento de equipamentos para erva-mate.

CAPÍTULO 3

Caracterização e adequação do forno esteira para a determinação da temperatura de sapeco da erva-mate (*Ilex paraguariensis*)

Caracterização e adequação do forno esteira para a determinação da temperatura de sapeco da erva-mate (*Ilex paraguariensis*)

RESUMO

A definição da cor verde da erva-mate comercializada no Brasil é obtida na operação de sapeco, que inativa as enzimas óxido redutases do mate. No sapeco, a erva-mate é submetida à temperatura elevada das chamas, do mesmo modo como era realizado pelos primeiros exploradores desta matéria-prima. A falta de controle na temperatura deste processo acarreta na contaminação do produto por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), por pirólise do produto ou carreamento da fumaça. O objetivo do presente trabalho foi estudar o funcionamento de um sapecador (forno esteira), visando futuros trabalhos para a definição da temperatura de sapeco da erva-mate em um sistema sem a geração de HPAs. O forno atingiu estabilidade térmica após 90 min. A temperatura de ajuste não correspondeu à temperatura real do forno esteira. O efeito da temperatura sobre o tempo de residência foi mais acentuado nas menores frequências. As condições de operação do forno esteira para o sapeco da erva-mate foram definidas permitindo estudar a inativação das enzimas que interferem na cor verde da erva-mate, em processo sem fumaça.

Palavras chave: erva-mate; sapeco; forno esteira.

Characterization and adaptation of the conveyor oven to determine the temperature for the sapeco of mate (*Ilex paraguariensis*)

ABSTRACT

The green colouring of the mate marketed in Brazil is obtained through the *sapeco* process, which inactivates the oxide reductase enzymes in mate tea. In the *sapeco* process, mate is submitted to the high temperatures of flames in the same manner it used to be performed by the first exploiters of this raw material. Since there is no temperature control in this process, the product is eventually contaminated by polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), by pyrolysis of the product, and by deposition of smoke. The objective of the present work was to study the functional process of a conveyor oven, viewing future works to define the temperature of the *sapeco* of mate in a system that does not generate PAHs. The oven has reached thermal stability after 90 min. The settled temperature did not match the real temperature. The effect of temperature on the residence time was more pronounced in the lower frequencies. The conveyor oven operation conditions to the *sapeco* process were established allowing the study of the inactivation of the enzymes that affect the green colouring of mate, in a process without smoke.

Keywords: mate; *sapeco*; conveyor oven.

1 INTRODUÇÃO

A erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.), consumida no Brasil como uma bebida estimulante, de gosto amargo característico, conhecida como chimarrão, rica em compostos antioxidantes (ATHAYDE et al., 2000; BRAVO et al., 2007) é também apreciada como um produto verde. Diferentemente do que ocorre na Argentina, onde o produto é comercializado após um longo período de armazenamento, o que modifica a coloração verde característica da erva-mate, devido a alterações de origem química na estrutura da clorofila (MORAWICKI et al., 1991).

Na erva-mate comercializada no Brasil, a manutenção da cor verde é obtida através da inativação das enzimas óxido redutases no processo de sapeco (ESMELINDRO et al., 2004), um rápido tratamento térmico, no qual também ocorre a redução parcial da umidade das folhas. Adicionalmente ao sapeco, a secagem é também realizada em secadores de esteira ou cilíndricos rotativos. Após sapecada e seca, a erva-mate é triturada, na operação de soque. A erva-mate, assim denominada cancheada, mantém a coloração verde adequada à comercialização no mercado brasileiro (BASTOS et al., 2006a ; PERALTA; SCHMALKO, 2007; ZANOELO et al., 2008).

O sapeco é uma das etapas mais importantes do beneficiamento da erva-mate. Essa operação ainda mantém os mesmos princípios empregados pelos primeiros exploradores do produto e consiste na rápida exposição dos ramos de erva-mate às chamas geradas pela queima da madeira a temperaturas entre 400 e 620 °C (NUÑHEZ; KÄNZIG, 1995; SCHMALKO et al., 2002; SCHMALKO; ALZAMORA, 2005a; PERALTA; SCHMALKO, 2007; VIEIRA, 2008). O sapecador mecânico, normalmente, é um cilindro rotativo com aletas internas para facilitar o movimento dos ramos de erva-mate (PERALTA; SCHMALKO, 2007). A operação de sapeco é também a principal responsável pela incorporação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) nas folhas de erva-mate, devido à queima da madeira ou devido à pirólise da erva-mate em virtude das altas temperaturas. Os HPAs são uma ampla classe de compostos orgânicos gerados na combustão incompleta de matéria orgânica. Nessa classe de compostos, alguns são considerados potencialmente mutagênicos e carcinogênicos (CAMARGO; TOLEDO, 2002; ZUIN et al., 2005).

A incorporação de HPAs durante o processamento da erva-mate tem sido estudada por diversos autores. Vieira et al. (2010) comprovou que a etapa com maior incorporação de HPAs totais é o sapeco. Após a secagem, foi detectada a presença de benzopireno, o mais carcinogênico dos HPAs segundo a Agência Americana de Proteção Ambiental (USEPA – *United States Environmental Protection Agency*), em concentrações 54,7 vezes maiores que a permitida pela legislação europeia (USEPA, 1998; MORET; CONTE, 2000; SIMKO, 2002).

Vieira (2008) avaliou o balanço térmico das etapas de sapeco e secagem em quatro ervateiras. Concluiu-se do estudo que somente 20 % da energia consumida nessas etapas é efetivamente utilizada na evaporação da água presente nas folhas de erva-mate

O beneficiamento da erva-mate sofreu poucas modificações ao longo dos anos em relação ao processamento e aos mecanismos de controle. Portanto, melhorias visando economia de energia, controle de temperatura e um processo térmico sem a incorporação de derivados da queima da lenha e compostos de pirólise são necessários para se obter um processo mais barato e um produto mais uniforme com baixo teor de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, resultando em um produto com alto valor agregado para estimular o aumento da demanda dos derivados do mate, considerando as suas propriedades funcionais (ESMELINDRO et al., 2002).

Em parceria com o Laboratório de Tubos de calor (LABTUCAL) do Departamento de Engenharia Mecânica da Universidade Federal de Santa Catarina foi idealizado e construído um equipamento com geração de calor sem geração de fumaça para se estudar o sapeco e obter parâmetros que servirão de base para a construção de um sapecador industrial. O objetivo deste trabalho foi estudar o funcionamento do equipamento desenvolvido, visando trabalhos futuros para a definição da melhor temperatura no processo de sapeco da erva-mate.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Equipamento

O forno esteira a ser estudado para o sapeco da erva-mate possui forma retangular com 100 cm de comprimento, 27 cm de largura e 34,2 cm de altura construído com chapas e perfis de aço inox 304 laminados de 3mm de espessura e isolamentos térmicos de 25 cm de lã de rocha adensada e 21,5 cm de lã de vidro (Figuras 3.1 e 3.2).

O aquecimento é feito por dois conjuntos de resistências, com 8000W de potência cada, acomodados em placas cerâmicas (1000 mm x 200 mm x 27 mm), um conjunto está localizado na parte superior e o outro na parte inferior do equipamento (Figuras 3.1)

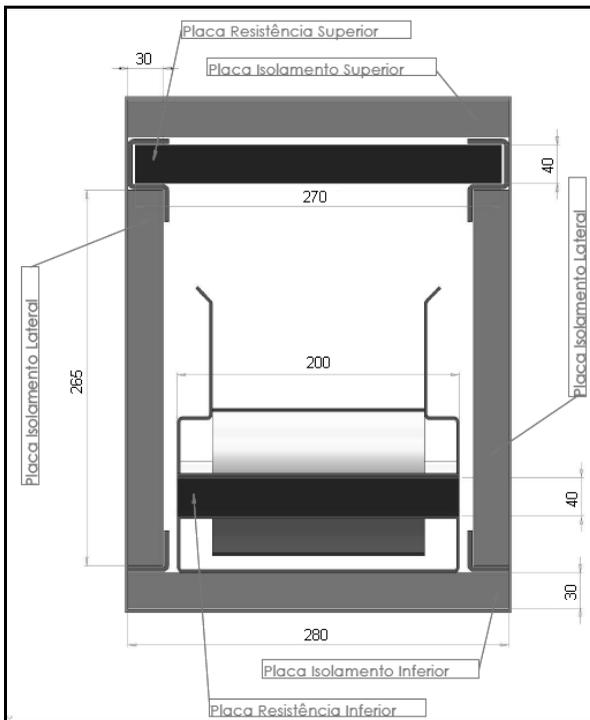


Figura 3.1 Dimensões do forno esteira estudado para o sapeco da erva-mate
Fonte: LEPTEN (2007)

O painel de controle está localizado em uma caixa metálica separada do corpo do equipamento para evitar a transmissão de calor para os componentes eletroeletrônicos (Figura 3.1). Um controlador de potência varia a potência dos dois conjuntos de resistências para manter a temperatura do forno constante (UPC-01b, Contemp, Brasil). Um inversor de frequência possibilita o controle indireto da velocidade da esteira (TOSVERT VF-NC1, Toshiba, Japão).



Figura 3.2 Forno esteira estudado para o sapeco da erva-mate
Fonte: LEPTEN (2007)

As áreas das aberturas laterais (16 x 22 cm) são controlada por duas portas ajustáveis que também possuem isolamento térmico constituído por lã de rocha adensada.

A esteira do equipamento, em aço inox 304, possui passo da espessura de 5,0 mm e passo do eixo de 5,0 mm, fio espaçado e fio do eixo de 1,6 mm, com acabamento lateral soldado e largura de 150 mm e, portanto, permite que ocorra convecção térmica (Figura 3.3).



Figura 3.3 Esteira transportadora do forno esteira

O forno esteira desenvolvido, necessitava ser caracterizado, quanto ao regime térmico, e aos ajustes necessários, visando estudar o sapeco da erva-mate, em processo similar ao que seria empregado na indústria, com o uso de um forno esteira. Tendo em vista estes objetivos, o forno esteira passou a ser operado e monitorado, para o estabelecimento de um regime térmico suficientemente estável para futuros estudos com a erva-mate.

2.2 Determinação e ajustes da temperatura de operação do equipamento

A temperatura da câmara de aquecimento é ajustada no controlador de temperatura, porém o controlador só indica a temperatura do centro do equipamento, enquanto o mesmo apresenta um gradiente de temperatura ao longo do seu comprimento.

Para realização dos experimentos as portas foram fixadas em uma área de 5 x 22 cm.

A temperatura no interior do forno foi monitorada por um sistema de aquisição de dados calibrado, constituído por termopares do tipo K (Modelo K, Omega, EUA,) e um aparelho de aquisição de dados (Modelo 34970A, Hewlett Packard, EUA), conectado a um computador. Dez (10) termopares foram fixados ao longo do equipamento com um espaçamento de 107,8 mm entre cada um deles, a 140 mm das paredes laterais, em uma chapa de aço com pinos fixada na calha da esteira

(Figuras 3.4 e 3.5). Existe, também, um gradiente de temperatura ao longo da altura do equipamento por isso os termopares foram colocados a 25 mm da esteira para monitorar a temperatura real a que as folhas e talos de erva-mate foram submetidos.

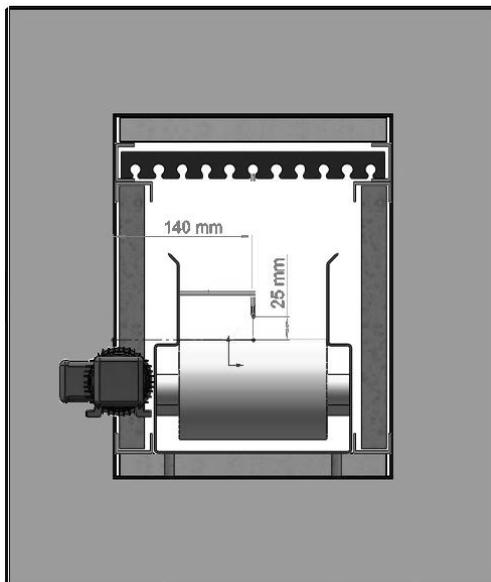


Figura 3.4 Localização dos termopares no interior do equipamento (vista lateral)

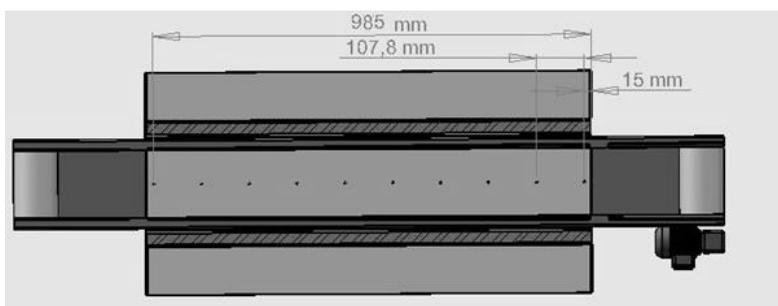


Figura 3.5 Localização dos termopares no interior do equipamento (Corte vista superior)

As temperaturas foram avaliadas levando em consideração um intervalo de 10 min. A temperatura média foi calculada a partir da média

aritmética dos valores de temperatura de todos os termopares e considerada como temperatura do equipamento.

As temperaturas do equipamento foram monitoradas para avaliar a estabilidade térmica na operação do mesmo. Esse experimento foi realizado no LABTUCAL e na Usina de processamento de alimentos do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina.

2.3 Determinação do tempo de residência no interior do forno

Para se avaliar o tempo de residência foram feitas duas marcações na esteira com spray de tinta branca, onde foi estabelecido o espaçamento de um metro entre cada marcação que corresponde à distância a ser percorrida pela matéria-prima no interior do forno. O tempo decorrido para a esteira percorrer esta distância foi medido com um cronômetro (modelo HS-3, Casio, Japão).

O tempo de residência no forno esteira foi avaliado em frequências variando de 3,5 a 40,5 Hz e temperaturas de ajuste do forno de 300 a 500 °C. As medições foram feitas em triplicata

2.4. Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), ao nível de 5 % de significância, seguida pelo teste de Tukey para comparação das médias.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As Figuras 3.6, 3.8 e 3.10 são referentes aos testes de estabilidade realizados no LABTUCAL. A Figura 3.6 apresenta o monitoramento da temperatura do equipamento ao longo da distância em função do tempo para condição de ajuste 300 °C e frequência 40,5 Hz.

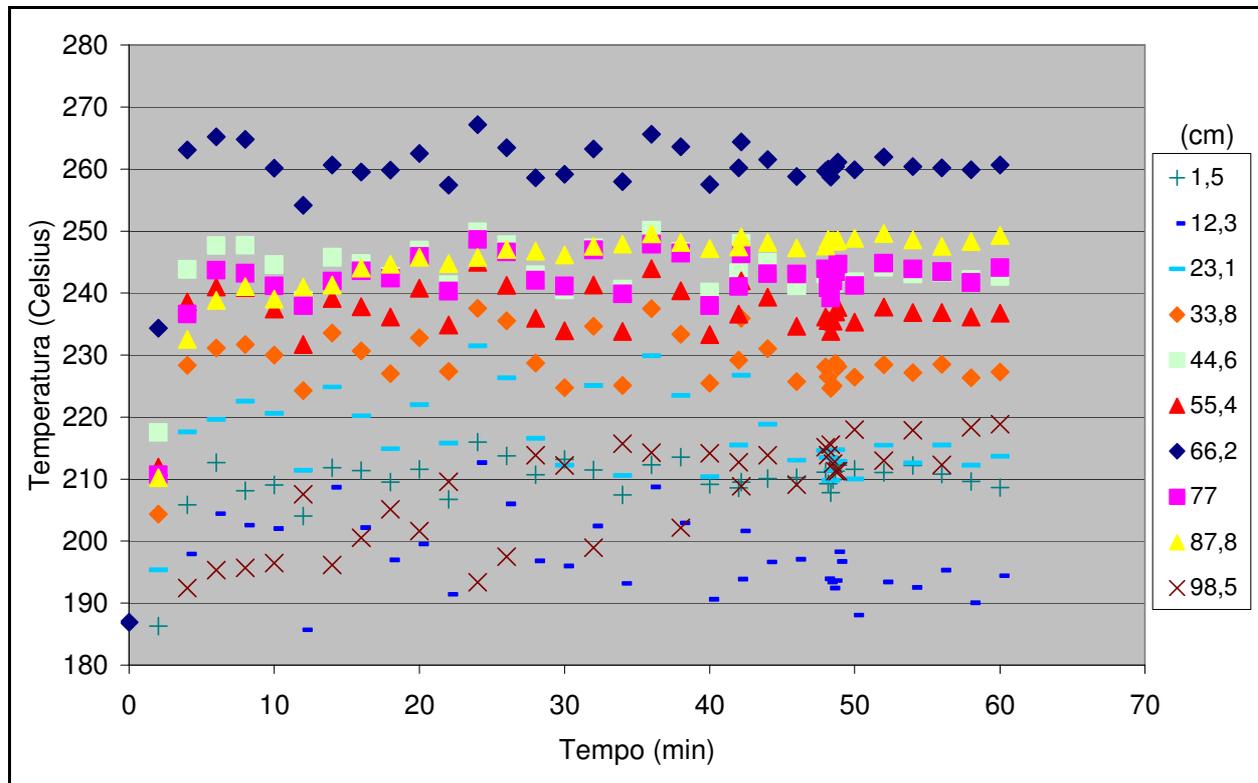


Figura 3.6 Monitoramento da temperatura do forno esteira ao longo do seu comprimento pelo período de 1 hora (300 °C 40,5 Hz)

A Tabela 3.1 apresenta as temperaturas ao longo do equipamento, a sua temperatura média e, seus respectivos desvios padrões no intervalo de 50 a 60 min.

Tabela 3.1 Temperaturas ao longo do comprimento do forno esteira e temperatura média no intervalo de tempo de 50 a 60 min para a condição de ajuste 300 °C e 40,5 Hz

Distância (cm)	Temperatura \pm DP (°C)
1,5	211 \pm 2
12,3	194 \pm 4
23,1	215 \pm 5
33,8	228 \pm 3
44,6	243 \pm 2
55,4	237 \pm 2
66,2	261 \pm 2
77	244 \pm 3
87,8	249 \pm 5
98,5	216 \pm 2
Temperatura média	230 \pm 1

DP – desvio padrão

Após uma hora de teste as temperaturas do equipamento apresentaram redução na amplitude da sua variação, e a temperatura média do forno apresentou desvio padrão de 1 °C, conforme mostra a Tabela 3.1.

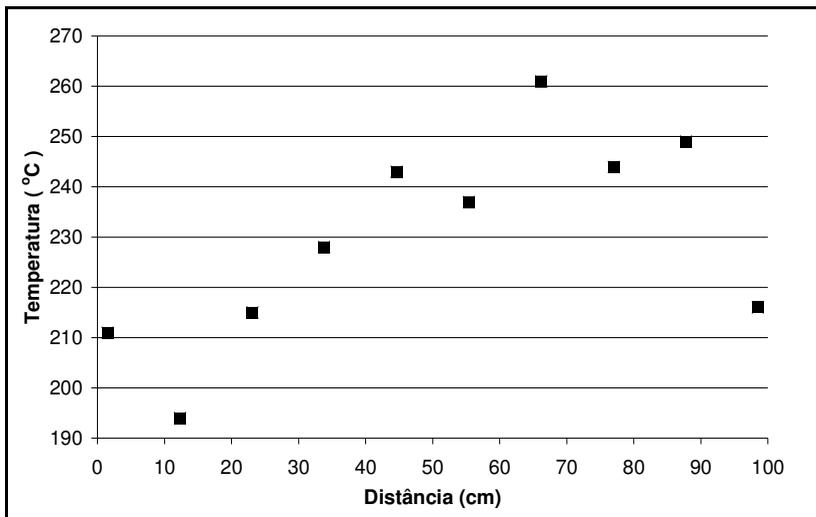


Figura 3.7 Perfil de temperatura do forno esteira no intervalo de tempo 50 a 60 min para a condição de ajuste 300 °C 40,5 Hz

O equipamento apresentou um perfil de temperatura parabólico (Figura 3.7) e desvio padrão em relação a temperatura média de aproximadamente 9 %. A partir disso, optou-se por realizar um monitoramento a 400 °C para se observar o comportamento do forno em uma temperatura elevada.

A Figura 3.8 apresenta o monitoramento da temperatura do equipamento ao longo do seu comprimento em função do tempo, pelo período de 4 horas, para a condição de ajuste 400 °C e 40,5 Hz.

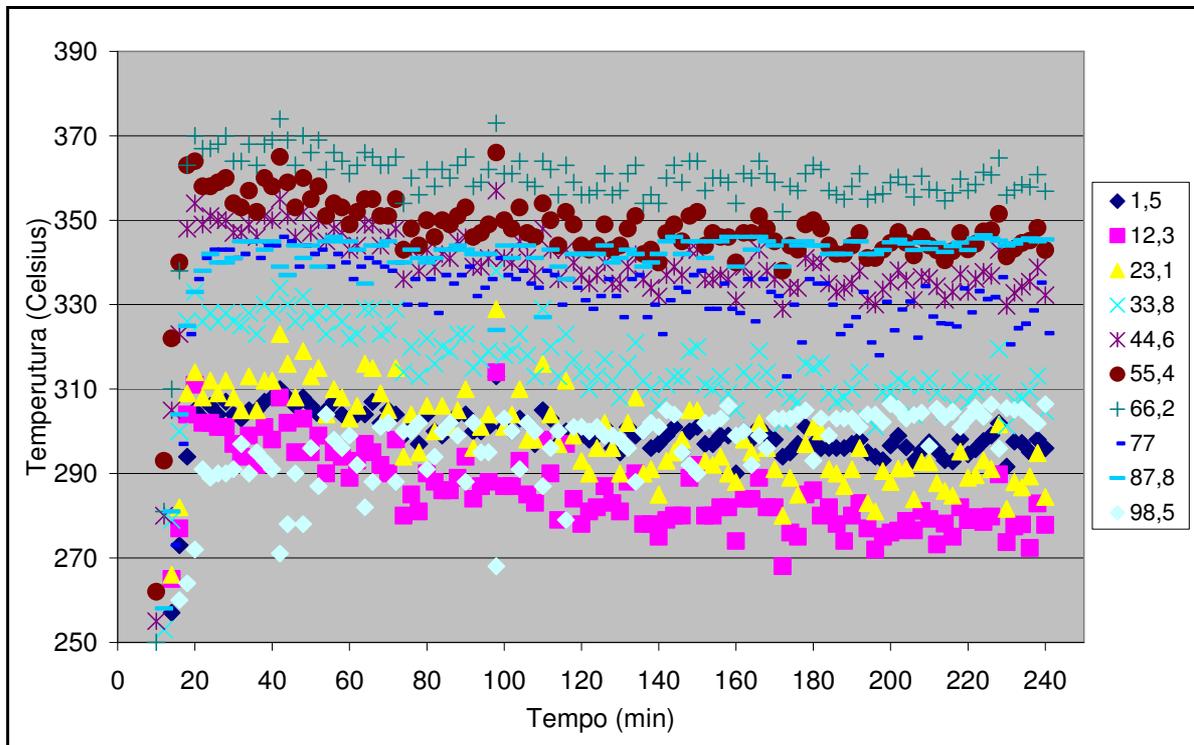


Figura 3.8 Monitoramento da temperatura do forno esteira ao longo do seu comprimento por um período de 4 horas. (400 °C 40,5 Hz)

A Tabela 3.2 apresenta as temperaturas ao longo do equipamento, a sua temperatura média e os respectivos desvios padrões no intervalo de 230 a 240 min para condição de ajuste 400 °C e 40,5 Hz.

Tabela 3.2 Temperaturas ao longo do comprimento do forno esteira no intervalo de tempo de 230 a 240 min para a condição de ajuste 400 °C e 40,5 Hz.

Distância (cm)	Temperatura (°C) ± DP
1,5	297 ± 2
12,3	279 ± 3
23,1	290 ± 5
33,8	310 ± 4
44,6	336 ± 3
55,4	345 ± 2
66,2	359 ± 2
77	329 ± 5
87,8	345 ± 1
98,5	303 ± 3
Temperatura média	319 ± 1

DP – desvio padrão

Nessa nova condição, após um período de aproximadamente 220 min observa-se uma redução na amplitude da variação das temperaturas ao longo do equipamento (Figura 3.9). Após esse período o desvio padrão da temperatura média do forno apresenta o valor de 1 °C.

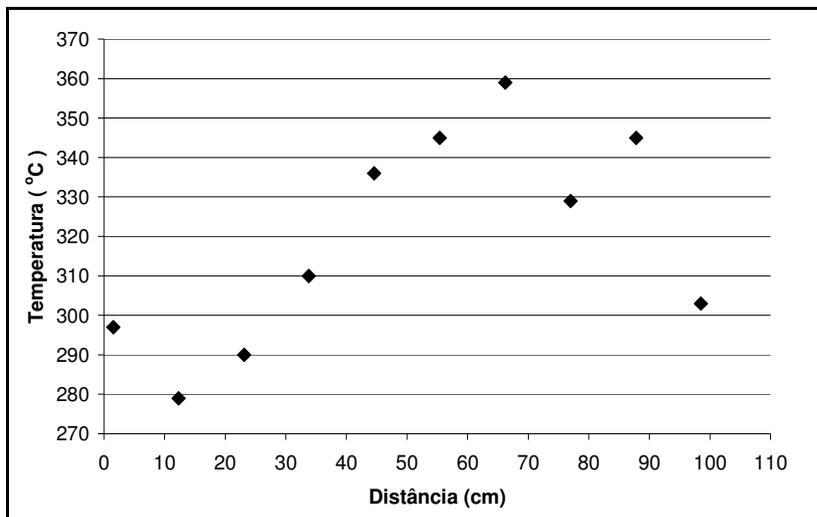


Figura 3.9 Perfil de temperatura do forno esteira no intervalo de tempo 230 a 240 min para a condição de ajuste 400 °C 40,5 Hz

O perfil de temperatura para essa condição também foi parabólico com desvio padrão em relação a temperatura média de 8,5% (Figura 3.6). Um novo experimento mantendo as mesmas condições de ajuste, por um período de 7 horas, foi realizado para avaliar se ocorreria outra redução na amplitude da variação das temperaturas ao longo do equipamento (Figura 3.10).

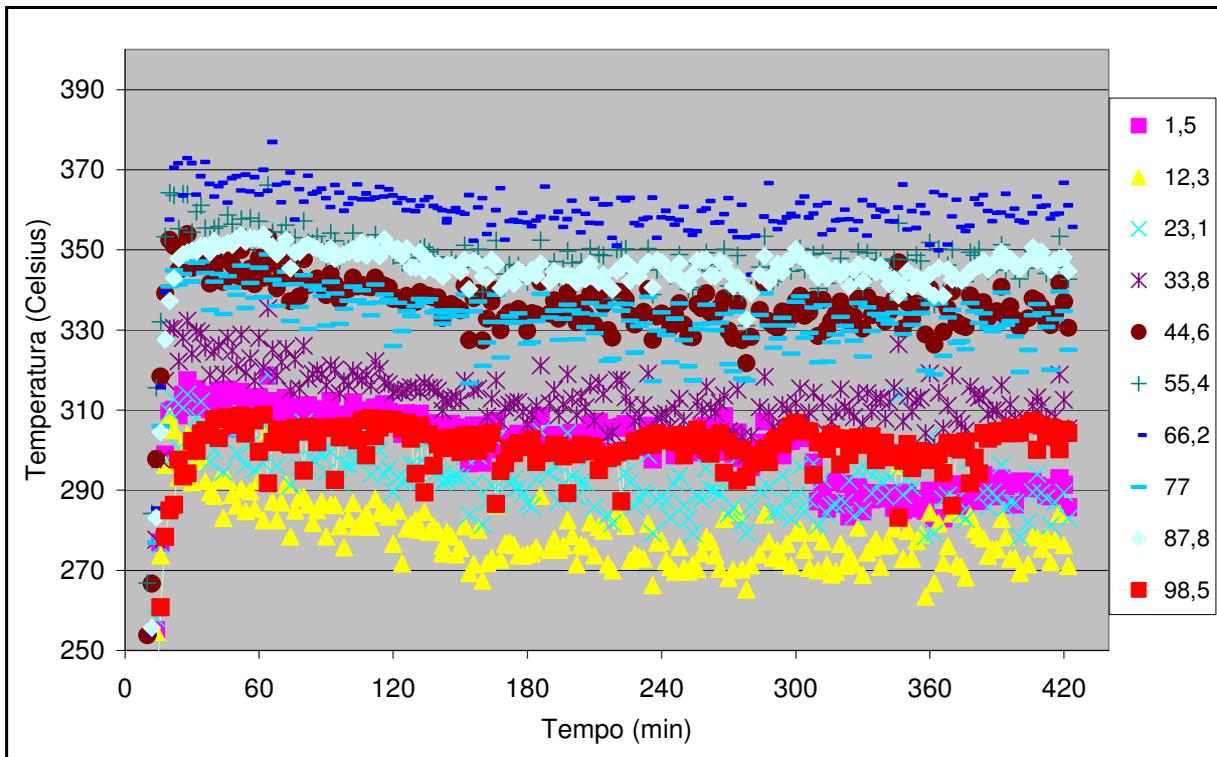


Figura 3.10 Monitoramento da temperatura do forno esteira ao longo do seu comprimento por um período de 7 horas (400 °C 40,5 Hz)

Após o monitoramento da temperatura pelo período de 7 horas, foi possível constatar que o equipamento, mesmo após longo período de funcionamento, apresenta a mesma variação de temperatura encontrada nos testes anteriores.

É possível observar que após 150 minutos o perfil de temperatura não sofre grandes alterações. Para comprovar essa constatação foi calculada a temperatura média durante o intervalo de 140 a 150 min e entre 410 a 420 min.

A Tabela 3.3 apresenta as temperaturas do equipamento durante os intervalos de 140 a 150 min e 410 a 420 min. Também apresenta a temperatura média e seu desvio padrão para cada intervalo de tempo avaliado.

Tabela 3.3 Gradiente de temperatura ao longo do forno esteira para o intervalo de 140 a 150 e 410 a 420 min para condição de ajuste 400 °C 40,5 Hz

Distância (cm)	Temperatura (°C)	
	(140 - 150min)	(410 - 420 min)
1,5	304 ± 3	290 ± 2
12,3	277 ± 5	275 ± 5
23,1	294 ± 6	289 ± 5
33,8	314 ± 4	311 ± 4
44,6	337 ± 4	335 ± 3
55,4	348 ± 4	347 ± 3
66,2	360 ± 3	360 ± 3
77	333 ± 5	331 ± 5
87,8	345 ± 2	347 ± 2
98,5	300 ± 4	304 ± 2
Temperatura média	321 ± 1	319 ± 1

A diferença entre as temperaturas médias dos dois períodos foi de apenas 2 °C. Além disso, os desvios padrões tanto das temperaturas ao longo do equipamento quanto das temperaturas médias permaneceram similares quando avaliados em 150 min e 420 min de operação do equipamento.

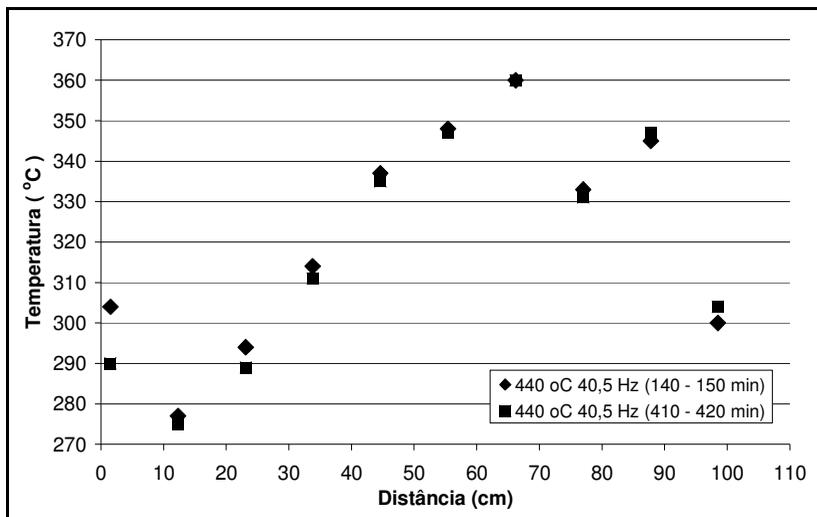


Figura 3.11 Perfil de temperatura do forno esteira nos intervalos de tempo 140 a 150 min e 410 a 420 min para a condição de ajuste 400 °C 40,5 Hz

Os perfis de temperatura nos dois intervalos de tempo foram parabólicos e apresentaram desvio padrão em relação a temperatura média de 8 a 9% (Figura 3.11). Nota-se, também, a diferença entre a temperatura ajustada no controlador de temperatura e a temperatura média do equipamento, apresentando uma diferença de aproximadamente 80 °C (Tabela 3.3), por isso o monitoramento das temperaturas é necessário para verificação da temperatura real no interior do equipamento e adequar às condições desejadas para utilização.

Após os testes preliminares, o equipamento foi transferido para o Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos. Novos testes foram realizados e, constatou-se que nesse novo ambiente, por possuir menos circulação de ar, o equipamento atingia a estabilidade térmica a partir de 90 min. Então, foram comparadas as temperaturas médias do equipamento entre os períodos de 90 a 100 min e 140 a 150 min.

A Tabela 3.4 apresenta a temperatura média do equipamento para diferentes condições de ajuste nos intervalos de tempo de 90 a 100 min e 140 a 150 min.

Tabela 3.4 Temperatura média do forno esteira em função das condições de ajuste de temperatura e tempo

Tempo (min)	Temperatura (°C) ± DP		
	391 °C 7,2 Hz	412 °C 7,2 Hz	412 °C 7,2 Hz
90-100	334 ± 2	351 ± 2	348 ± 1
140-150	333 ± 1	350 ± 1	348 ± 1

*DP: Desvio Padrão

Observa-se que, para as condições de ajuste, as diferenças das temperaturas médias entre os dois períodos de tempo avaliados apresentam como valor máximo apenas 1 °C. Conclui-se que o tempo necessário para estabilização no novo ambiente é de 90 min.

A Tabela 3.5 ilustra o tempo que a esteira leva para atravessar a câmara de aquecimento em função da temperatura de ajuste e da frequência do motor.

Tabela 3.5 Tempo em função da frequência do motor e da temperatura de ajuste para o forno esteira

Frequência (Hertz)	Tempo (s) ± DP				
	300 °C	350 °C	400 °C	450 °C	500 °C
40,5	2,49 ± 0,02 ^a	2,51 ± 0,03 ^a	2,46 ± 0,01 ^a	2,50 ± 0,02 ^a	2,48 ± 0,02 ^a
	5,03 ± 0,05 ^b	5,06 ± 0,01 ^b	5,07 ± 0,01 ^b	5,06 ± 0,04 ^b	4,98 ± 0,02 ^b
20,4	10,11 ± 0,04 ^c	10,28 ± 0,01 ^{c,d}	10,62 ± 0,03 ^{c,d,e}	10,54 ± 0,01 ^{d,e}	10,78 ± 0,06 ^e
	12,55 ± 0,06 ^f	12,75 ± 0,10 ^f	13,76 ± 0,02 ^g	13,45 ± 0,02 ^g	13,75 ± 0,03 ^g
8,3	18,67 ± 0,02 ^h	18,87 ± 0,05 ^h	19,99 ± 0,07 ⁱ	20,01 ± 0,04 ⁱ	22,68 ± 0,04 ^j
	34,85 ± 0,26 ^k	37,06 ± 0,13 ^l	41,94 ± 0,13 ^m	42,57 ± 0,18 ⁿ	48,66 ± 0,70 ^o

*DP: Desvio Padrão

*Os números seguidos das mesmas letras, entre as colunas, não diferem estatisticamente ($p > 0,05$)

Nas frequências mais elevadas (20,4 e 40,5 Hertz) não há diferença estatisticamente significativa entre os tempos, nas diferentes temperaturas de ajuste. Porém, nas demais frequências, principalmente

nas mais baixas (3,5 e 5,9) o tempo de residência possui variação diretamente proporcional à temperatura. Isso pode ser explicado pelo aumento do atrito entre a esteira e as paredes do equipamento causado pela dilatação térmica da mesma. Associado a isso, em baixas frequências, o motor da esteira perde rendimento (WEG, 2009).

Detalhes quanto ao desenvolvimento de forno esteira deste modelo, não foram encontrados na literatura, visando tecer comparação com o presente trabalho. Porém, o domínio do funcionamento do equipamento e, o monitoramento de uma faixa constante de temperatura de operação, tornou possível o emprego do mesmo em futuros trabalhos visando estudar o sapeco da erva-mate em ambiente livre de fumaça.

4 CONCLUSÃO

O equipamento atingiu equilíbrio térmico após 90 min nas condições estudadas sendo que a temperatura ajustada no controlador não corresponde à temperatura real. O efeito da temperatura de ajuste do equipamento em relação ao tempo é maior nas menores frequências.

Os dados obtidos, bem como os problemas encontrados até a definição das condições de operação, oferecem subsídios à futura construção do forno esteira em escala industrial.

CAPÍTULO 4

**Inativação térmica das enzimas peroxidase e
polifenoloxidase de folhas de erva-mate (*Ilex paraguariensis*)
em forno esteira**

**Inativação térmica das enzimas peroxidase e
polifenoloxidase de folhas de erva-mate (*Ilex paraguariensis*)
em forno esteira**

RESUMO

A inativação térmica das enzimas óxido redutases da erva-mate é decisiva para a cor do produto. A etapa do sapeco, corresponde ao branqueamento da matéria prima, seguindo o princípio tradicional de submeter os ramos à temperatura de 400 a 620 °C. Polifenoloxidase (PFO) e peroxidase (POD) presentes na erva-mate são inativadas no sapeco. No entanto, a POD pode ser mais termo resistente e recuperar sua atividade. A matéria prima apresenta irregularidades em suas dimensões a ser consideradas em futuros projetos industriais, a cinética de inativação térmica das enzimas nas folhas deve levar em consideração estas irregularidades. No presente trabalho foram determinados binômios tempo-temperatura para a inativação da POD da erva-mate em forno esteira. A POD apresentou maior termo resistência. Os modelos bifásico e por etapas consecutivas apresentaram os melhores ajustes aos dados de inativação térmica da POD ($R^2=0,99$). As melhores inativações sem pirólise das folhas de erva-mate foram obtida após tratamento a 255 °C por 20, 22 e 24s. Esses tratamentos foram utilizados em estudo posterior visando avaliar a atividade residual da POD, cor e teor de clorofila em amostras de erva-mate ao longo do armazenamento.

Palavras chave: erva-mate, sapeco, peroxidase, polifenoloxidase, cinética, inativação térmica.

Thermal inactivation of peroxidase and polyphenoloxidase enzymes in mate leaves (*Ilex paraguariensis*) in a conveyor oven

ABSTRACT

The thermal inactivation of the oxidase enzymes in mate is decisive for the colour of the product. The *sapeco* stage corresponds to the blanching of this raw material. It follows the traditional principles of submitting the leaved branches to temperatures of 400 to 620 °C. The polyphenoloxidase (PPO) and peroxidase (POD) enzymes present in mate are inactivated in the *sapeco*. However, peroxidase can be thermally resistant and recover activity. There are irregularities in the dimensions of this raw material to be considered in future industrial projects; the kinetics of thermal inactivation of the enzymes in the leaves should take these irregularities in consideration. In this work, the time-temperature binomials were determined for the inactivation of peroxidase in mate in a conveyor oven. POD presented more thermal resistance. The biphasic and consecutive steps models showed the best adjustment to the data of thermal inactivation of peroxidase ($R^2=0.99$). The best inactivation without pyrolysis was obtained after treatments at 255 °C for 20, 22 e 24s. These treatments were used in a posterior study in order to evaluate the residual activity of POD, colour and chlorophyll content in mate during storage.

Keywords: mate, *sapeco*, peroxidase, polyphenoloxidase, kinetics, thermal inactivation.

1 INTRODUÇÃO

As enzimas oxidoredutases polifenoloxidasas (PFO, E.C. 1.14.18.1) e peroxidases (POD, E.C. 1.11.1.7) são as principais enzimas da erva-mate, identificadas em 1929 por Senglet. Essas enzimas são responsáveis por alterações indesejadas na cor da erva-mate, a qual é o primeiro critério de escolha utilizado por seus consumidores (PRIMO et al., 2007; PROVESI et al., 2010). Há preferência pela cor verde brilhante no Brasil, enquanto em outros países da América do Sul há a preferência pela erva-mate estacionada de cor verde-oliva a amarelodourado (MORAWICKI et al., 1999; VALDUGA et al., 2005).

As PFO são um grupo de enzimas que possuem cobre em sua estrutura. Atuam na catálise da oxidação de monofenóis em difenóis e de difenóis em quinonas que, em seguida, podem polimerizar e formar as melaninas (GOUPY et al., 1995; FATIBELLO-FILHO; VIEIRA, 2002). São as principais responsáveis pelo escurecimento de frutas e vegetais durante a colheita, manipulação, armazenamento e processamento. Estima-se que 50 % das perdas ocorrem devido ao escurecimento enzimático (NÚÑEZ-DELICADO et al., 2007; EISENMENGER; REYES-DE-CORCUERA, 2009).

As POD são um grupo de hemoproteínas que utilizam o peróxido de hidrogênio para catalisar a oxidação de compostos fenólicos (MARTÍNEZ-PARRA; MUÑOZ, 2001; FATIBELLO-FILHO; VIEIRA, 2002). São consideradas as enzimas mais termoestáveis em sistemas vegetais, uma vez que podem recuperar sua atividade após tratamento térmico, por isso são utilizadas como parâmetro de eficiência do branqueamento (GONÇALVES et al., 2007; AGÜERO et al., 2008). As peroxidases são responsáveis por mudanças indesejáveis no sabor, cor, aroma, textura, degradação da clorofila e diminuição do valor nutricional de frutas e vegetais processados (PRABHA; PATWARDHA, 1986; GOUPY et al., 1995).

No processo de branqueamento da erva-mate, denominado sapeco, as folhas e talos de erva-mate passam rapidamente pelo calor das chamas geradas pela queima da madeira ou do propano em um secador metálico cilíndrico rotatório inclinado. Não existe consenso em relação a temperatura efetiva para o sapeco, sendo encontradas na literatura valores entre 400 e 620 °C (NUÑEZ; KÄNZIG, 1995; SCHMALKO et al., 2002; PERALTA; SCHMALKO, 2007; VIEIRA, 2008). As folhas de erva-mate possuem grandes variações em área e

espessura, ocasionando uma transferência de calor desuniforme e, assim, dificultando o controle de qualidade do produto final (COELHO et al., 2002). Diante desse cenário, o sapeco sofreu poucas modificações ao longo dos anos em relação ao processamento e mecanismos de controle. Energia em excesso é utilizada nessa etapa e na secagem, sendo apenas 20 % dela utilizada efetivamente (VIEIRA, 2008). Além disso, a exposição direta dos ramos de erva-mate às chamas e à fumaça resulta na incorporação e/ou formação de compostos de pirólise, devido às altas temperaturas. Estas condições são apropriadas para a formação e incorporação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), que são compostos orgânicos potencialmente mutagênicos e carcinogênicos (USEPA, 1998; CAMARGO; TOLEDO, 2002; ZUIN et al., 2005; VIEIRA et al., 2010).

O consumo de erva-mate na América do Sul é alto e tal fato justifica a necessidade de melhorias na etapa do sapeco, com a redução de HPAs incorporados, para obtenção de um produto seguro, de qualidade, permitindo tanto o consumo tradicional quanto a geração de produtos com maior valor agregado. Existem, também poucos estudos sobre a inativação enzimática térmica da POD e PFO de folhas de erva-mate (XANDER et al., 2000; CENI et al., 2009; PROVESI et al., 2010) e nenhum sobre a cinética de inativação dessas enzimas na matriz vegetal do mate. A matéria prima apresenta irregularidades em suas dimensões a serem consideradas em futuros projetos industriais. Portanto, a cinética de inativação térmica das enzimas nas folhas deve levar em consideração estas irregularidades. O objetivo deste trabalho foi avaliar a inativação das enzimas POD e PFO em folhas de erva-mate após sapeco industrial e estudar a inativação das enzimas PFO e POD, na matriz vegetal, ou das enzimas não purificadas. A inativação foi estudada em um forno esteira sem geração de fumaça, visando identificar binômios tempo X temperatura que apresentassem inativação térmica satisfatória, para em estudo posterior avaliar a atividade residual da POD, cor e teor de clorofila das amostras ao longo da estocagem.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material

As folhas e talos utilizados nos experimentos foram coletados em três ervateiras do município de Catanduvas localizado na região centro oeste do Estado de Santa Catarina, latitude sul 27°04'14", longitude leste 51°40'42" e altitude de 945 metros, no meio oeste Catarinense, de junho a dezembro de 2009, sendo que, novas coletas foram feitas para cada experimento de inativação térmica realizado.

Todos reagentes utilizados na obtenção do extrato enzimático e na determinação das atividades da POD e PFO são de grau analítico e foram adquiridos da empresa Vetec (Duque de Caxias, RJ, Brasil).

2.2. Experimento de inativação térmica

O equipamento utilizado para o tratamento térmico foi um forno esteira com aquecimento elétrico desenvolvido para este experimento, pelo Laboratório de Tubos de Calor (LABTUCAL) do Departamento de Engenharia Mecânica da Universidade Federal de Santa Catarina.

As folhas e talos foram separados manualmente e tratados termicamente na proporção 1,79 g de folha/ g de talo (correspondendo à proporção média praticada pelas ervateiras). O perfil de temperatura apresentou, em média, um desvio padrão de 7 %. Os tratamentos térmicos foram realizados com 5 g de folhas, em cada repetição, totalizando 20 g de folhas e 11,2g de talos para cada condição testada. Imediatamente após o tratamento térmico as amostras foram resfriadas a 25 °C, e os talos foram descartados, sendo as determinações realizadas apenas nas folhas.

2.3. Obtenção do extrato enzimático

A obtenção do extrato enzimático bruto foi realizada com base na metodologia proposta por Primo et al. (2007) e Ceni et al. (2008). Homogeneizou-se a amostra proveniente de 20g folhas de erva mate in natura tratadas térmicamente em 90 mL do tampão fosfato de sódio 0,05 mol/L (pH 7,5) e 3,0% (p/p) de agente protetor polivinilpirrolidona K30. A mistura homogeneizada foi filtrada em 4 camadas de gaze e centrifugado a 11.000 x g, a 4 °C por 30 minutos (5840R, Eppendorf do Brasil, São Paulo, Brasil). A solução sobrenadante foi utilizada como extrato enzimático bruto, sendo mantida em banho de gelo até a avaliação da atividade enzimática da PFO e PDO. Para a determinação das atividades iniciais foi feito um extrato enzimático de folhas *in natura* não tratadas termicamente utilizando 20 g de amostra.

2.4 Determinação da atividade enzimática da PFO

A atividade da PFO foi determinada a 420 nm em espectrofotômetro UV-VIS (Hitachi, U-1800, Japão) segundo metodologia adaptada de Primo et al. (2007) e Ceni et al., 2008. E um tubo de ensaio contendo 2,8 mL de tampão fosfato de sódio 0,05 M a pH 8,5 e 0,1 mL da solução de pirocatecol 0,1 M preparada em solução de Tween 80 0,1%, mantido em banho termo estatizado ("Personal Shaker", Taiyo Kagaku Kogyo Co., Japão) a 25 °C, foi adicionado 0,1 mL do extrato enzimático e a absorbância foi monitorada durante o período de fase linear. Uma unidade de atividade de PFO foi definida como a quantidade da enzima necessária para produzir 1 μmol de o-quinona a partir do pirocatecol por minuto, nas condições estabelecidas. O coeficiente de absorvidade molar da o-quinona utilizada para transformar os valores de absorbância em moles de o-quinona foi $2800 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ (CENI, 2008). Os valores obtidos foram utilizados para o cálculo da atividade residual.

2.5 Determinação da atividade enzimática da POD

A atividade da POD foi determinada a 470 nm em espectrofotômetro UV-VIS (Hitachi, U-1800, Japão) segundo metodologia adaptada de Argüello et al. (1999) e Ceni et al. (2008). Um

tubo de ensaio contendo 2,725 mL de tampão fosfato de sódio 0,05 M a pH 4,7, 0,1 mL da solução de peróxido de hidrogênio 0,2M e 0,1mL da solução de guaiacol 0,1 M preparada em solução de Tween 80 0,1%, foi mantido em banho termostatizado (“Personal Shaker”, Taiyo Kagaku Kogyo Co., Japão) a 25 °C. Foi adicionado 25 µL do extrato enzimático e a absorbância foi monitorada durante o período de fase linear. Uma unidade de atividade de POD foi definida como a quantidade da enzima necessária para produzir 1 µmol de tetraguaicol a partir do guaiacol por minuto, nas condições estabelecidas. O coeficiente de absorvidade molar da tetraguaiacol utilizado, para transformar os valores de absorbância em moles de tetraguaiacol foi 32800 M⁻¹cm⁻¹ (CENI, 2008). Os valores obtidos foram utilizados para o cálculo da atividade residual.

2.6 Determinação de proteínas totais

A quantificação das proteínas no extrato enzimático bruto foi realizada de acordo com o método de Kjeldahl (N x 5,25), *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 2005)

2.7 Testes preliminares de inativação enzimática

A definição das faixas de temperatura e de sapeco a serem utilizadas nos ensaios foi estabelecida através de testes preliminares, com o objetivo de obter condições aceitáveis de temperatura e de tempo para reduzir a atividade enzimática residual da POD a 10 %, sem provocar queima das folhas. Esse percentual de atividade residual foi adotado, com base no estudo realizado por Provesi et al. (2010), que encontraram maior retenção da cor verde da erva-mate em valores de atividade residual de POD de 5,4 % e 7,3 %, sem a geração de de HPAs.

As temperaturas de ensaio para a inativação enzimática foram selecionadas com base no estudo de Provesi et al. (2010), que avaliaram a inativação térmica das enzimas POD e PFO de folhas de erva-mate em forno mufla. As atividades enzimáticas residuais da POD e PFO e os parâmetros de cor L, a* e b* das folhas de erva-mate foram avaliados imediatamente após os tratamentos térmicos e por um período de 21 dias com análises em intervalo de 7 dias. Os tratamentos térmicos foram realizados em temperaturas variando de 350 a 500 °C e tempos variando

de 5 a 25 s. Os autores observaram melhor manutenção da cor verde ao final do experimento para os tratamentos térmicos de 450 °C por 15 s e 500 °C por 5 s.

Assim, optou-se por avaliar neste trabalho a inativação das enzimas POD e PFO em forno esteira a temperatura de 450 °C. O tratamento térmico 500 °C 5 s foi descartado devido às limitações do equipamento em atingir tal temperatura. Além disso, esse tratamento seria de difícil controle devido à heterogeneidade das folhas de erva-mate e ao curto tempo de exposição.

2.8 Superfície de resposta

A metodologia da superfície de resposta foi realizada para a escolha da temperatura e dos tempos da cinética de inativação térmica.

Um planejamento fatorial completo 2^2 (com níveis de +1 e -1), com dois pontos axiais (níveis $-\alpha$ e $+\alpha$) e três pontos centrais (nível zero) foi utilizado. As variáveis independentes são temperatura e tempo de tratamento térmico. A Tabela 4.1 apresenta os níveis das variáveis.

Tabela 4.1 Níveis das variáveis independentes: temperatura e tempo de tratamento para o estudo inativação térmica das enzimas PFO e POD da erva-mate em forno esteira.

Variáveis	Níveis				
	$-\alpha$	-1	0	+1	$+\alpha$
Temperatura (°C)	220	230	255	280	290
Tempo (s)	19	20	22,5	25	26

As variáveis dependentes são a atividade enzimática residual da PFO e da POD. Os experimentos foram realizados de forma aleatória. A Tabela 4.2 apresenta os 11 experimentos do planejamento experimental e os valores reais e codificados para a temperatura e o tempo de tratamento.

Tabela 4.2 Planejamento experimental e respectivos níveis reais e codificados das variáveis independentes para o estudo da inativação térmica das enzimas PFO e POD da erva-mate em forno esteira

Experimento	Níveis Codificados		Níveis reais	
	Temperatura	Tempo	Temperatura (°C)	Tempo (s)
1	-1	-1	230	20
2	+1	-1	280	20
3	-1	+1	230	25
4	+1	+1	280	25
5	0	0	255	22,5
6	0	0	255	22,5
7	0	0	255	22,5
8	-1.14	0	220	22,5
9	+1.14	0	290	22,5
10	0	-1.14	255	19
11	0	+1.14	255	26

Devido à variabilidade das folhas de erva-mate e da temperatura de tratamento, o experimento foi realizado em duplicata e os melhores tratamentos selecionados. Os experimentos foram realizados de forma aleatória. As determinações foram feitas em triplicata. O software STATISTICA versão 7.0 (StatSoft, Inc. Tulsa, OK) foi utilizado para analisar estatisticamente os dados ao nível de significância de 5%.

2.9 Cinética da inativação térmica da enzima peroxidase da erva-mate em forno esteira

A cinética da inativação da POD foi realizada a temperatura de 255 °C. Os tempos de tratamento avaliados foram 5, 10, 15, 20, 22 e 24 s.

A Tabela 4.3 apresenta quatro modelos disponíveis na literatura para descrever o comportamento da inativação térmica de enzimas, utilizados neste trabalho.

Tabela 4.3 Modelos cinéticos utilizados para avaliar a inativação da POD da erva-mate em forno esteira

Modelo	Equação	Referência
1 ^a ordem	$a = 100 \exp(-k \times t)$	Toledo (1999)
Conversão fracionária	$a = a_r + (a_0 - a_r) \exp(-k \times t)$	Loey et al. (2003)
Inativação bifásica	$a = a_l \exp(-k_l \times t) + a_s \exp(-k_s \times t)$	Bobrovnik (1999)
Inativação por etapas consecutivas	$a = \left(a_1 - a_2 \left(\frac{k_1}{k_1 + k_2} \right) \right) \exp(-k_1 t) +$ $a_2 \left(\frac{k_1}{k_1 + k_2} \right) \exp(-k_2 t)$	Polakovic e Vrabel (1996)

As determinações de atividade enzimática foram feitas em triplicata. Os ajustes dos modelos foram feitos no MATLAB[®] R14 (MathWorks Inc., Natick, MA, EUA). A avaliação dos ajustes dos modelos foi feita utilizando os critérios estatísticos, coeficiente de determinação (R^2) e o Erro Padrão.

2.10 Atividade enzimática da POD e PFO após o sapeco industrial

Para obtenção do extrato enzimático utilizou-se 20g para folhas *in natura* e 11g para folhas sapecadas. A determinação das atividades enzimáticas seguiu o mesmo roteiro apresentado para as amostras tratadas no forno esteira.

As determinações foram realizadas em triplicata. A análise de variância ao nível de significância de 5 % foi feita no software STATISTICA versão 7.0 (StatSoft, Inc. Tulsa, OK).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Testes Preliminares

A exposição das folhas ao tratamento térmico 450 °C por 15 s no forno esteira resultou na queima de algumas partes das folhas. Novos testes foram realizados avaliando as características das folhas de erva-mate após o tratamento térmico com as temperaturas de 300, 350 e 360 °C. Os tratamentos térmicos a temperatura de 350 °C foram os que mais se assemelharam ao tratamento a 450 °C em forno mufla realizado por Provesi et al. (2010). Em um primeiro momento, a temperatura de 350 °C nos tempos de retenção de 0; 2,5; 5; 7,5; 10; 12,5 e 15 s foi aceitável. Porém, ao repetir as mesmas condições, a partir de 12 s houve queima das folhas. Adotou-se a redução da temperatura para correção do problema, a 300 °C, durante 20 s. Ainda houve queima nas folhas e, mesmo assim, a atividade residual da POD era significativa. Por fim, decidiu-se realizar uma superfície de resposta para previsão dos experimentos com temperaturas inferiores a 300 °C.

3.2 Superfície de resposta

A Tabela 4.4 apresenta as condições de cada ensaio realizado, com as variáveis independentes (temperatura e tempo de tratamento) e respostas (atividade residual da POD e da PFO).

Tabela 4.4 Atividade enzimática residual da POD e PFO de erva-mate sapecada em forno esteira nos diferentes ensaios realizados

Ensaio	Temperatura (°C)	Tempo (s)	Atividade Residual POD (%)	Atividade residual PFO (%)
1	230	20	20	4
2*	280	20	14	3
3	230	25	17	3
4*	280	25	1	2
5	255	22,5	5	4
6	255	22,5	7	3
7	255	22,5	8	4
8	220	22,5	29	3
9*	290	22,5	0	3
10	255	19	15	4
11*	255	26	4	3

* ensaios nos quais ocorreu queima das folhas

Os ensaios em que as folhas sofreram queima (Figura 4.1) não podem ser considerados válidos embora apresentem valores aceitáveis de inativação enzimática, pois além de conferir ao produto final o sabor “queimado” indesejável, provavelmente ocorre a formação dos compostos de pirólise, dentre eles os HPAs. Na Figura 4.1 também é possível observar a heterogeneidade nas dimensões das folhas, sendo que a queima ocorreu principalmente nas folhas de menor dimensão.

Este comportamento das folhas de diferentes dimensões indica uma das grandes dificuldades em propor um regime térmico adequado para a operação de sapeco da erva-mate.



Figura 4.1 Folhas de erva-mate queimadas no tratamento térmico para inativação das enzimas PFO e POD

O tratamento a 280 °C e 20 s apresentou atividade residual acima de 10%, indicando que além de haver queima de algumas folhas ocorreu a inativação insatisfatória nas folhas de maior dimensão.

A atividade enzimática residual da PFO não apresentou diferença significativa entre os ensaios realizados, impedindo a obtenção de um modelo estatístico para a PFO. Os níveis de inativação da PFO foram baixos em todos os ensaios, com valores menores do que 5 %, inclusive no ensaio 8, que representa o tratamento térmico mais brando, no qual a atividade enzimática residual da POD foi de 29%.

No estudo de Provesi et al. (2010), que avaliou o tratamento térmico de folhas de erva-mate em forno mufla, a enzima PFO apresentou maior atividade residual após tratamento térmico do que a POD. Porém somente a POD apresentou regeneração da atividade enzimática após 7 dias.

Ceni et al. (2009) estudaram a inativação das enzimas POD e PFO de folhas de erva-mate após tratamento em micro-ondas. A POD mostrou-se mais termo resistente, pois a inativação ocorreu após 220 s, e da PFO após 30 s.

No modelo estatístico obtido para a atividade residual da POD os parâmetros estatisticamente significativos foram a temperatura, linear

e quadrática e o tempo linear, o que pode ser observado no gráfico de Pareto (Figura 4.2).

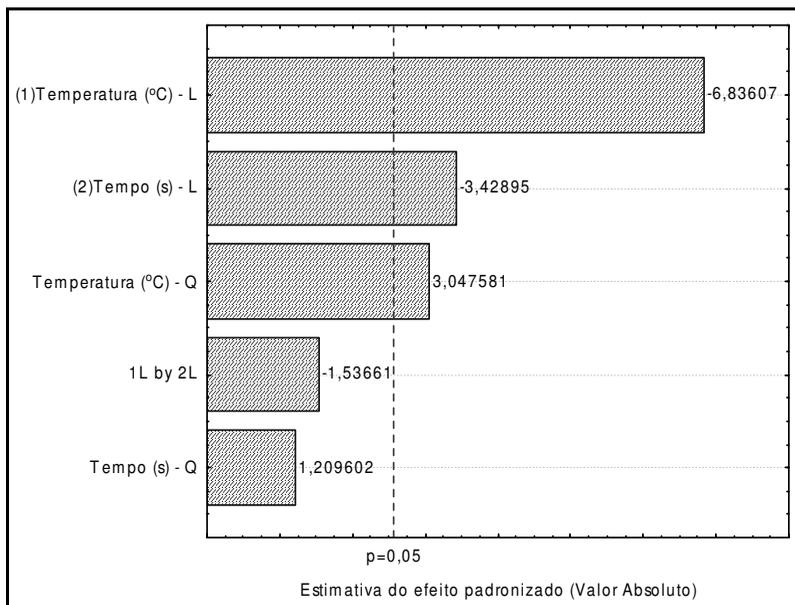


Figura 4.2 Gráfico de Pareto dos efeitos padronizados da atividade residual da POD em função da temperatura e do tempo de tratamento em forno esteira

Os coeficientes de regressão dos parâmetros significativos ($p < 0,05$) do modelo estatístico estão apresentados na Tabela 4.5. Os sinais negativos dos coeficientes de regressão da temperatura e tempo lineares indicam uma diminuição da atividade residual da POD (%) com o aumento no valor dessas variáveis, sendo que a temperatura apresenta maior influência na atividade residual da POD. O sinal positivo da temperatura quadrática indica que o modelo possui um ponto de mínimo.

Tabela 4.5 Coeficientes de regressão para a resposta da atividade residual da POD da erva-mate em forno esteira

Efeitos	Coefficiente de regressão	Erro padrão	t (7)	p
Média	8,21	1,54	5,33	0,00
Temperatura (L)	-7,90	2,60	-6,09	0,00
Temperatura (Q)	3,75	2,99	2,51	0,04
Tempo (L)	-3,96	2,60	-3,05	0,02

$R^2=0,88$

O coeficiente de determinação para o modelo foi 0,88, ou seja, indica que o modelo explica 88% da variação dos dados experimentais.

A Equação 4.1 apresenta o modelo estatístico para atividade residual da POD em função da temperatura e do tempo.

$$\text{Atividade residual da POD (\%)} = 514,88 - 3,38 \times T + 0,01 \times T^2 - 1,59 \times t \quad (4.1)$$

onde T (°C) e t (s) são os valores da temperatura e tempo de exposição, respectivamente.

Para se validar o modelo estatístico além do coeficiente de determinação é necessário avaliar a análise de variância do processo (Tabela 4.6).

Tabela 4.6 Análise de variância para o modelo quadrático para inativação da enzima da POD

Fonte de variação	Soma Quadrática	Graus de liberdade	Média Quadrática	F _{calculado}	F _{tabelado}
Regressão	703,48	3	234,49	17,57	4,35
Resíduos	93,43	7	13,35		
F. ajuste	88,76	5	17,75	7,61	19,30
Erro puro	4,67	2	2,33		
Total	796,91	10			

F_{0,95}, 3, 7= 4,35 ;F_{0,95}, 5, 2= 19,30

a F-razão (Regressão/Resíduos)

b F-razão (falta de ajuste/erro puro)

O modelo estatístico obtido foi significativo (F calculado^a >3 F tabelado) e a falta de ajuste não foi significativa (F calculado < F tabelado) (BARROS NETO et al., 1996; BRUNS, 2002). O valor de F

valida a significância do modelo, que deve ser utilizado apenas na faixa estudada. Embora a metodologia utilizada permita a extrapolação, no estudo de alimentos isso não é possível, pois geralmente as variáveis não possuem comportamento linear.

Outro aspecto que deve ser considerado para a validação de um modelo é a distribuição dos erros que os erros devem seguir a distribuição normal, com médias o mais próximo do zero (Figura 4.3).

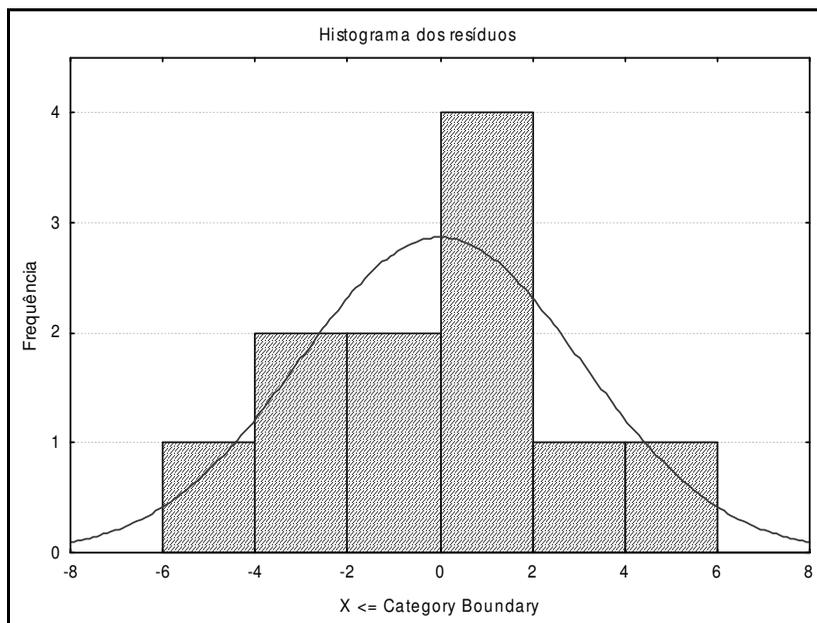


Figura 4.3 Histograma dos resíduos do modelo estatístico da atividade residual da POD em função da temperatura e do tempo de tratamento.

A Figura 4.3 mostra que os erros do ajuste do modelo obtido (Equação 4.1) seguem a distribuição normal, havendo maior concentração dos erros na faixa entre 0 a 2.

Analisando a superfície de resposta e de contorno (Figuras 4.4) observa-se que, dentro das faixas estudadas, atividades residuais da POD abaixo de 10 % foram obtidas em temperaturas acima de 240°C e de tempos acima de 19 s, aproximadamente.

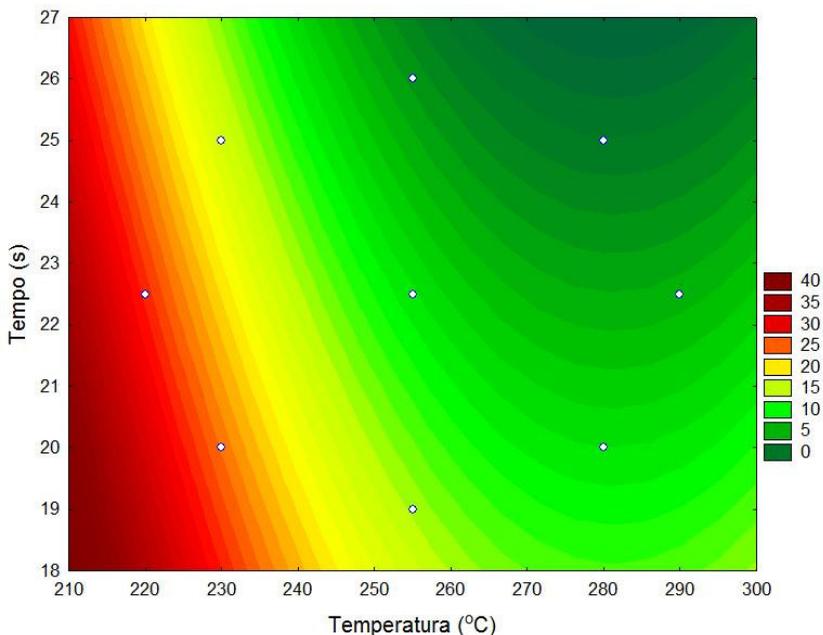


Figura 4.4 Superfície de contorno para inativação térmica da POD em função da temperatura e do tempo de tratamento em forno esteira

Ao julgar o melhor tratamento térmico, binômio tempo x temperatura, deve-se levar em consideração além da atividade residual da POD, as alterações sofridas pela matéria-prima.

O tratamento térmico estudado que apresentou atividade residual da POD abaixo de 10 % e não houve queima das folhas de erva-mate foi o realizado a 255 °C por 22,5 segundos. A temperatura de 255 °C foi escolhida para se estudar o comportamento da inativação da POD e identificar a partir de qual tempo de tratamento ocorreria inativação enzimática acima de 90 %. Optou-se por estudar apenas a cinética da POD devido a sua maior termo estabilidade.

3.3 Cinética da inativação térmica enzimática da POD

Os modelos cinéticos que melhor descreveram a inativação da POD foram o da inativação bifásica e por etapas consecutivas (Tabela 4.7).

Tabela 4.7 Coeficiente de determinação e erro padrão dos modelos ajustados para inativação da POD em forno esteira

Modelo	R ²	Erro padrão
1 ^a ordem	0,96	6,82
Conversão Fracionária	0,98	4,47
Inativação Bifásica	0,99	3,55
Inativação por etapas consecutivas	0,99	3,55

Ambos apresentaram um bom coeficiente de determinação, porém possuem valores altos de erro padrão. Esse resultado reflete a grande heterogeneidade das folhas de erva-mate, em espessura e dimensões que influenciam na eficiência do tratamento térmico.

Ao se graficar os dois modelos percebe-se uma sobreposição dos mesmos na faixa estudada, indicando que não há diferença entre os valores preditos pelos modelos (Figura 4.5).

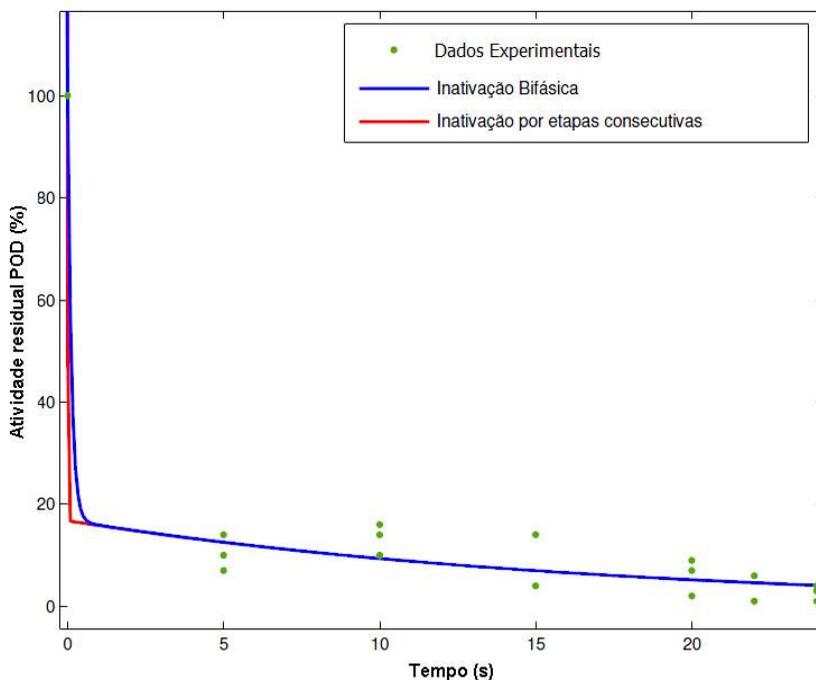


Figura 4.5 Ajuste dos modelos de inativação bifásica e por etapas consecutivas aos dados de inativação térmica da POD de erva-mate em forno esteira

Os valores dos parâmetros do modelo de inativação bifásica, comportamento mais comum, a_1 , a_s , k_1 e k_s encontrados foram 83,12 e 16,88 (%) e 6,67 e 0,056 (s^{-1}), respectivamente. Embora esses parâmetros não possuam valor significativo teórico, visto que as amostras não foram submetidas à temperatura constante durante os ensaios, estes podem ser utilizados para prever o comportamento da inativação da POD na condição estudada.

Não existem estudos na literatura sobre a cinética de inativação de erva-mate em sua matriz vegetal ou em extratos enzimáticos para comparação. Porém estudos de cinética de inativação da POD, a temperatura constante, com extratos enzimáticos de vegetais apresentaram comportamento bifásico durante a inativação. Soysal e Söylemez (2005) estudaram a inativação da POD de cenoura em microondas. Os tratamentos térmicos foram realizados a temperaturas de 35 a 75 °C por tempos de 0,5 a 1,8 minuto. As cinéticas de inativação apresentaram comportamento bifásico, exceto na temperatura de 75 °C onde o comportamento foi de primeira ordem. Polata et al. (2009) estudaram a cinética de inativação da POD de brócolis a temperaturas de 58 a 74 °C, enquanto Terefe et al. (2010) realizaram o mesmo estudo para purê de morango a temperaturas entre 45 e 55 °C. A cinética de inativação foi descrita pelo modelo bifásico em ambos os estudos.

A Tabela 4.8 mostra os dados da atividade residual da POD da cinética de inativação a temperatura de 255 °C.

Tabela 4.8 Atividade residual da peroxidase (POD) da erva-mate em função do tempo de tratamento a temperatura de 255 °C em forno esteira

Tempo (s)	Atividade residual POD \pm (%)
0	100 \pm 1 ^c
5	10 \pm 4 ^{a,b}
10	13 \pm 3 ^b
15	7 \pm 6 ^{a,b}
20	6 \pm 4 ^{a,b}
22	3 \pm 3 ^a
24	3 \pm 2 ^a

Todos os tratamentos térmicos apresentaram valores baixos para a atividade residual de POD. Apenas o tratamento a 5 s apresentou diferença significativa. Porém para uma discussão mais aprofundada é necessário avaliar a atividade da POD ao longo do armazenamento, visto que a mesma pode recuperar sua atividade.

O critério para seleção dos tratamentos foi para aqueles que apresentaram atividades residuais inferiores a 10 %, cujos valores fixam melhor a perda de atividade da erva-mate (Provesi, et al. 2010). Embora seja adequado ao critério, o tratamento a 15 s foi descartado, pois este apresentou valor superior a 10 % em uma das replicatas.

Assim, os tratamentos nos tempos de 20, 22 e 24 se enquadram na faixa estipulada e embora não tenham apresentado diferença significativa entre si, é necessário se avaliar se não há diferença estatística na manutenção da cor da erva-mate para os três tratamentos. Portanto, esses três tempos de tratamento foram selecionados para se avaliar as atividades residuais da POD e PFO, cor e clorofila.

3.4 Atividade enzimática da PFO e POD da erva-mate após sapeco industrial

No presente trabalho, foi avaliada a eficiência do sapeco industrial para a inativação enzimática. As folhas de erva-mate após a etapa do sapeco de todas as ervateiras estudadas apresentaram sinais de queima, resultante de tratamento térmico excessivo.

Não houve diferença significativa entre as atividades residuais da POD da erva-mate após o sapeco nas ervateiras avaliadas (Tabela 4.9). Os valores extremos de atividade residual variaram de 6 a 13 %, para as ervateiras D e A, respectivamente. Apenas uma ervateira apresentou valor de atividade residual superior a 10 %.

Tabela 4.9 Atividade enzimática residual da POD e PFO em erva-mate sapecada em condições industriais

Ervateira	Atividade residual	Atividade residual
	POD (%)	PFO (%)
A	13 ± 7^a	8 ± 4^a
B	9 ± 4^a	4 ± 1^a
C	7 ± 1^a	8 ± 2^a
D	6 ± 1^a	4 ± 1^a

- os valores que possuem letras iguais entre linhas não apresentam diferença significativa ao nível de significância de 5 %

As atividades residuais da PFO das folhas de erva-mate após o sapeco na ervateiras também não apresentaram diferenças significativas, com valores variando de 4 a 8 %.

As elevadas temperaturas praticadas no sapeco industrial, que levaram a resultados de atividade residual de PFO variando entre 4 e 8 %, poderiam ser substituídas por processos mais brandos, por exemplo, as condições estudadas no presente trabalho. Porém, além da atividade enzimática, existe a necessidade de acompanhar o comportamento da cor do produto obtido nesta nova condição de sapeco, uma vez que a cor verde é o principal atrativo aos consumidores.

4 CONCLUSÃO

O sapeco realizado nas indústrias avaliadas é eficiente em termos inativação enzimática, no entanto, causa a queima de algumas folhas o que indica a necessidade de mudanças no processo.

Os tratamentos a temperatura de 255 °C a 20, 22 e 24 s foram suficientes para a inativação da POD a níveis satisfatórios, o que corresponde a uma importante perspectiva no sentido de minimizar as temperaturas atualmente empregadas no processamento de erva-mate. No entanto é necessário avaliar o comportamento da atividade residual da POD, cor e teor de clorofila da erva-mate das folhas de erva-mate ao longo do armazenamento para identificar o melhor tratamento térmico.

CAPÍTULO 5

Avaliação da influência de diferentes tratamentos térmicos nas atividades residuais de POD, cor e teor de clorofila durante o armazenamento da erva-mate (*Ilex paraguariensis*)

Avaliação da influência de diferentes tratamentos térmicos nas atividades residuais de POD e PFO, cor e teor de clorofila durante o armazenamento da erva-mate (*Ilex paraguariensis*)

RESUMO

A cor verde é o primeiro atributo procurado pelo consumidor da erva-mate no Brasil. A operação de sapeco no processamento da erva-mate, tem a função de inativar as enzimas óxido redutases, impedindo as alterações indesejáveis na coloração do produto. As ervateiras realizam a operação de sapeco, mediante uma rápida passagem das folhas pelas chamas da fornalha do sapecador. Já está comprovado que esta operação acarreta grande consumo de energia e excessiva exposição da matéria-prima ao calor. Neste trabalho, foi avaliado o efeito do sapeco em forno esteira, sem contato direto com as chamas, na inativação das enzimas, a cor e a degradação da clorofila da erva-mate. A erva-mate processada em forno esteira foi comparada com a erva-mate processada em escala industrial. Foi verificado que em forno esteira, a temperatura de 255 °C, por 20 segundos, pode substituir a operação de sapeco industrial. Este binômio tempo temperatura tem a vantagem significativa sobre a cor verde e minimização da degradação da clorofila, além de representar uma redução significativa na temperatura de processamento tradicionalmente empregada na operação industrial de sapeco da erva-mate.

Palavras chave: erva-mate, sapeco, enzimas óxido redutases, clorofila, cor.

Evaluation of the influence of different thermal treatments on residual activity of peroxidase, colour, and chlorophyll content during storage of mate (*Ilex paraguariensis*)

ABSTRACT

The green colouring is the first characteristic that Brazilian consumers look for in mate. The *sapeco* procedure in the processing of mate is to inactivate the oxide reductase enzymes, avoiding the undesirable alterations in the colour of the product. Mate producers perform the *sapeco* process by passing the leaves rapidly through flames. It has been proven that this process leads to a high consumption of energy and to excessive exposure of the raw material to heat. In this work, the effect of *sapeco* on the inactivation of the enzymes, on the colour, and on the degradation of the chlorophyll in mate was evaluated by performing the *sapeco* procedure in a conveyor oven, without any direct contact with the flames. The mate processed in the conveyor oven was compared with mate processed in industrial scale. The results showed that *sapeco* performed in a conveyor oven at 255 °C for 20 seconds can substitute the process of industrial *sapeco*. This time-temperature binomial has the significant advantage on the green colouring and on the minimization of chlorophyll degradation, besides representing a significant reduction in the temperature traditionally applied in the industrial *sapeco* of mate.

Keywords: mate, *sapeco*, oxide reductase enzymes, chlorophyll, colour.

1 INTRODUÇÃO

A cor da erva-mate é o primeiro parâmetro de qualidade avaliado pelos consumidores para a aceitação do produto. Na Argentina existe a preferência pela erva-mate de cor amarelo dourada a verde clara, enquanto no Brasil há preferência pela cor verde brilhante (VALDUGA et al., 2005). A cor verde da erva-mate e sua intensidade estão relacionadas à concentração de clorofila (MORAWICKI; SCHMALKO et al., 1999). Nos vegetais superiores estão presentes na forma de clorofila a e b, apresentando coloração verde azulada e verde amarelada, respectivamente (FRANCIS, 1993; STEET; TONG, 1996).

O sapeco é a etapa do processamento da erva-mate responsável pela retirada da umidade inicial e inativação das enzimas responsáveis pelo escurecimento enzimático, degradação da clorofila e alterações indesejáveis no sabor, aroma e valor nutricional do mate (PERALTA; SCHMALKO, 2007; GONÇALVES et al., 2010).

A enzima peroxidase (POD, E.C. 1.11.1.7) é utilizada como parâmetro de eficiência em tratamentos térmicos que visam à inativação enzimática no processamento de frutas e vegetais, devido à sua alta termo resistência (HEMEDA; KLEIN, 1991; AGÜERO et al. 2008). A POD causa, indiretamente, a oxidação da clorofila a compostos incolores de baixa massa molecular devido à formação de radicais fenóxi durante a oxidação de compostos fenólicos (FUNAMOTO et al. , 2003; YAMAUCHI et al., 2004)

O sapeco consiste na rápida exposição dos ramos da erva-mate ao calor proveniente da queima de propano ou de lenha (RAMALLO, et al. 2001; SCHMALKO; ALZAMORA, 2005b). Nessa etapa, além do elevado gasto energético, ocorre a incorporação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, compostos potencialmente carcinogênicos e mutagênicos (USEPA, 1998; CAMARGO; TOLEDO, 2002; ZUIN et al., 2005; VIEIRA et al., 2010) devido ao contato com a fumaça da queima da lenha e a pirólise causada pelas altas temperaturas empregadas nessa etapa, variando de 400 a 620 °C (NUÑEZ; KÄNZIG, 1995; SCHMALKO et al., 2002; PERALTA; SCHMALKO, 2007; VIEIRA, 2008).

Existe a necessidade de desenvolver um processo de sapeco mais eficiente e sem a geração de compostos danosos à saúde, mantendo a cor atrativa e característica do produto. O objetivo deste trabalho foi verificar a influência de diferentes tratamentos térmicos realizados em

um forno esteira com aquecimento elétrico para avaliar a atividade residual da POD, cor e teor de clorofila na erva-mate durante o armazenamento; além de comparar os resultados com amostras de erva-mate processadas nas ervateiras para identificar o melhor binômio tempo x temperatura e fornecer informações iniciais para realização de novos trabalhos visando a criação de um novo equipamento para o sapeco da erva-mate.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material

As folhas e talos utilizados nos experimentos foram coletados em três ervateiras do município de Catanduvas localizado na região Centro-Oeste do Estado de Santa Catarina, latitude sul 27°04'14", longitude leste 51°40'42" e altitude de 945 metros, em novembro de 2009.

Para fins de comparação, foram analisadas amostras de erva para chimarrão de três indústrias ervateiras de Catanduvas. As amostras foram coletadas nas indústrias imediatamente após o processamento. Para cada indústria coletou-se três pacotes de 500 g.

Todos reagentes utilizados na obtenção do extrato enzimático e na determinação das atividades da POD são de grau analítico e foram adquiridos da empresa Vetec (Duque de Caxias, RJ, Brasil).

2.2. Preparo da amostra

O equipamento utilizado para o tratamento térmico das folhas e talos foi um forno esteira com aquecimento elétrico desenvolvido para este experimento, pelo Laboratório de Tubos de Calor (LABTUCAL) do Departamento de Engenharia Mecânica da Universidade Federal de Santa Catarina.

As folhas e talos foram separados manualmente e tratados termicamente nas condições de 255 °C por 20, 22 e 24 segundos na proporção 1,79 g de folha/g de talo. As temperaturas de tratamento apresentaram em média um desvio padrão de 7 %. Os tratamentos térmicos foram realizados com 5 g de folhas + 2,97 g de talos, em cada repetição, totalizando 100 g de folhas *in natura* e 55,9 g de talos para cada condição testada. Cada condição testada foi avaliada em duplicata. Imediatamente após o tratamento térmico, as amostras foram resfriadas a 25 °C, e os talos descartados.

As folhas submetidas aos tratamentos térmicos foram secas em estufa de circulação de ar (FABBE, Modelo 171, São Paulo, Brasil) a 65 ± 2 °C por 1,5 h para atingir teor de umidade final < 10 %. Depois de secas, as folhas foram trituradas e peneiradas em tamis n.º 42 (Bertel

Indústria Metalúrgica LTDA., Caieiras, São Paulo, Brasil) baseado em Santos (2004). Em seguida, foram acondicionadas em embalagens de papel kraft e armazenadas em condição ambiente (27 ± 2 °C) em ausência de luz por 21 dias. A temperatura foi monitorada utilizando um termohigrômetro (Incoterm, modelo 7645, Porto Alegre, RS, Brasil).

As amostras de erva-mate comercial foram previamente peneiradas em tamis n.º 42 (Bertel Indústria Metalúrgica LTDA., Caieiras, São Paulo, Brasil), para remoção dos palitos e padronização da amostra. Em seguida, foram, também, acondicionadas em embalagens de papel kraft e armazenadas em ambiente a 26 ± 2 °C em ausência de luz por 21 dias. As amostras de cada ervateira foram avaliadas em triplicata.

2.3 Obtenção do extrato enzimático

A obtenção do extrato enzimático bruto de folhas de erva-mate tratadas térmicamente no forno esteira foi realizada com base na metodologia proposta por Argüello et al (1999) e Ceni et al. (2008). Homogeneizou-se 7 g de amostra e 100 mL do tampão fosfato de sódio 0,05 mol/L (pH 7,5). O homogenato foi filtrado em 4 camadas de gaze e centrifugado a 11.000 x g, a 4 °C por 30 minutos em centrífuga (5804R, Eppendorf do Brasil, São Paulo, Brasil). A solução sobrenadante foi utilizada como extrato enzimático bruto, sendo mantida em banho de gelo até a avaliação da atividade enzimática. As amostras de erva-mate comercial processadas seguiram o mesmo roteiro para a obtenção do extrato.

A determinação da atividade enzimática das folhas *in natura* foi realizada para calcular a atividade residual. Para as folhas *in natura* a obtenção do extrato enzimático bruto foi realizada com base na metodologia proposta por Primo et al. (2007) e Ceni et al. (2008). Homogeneizou-se 20 g de folhas de erva-mate *in natura*, 90 mL do tampão fosfato de sódio 0,05 mol/L (pH 7,5) e 3,0% (p/p) de agente protetor polivinilpirrolidona K30. As operações subseqüentes para a obtenção do extrato da folhas *in natura* seguiram o mesmo roteiro apresentado para as folhas de erva-mate tratadas em forno esteira.

2.4 Determinação da atividade enzimática da POD

A atividade da POD foi determinada a 470nm em espectrofotômetro UV-VIS (U-1800, Hitachi, Japão) segundo metodologia adaptada de Argüello et al. (1999) e Ceni et al. (2008). Um tubo de ensaio contendo 2,725 mL de tampão fosfato de sódio 0,05 M a pH 4,7 e 0,1 mL da solução de peróxido de hidrogênio 0,2 M e 0,1 mL da solução de guaiacol 0,1 M preparada em solução de Tween 80 0,1 % foi mantido em banho termo estatizado modelo a 25 °C. A esse tubo foi adicionado 25 µL do extrato enzimático e a absorbância foi monitorada durante o período de fase linear. Uma unidade de atividade de POD foi definida como a quantidade da enzima necessária para produzir 1 µmol de tetraguaiacol a partir do guaiacol por minuto, nas condições estabelecidas. O coeficiente de absorvidade molar da tetraguaiacol utilizado, para transformar os valores de absorbância em moles de tetraguaiacol foi 32800 M⁻¹cm⁻¹ (CENI, 2008). Os valores obtidos foram utilizados para calcular a atividade residual. As atividades residuais de POD das amostras foram avaliadas nos tempos 0, 7, 14 e 21 dias de armazenamento.

2.5 Determinação de proteínas totais

A quantificação das proteínas no extrato enzimático bruto foi realizada de acordo com o método de Kjeldahl (N x 5,25), *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 2005).

2.6. Determinação da cor

As medidas foram realizadas em um colorímetro (modelo CR 410, Konica Minolta, EUA). As leituras de cor foram realizadas em triplicata em três amostras com, aproximadamente, 20 g de amostra acomodados em placa de Petri sob iluminante D65 e ângulo 10°.

Os parâmetros de cor medidos foram luminosidade (L*), a*, b*, croma (C) e ângulo de matiz (h°). O parâmetro diferença total da cor (ΔE^*) foi calculado a partir da seguinte fórmula: $((L^*-L^*_0)^2+(a^*-a^*_0)^2+(b^*-b^*_0)^2)^{0,5}$, onde L*₀, a*₀ e b*₀ são os valores dessa variáveis no tempo zero de armazenamento (HUNTERLAB, 1996a). Os parâmetros

de cor das amostras foram avaliados nos tempos 0, 7, 14 e 21 dias de armazenamento.

2.7 Extração e determinação da clorofila

A extração da clorofila foi realizada com base na metodologia de Hiscox e Israelstam (1979). Incubou-se em estufa (Deleo, modelo DL-SED, Viamão, RS, Brasil) a 50 °C por 30 min, 0,1g de amostra em 7 mL do solvente dimetilsulfóxido (DMSO) (Synth, Diadema, São Paulo, Brasil). Em seguida, realizou-se a filtração e completou-se o volume para 10 mL com DMSO.

A absorvância do extrato foi determinada em espectrofotômetro nos comprimentos de onda de 645 nm e 663 nm. As concentrações de clorofilas a e b na folha foram obtidas de acordo com as Equações 5.1 e 5.2, respectivamente (ARNON, 1949).

$$\text{Clorofila a (mg.cm}^{-3}\text{)} = 0,0127 \times \text{Abs}_{663} - 0,00269 \times \text{Abs}_{645} \quad (5.1)$$

$$\text{Clorofila b (mg.cm}^{-3}\text{)} = 0,00229 \times \text{Abs}_{645} - 0,00468 \times \text{Abs}_{663} \quad (5.2)$$

Os teores de clorofila a e b das amostras foram avaliadas nos tempos 0, 7, 14 e 21 dias de armazenamento.

2.8 Análise estatística

Todas as análises foram conduzidas em triplicata. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), ao nível de 5 % de significância, seguido pelo teste de Tukey para comparação das médias. Os coeficientes de correlação entre os dados de cor e clorofila, também, foram determinados. Para tal utilizou-se o software STATISTICA versão 7.0 (StatSoft, Inc. Tulsa, OK).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os fatores tempo de armazenamento e tratamento e sua interação apresentaram influência significativa ($p < 0,05$) na atividade da POD nas amostras de erva-mate. As atividades residuais da POD da erva-mate nos tratamentos térmicos testados e da amostra coletada nas indústrias ervateiras ao longo do armazenamento estão apresentadas na Tabela 5.1.

Tabela 5.1 Atividade residual da peroxidase (POD) da erva-mate ao longo do armazenamento das amostras processadas em forno esteira e comercial (sapeco nas ervateiras)

Tratamentos	Tempo de armazenamento (dias)			
	0	7	14	21
	Atividade residual POD (%)			
255 °C 20s	10,0 ± 1,2 ^{aA}	0,8 ± 0,1 ^{bB}	0,6 ± 0,1 ^{bB}	ND
255 °C 22s	7,6 ± 0,9 ^{aB}	0,8 ± 0,3 ^{bB}	0,1 ± 0,1 ^{bB}	ND
255 °C 24s	7,7 ± 1,3 ^{aB}	0,7 ± 0,4 ^{bB}	0,3 ± 0,1 ^{bB}	ND
Ervateiras	ND	6,0 ± 1,6 ^{aA}	3,6 ± 2,3 ^{bA}	ND

*ND: não detectada

*Médias seguidas de letras minúsculas/maiúsculas iguais nas colunas/linhas não diferem estatisticamente ao nível de 5%

Em relação às amostras de erva-mate dos tratamentos térmicos em forno esteira houve o decréscimo significativo da atividade residual da POD após sete dias de armazenamento. Após esse período, a atividade não apresentou diferença significativa em relação ao tempo de armazenamento, apresentando atividade nula no vigésimo primeiro dia. A amostra do tratamento térmico a 255 °C e 20s apresentou o maior valor de atividade enzimática no tempo inicial (10,0 %). Porém, a partir do sétimo dia de armazenamento, não houve diferença significativa entre as amostras dos tratamentos realizados em forno esteira. Nenhuma das amostras apresentou atividade residual no vigésimo primeiro dia de armazenamento.

Na amostra de erva-mate processada nas ervateiras, a POD não apresentou atividade após o processamento, porém recuperou sua atividade após o sétimo dia, apresentando atividades residuais de 6,0 e 3,6 % no décimo quarto dia, no vigésimo primeiro dia de

armazenamento novamente não apresentou atividade, tal fato indica a necessidade de um tratamento térmico mais eficiente (HEMEDA; KLEIN, 1991). A POD é conhecida por sua capacidade de regeneração mesmo após tratamento térmico (GONÇALVES et al., 2007; AGÜERO et al., 2008). Provesi et al. (2010) constataram a regeneração da atividade enzimática da POD após 14 dias de armazenamento em folhas de erva-mate tratadas termicamente em forno mufla. Ceni et al. (2009) estudaram a inativação térmica das enzimas POD e PFO de folhas de erva-mate em forno micro-ondas e constataram regeneração da atividade da POD após 7 dias.

Adicionalmente à atividade enzimática residual após o tratamento térmico, é importante acompanhar o efeito da ação das enzimas oxidoredutases da erva-mate sobre o conteúdo de clorofila da erva-mate na estocagem. A Tabela 5.2 ilustra os teores de clorofila das amostras de erva-mate tratadas termicamente em forno esteira e provenientes das ervateiras, ao longo do tempo de armazenamento.

Tabela 5.2 Teores de clorofila ao longo do armazenamento das amostras de erva-mate tratadas termicamente em forno esteira e da amostra proveniente das ervateiras

Tratamentos	Tempo de armazenamento (dias)			
	0	7	14	21
	Clorofila a (mg/ g matéria seca)			
255 °C 20s	2,6 ± 0,1 ^{aA}	2,6 ± 0,1 ^{abAB}	2,4 ± 0,1 ^{bcB}	2,2 ± 0,1 ^{cB}
255 °C 22s	2,7 ± 0,1 ^{aA}	2,8 ± 0,2 ^{aA}	2,7 ± 0,2 ^{aA}	2,6 ± 0,2 ^{aA}
255 °C 24s	2,7 ± 0,1 ^{aA}	2,6 ± 0,1 ^{aB}	2,5 ± 0,1 ^{aB}	2,5 ± 0,1 ^{aA}
Ervateiras	1,9 ± 0,1 ^{aB}	1,9 ± 0,2 ^{aC}	1,8 ± 0,1 ^{bC}	1,7 ± 0,1 ^{bC}
	Clorofila b (mg/ g matéria seca)			
255 °C 20s	0,8 ± 0,1 ^{aA}	0,8 ± 0,1 ^{aA}	0,8 ± 0,1 ^{aAB}	0,7 ± 0,1 ^{bAB}
255 °C 22s	0,8 ± 0,1 ^{aA}	0,8 ± 0,1 ^{aA}	0,9 ± 0,1 ^{aA}	0,7 ± 0,1 ^{bA}
255 °C 24s	0,9 ± 0,1 ^{aA}	0,8 ± 0,1 ^{abA}	0,8 ± 0,1 ^{abB}	0,7 ± 0,1 ^{bA}
Ervateiras	0,6 ± 0,1 ^{aB}	0,6 ± 0,1 ^{aB}	0,6 ± 0,1 ^{aC}	0,6 ± 0,1 ^{aB}
	Clorofila total (mg/ g matéria seca)			
255 °C 20s	3,5 ± 0,2 ^{aA}	3,4 ± 0,2 ^{abA}	3,2 ± 0,2 ^{bB}	2,8 ± 0,2 ^{cB}
255 °C 22s	3,5 ± 0,2 ^{aA}	3,6 ± 0,1 ^{aA}	3,6 ± 0,2 ^{abA}	3,3 ± 0,2 ^{bA}
255 °C 24s	3,5 ± 0,2 ^{aA}	3,4 ± 0,1 ^{abA}	3,2 ± 0,1 ^{bcB}	3,2 ± 0,1 ^{cA}
Ervateiras	2,6 ± 0,2 ^{aB}	2,5 ± 0,2 ^{abB}	2,4 ± 0,1 ^{bcC}	2,3 ± 0,2 ^{cC}

* Médias seguidas de letras minúsculas/maiúsculas iguais nas colunas/linhas não diferem estatisticamente ao nível de 5%

Os fatores tempo de armazenamento e tratamento, e a interação entre ambos apresentaram influência significativa nos teores de clorofila *a*, *b* e total das amostras de erva-mate.

Os teores de clorofila encontrados estão de acordo com a literatura que apresenta para clorofila *a* e *b* valores com variação de 1,85 a 2,98 e 0,85 a 1,07 mg/g em base peso seco, respectivamente, em erva-mate processada sem estacionamento (estocagem após o processamento) (SCHMALKO et al., 2005; CABRAL-MALHEIROS et al., 2010). Para clorofila total são encontrados valores entre 2,16 a 6,02 mg/g em base peso seco (MORAWICKI et al., 1999; SCHMALKO; ALZAMORA, 2001; SCHMALKO et al., 2005; CABRAL-MALHEIROS et al., 2010). O teor de clorofila pode variar de acordo com a origem da erva-mate (região, tipo de erval) (SCHWARTZ; LORENZO, 1990), por diferenças

no método de extração (BARNES et al., 1992) e também devido a diferenças no processamento, visto que as temperaturas e a duração dos tratamentos térmicos são variáveis e influenciam diretamente na degradação da clorofila (CANJURA et al., 1991; SCHWARTZ; LORENZO, 1991).

Durante o armazenamento foi possível observar que houve maior degradação da clorofila *a* em relação clorofila *b*, comprovando a menor estabilidade característica da clorofila *a* (BERSET; CANIAUX, 1983; SCHWARTZ; LORENZO, 1990). Outros autores também observaram esse mesmo comportamento em purê de espinafre (SCHWARTZ; LORENZO, 1991) e em folhas de erva-mate (CABRAL-MALHEIROS et al. 2010). No vigésimo primeiro dia não houve diferença significativa entre os teores de clorofila *b* nas amostras dos tratamentos realizados em forno esteira.

A razão entre o teor de clorofila *a* e *b* para as amostras no início do armazenamento variou entre 2,14 a 3,19. Nos vegetais superiores a razão encontrada é de 3 (FRANCIS, 1993; STEET; TONG, 1996). Os valores deste trabalho estão próximos ao indicado pela literatura podendo essa variação ser consequência de diferenças na composição das folhas devido a fatores ambientais (SCHWARTZ; LORENZO, 1990; KOCA et al., 2008) e/ou devido aos tratamentos térmicos, onde esta razão tende a diminuir, pois a clorofila *b* é mais termo resistente (BERSET; CANIAUX, 1983; CANJURA et al., 1991; STEET; TONG, 1996). Schmalko et al (2005) estudaram o efeito da temperatura e da atividade de água na degradação da clorofila em erva-mate processada e encontraram valores entre 1,75 e 2,52 para a razão entre clorofila *a* e *b*.

A amostra proveniente das ervateiras apresentou menores teores de clorofila *a*, *b* e clorofila total em relação às amostras dos tratamentos realizados em forno esteira ao longo de todo armazenamento, este fato pode estar associado à presença de atividade da POD durante o armazenamento. Sabe-se que a POD pode degradar a clorofila através da oxidação (HEATON; MARANGONI, 1996 FUNAMOTO et al., 2003; SHALINI et al., 2008)

A amostra do tratamento 255 °C 20 s apresentou decréscimo significativo nos teores de clorofila *a*, *b* e total ao longo do armazenamento, obtendo após 21 dias de armazenamento os menores teores de clorofila *a* e total, 2,17 e 2,85mg/g em base peso seco, quando comparadas aos demais tratamentos realizados no forno esteira. Este resultado pode ser explicado pela maior atividade residual de POD deste tratamento no início do armazenamento. As amostras dos tratamentos a 255 °C 22 e 24 s apresentaram os maiores valores de clorofila *a* e total

no vigésimo primeiro dia, sendo que não houve diferença estatística entre as duas.

Nas amostras do tratamento a 255 °C 22s, ao contrário do que ocorre nas outras amostras é possível observar uma tendência ao aumento no teor de clorofila, embora não significativo, após 7 e 14 dias de armazenamento. Tal fato pode ser explicado pela formação de pigmentos que possuam absorção nos comprimentos de onda utilizados na determinação dos pigmentos clorofílicos (CABRAL-MALHEIROS et al., 2010).

A Tabela 5.3 apresenta os parâmetros da escala de cor CIELab para as amostras dos tratamentos térmicos em forno esteira e para a amostra processada nas ervateiras, ao longo do armazenamento

Tabela 5.3 Parâmetros de cor L*, a* e b* para as amostras de erva-mate dos tratamentos térmicos em forno esteira e para a amostra processada nas ervateiras, ao longo do armazenamento

Tratamentos	Tempo de armazenamento (dias)			
	0	7	14	21
	L*			
255 °C 20s	50,8 ± 0,9 ^{aA}	50,7 ± 0,9 ^{aA}	51,0 ± 0,9 ^{aA}	50,9 ± 0,8 ^{aA}
255 °C 22s	51,0 ± 0,3 ^{aA}	51,5 ± 0,5 ^{aA}	51,7 ± 0,6 ^{aA}	51,2 ± 0,6 ^{aA}
255 °C 24s	50,9 ± 0,5 ^{aA}	51,2 ± 0,7 ^{aA}	51,1 ± 0,6 ^{aA}	50,9 ± 0,8 ^{aA}
Ervateiras	48,8 ± 0,5 ^{bB}	48,6 ± 0,6 ^{bB}	48,2 ± 0,9 ^{bB}	48,8 ± 0,8 ^{bB}
	a*			
255 °C 20s	-13,5 ± 0,2 ^{aB}	-13,2 ± 0,2 ^{aB}	-12,0 ± 0,3 ^{bB}	-11,5 ± 0,6 ^{bB}
255 °C 22s	-15,7 ± 0,2 ^{aA}	-15,0 ± 0,2 ^{bA}	-14,2 ± 0,3 ^{cA}	-13,5 ± 0,2 ^{dA}
255 °C 24s	-15,4 ± 0,5 ^{aA}	-14,7 ± 0,4 ^{bA}	-13,7 ± 0,3 ^{cA}	-13,3 ± 0,3 ^{cA}
Ervateiras	-8,7 ± 0,8 ^{aC}	-8,6 ± 0,8 ^{abC}	-8,4 ± 0,7 ^{abC}	-7,6 ± 0,5 ^{bC}
	b*			
255 °C 20s	25,3 ± 0,7 ^{aB}	25,2 ± 0,7 ^{aB}	22,1 ± 0,7 ^{bB}	24,3 ± 1,1 ^{aC}
255 °C 22s	26,7 ± 0,2 ^{aA}	26,4 ± 0,4 ^{aA}	23,6 ± 0,8 ^{bA}	26,0 ± 0,5 ^{aAB}
255 °C 24s	27,2 ± 0,5 ^{aA}	26,9 ± 0,4 ^{abA}	24,1 ± 0,4 ^{cA}	26,2 ± 0,6 ^{bA}
Ervateiras	22,5 ± 0,6 ^{cC}	23,8 ± 0,7 ^{bC}	25,2 ± 0,6 ^{aC}	25,1 ± 0,6 ^{aBC}

*Médias seguidas de letras minúsculas/maiúsculas iguais nas colunas/linhas não diferem estatisticamente ao nível de 5%

Na literatura encontra-se para erva-mate processadas valores de L^* , a^* , b^* variando de -5 a -13,27, 20 a 29,54 e 49,26 a 60, respectivamente (SCHMALKO; ALZAMORA, 2001; CABRAL-MALHEIROS et al., 2010).

Apenas o fator tratamento apresentou influência na luminosidade das amostras ($p < 0,05$). A amostra das indústrias ervateiras apresentou menor valor de luminosidade em relação às amostras dos tratamentos térmicos realizados em forno esteira em qualquer tempo de armazenamento, indicando que a erva-mate processada na ervateira apresentou coloração mais escura. Este escurecimento pode ter sido causado por ação enzimática (GÖKMEN et al., 2005) resultante de um tratamento térmico ineficiente nas ervateiras, confirmado pela presença de atividade residual de POD de 6,05 e 3,65 % após 7 e 14 dias de armazenamento. A luminosidade das folhas de erva-mate também é afetada pelo tratamento térmico pois observa-se uma elevação no valor da luminosidade, ou seja, clareamento, com o aumento da intensidade do tratamento (SCHMALKO; ALZAMORA, 2001; CENI et al., 2009; PROVESI et al., 2010), o que também explicaria o menor valor de luminosidade da amostra das ervateiras considerando que seu tratamento térmico foi menos efetivo. O maior valor de luminosidade da erva-mate processada, também, pode ser atribuído a presença de folhas queimadas.

O tempo de armazenamento, o tratamento e a interação entre as duas variáveis apresentaram influência significativa nos parâmetros a^* e b^* ($p < 0,05$). Observou-se decréscimo significativo no valor de a^* em todas as amostras, que corresponde à perda da cor verde devido à feofitinação da clorofila (STEET; TONG, 1996; VALDUGA et al., 2005; KOCA et al., 2006; PROVESI et al., 2010).

As amostras dos tratamentos térmicos realizados a 255 °C por 22 e 24 s não apresentaram diferença significativa e obtiveram os maiores valores de a^* , -13,52 e -13,26, respectivamente, ou seja, apresentaram coloração mais verde. A amostra proveniente do processamento das ervateiras apresentou o menor valor de a^* (-7,62).

As amostras dos tratamentos a 255 °C 20 e 24 s apresentaram correlação significativa positiva ($p < 0,05$) entre o parâmetro a^* e os teores de clorofila a e total, apresentando coeficientes de correlação superiores a 0,96, indicando diminuição do parâmetro a^* com a diminuição do teor de clorofila. Estudos em erva-mate (SCHMALKO; ALZAMORA, 2001; CABRAL-MALHEIROS et al., 2010) e em outros produtos (STEET; TONG, 1996; SINNECKER et al., 2002) também apresentaram a mesma correlação. A falta de correlação em relação à

clorofila *b* pode ser explicada pela baixa alteração da mesma ao longo do armazenamento.

Nas amostras provenientes do processamento das ervateiras, não houve correlação entre o parâmetro a^* e a clorofila, o que pode ser explicado pela variabilidade dos dados visto que a análise foi realizada em amostras de três ervateiras. O mesmo comportamento foi observado na amostra do tratamento a 255 °C 22 s, fato que pode ser explicado pela interferência na determinação de clorofila desta amostra.

Houve uma tendência à diminuição de b^* com o tempo de armazenamento nas amostras de erva-mate tratadas termicamente no forno esteira, indicando perda da cor amarela. O mesmo ocorreu em outros estudos com erva-mate processada (VALDUGA et al., 2005, CABRAL-MALHEIROS, 2010) e em outros vegetais verdes (GNANASEKHARAN et al., 1992).

No entanto, na amostra de erva-mate processada nas ervateiras ocorreu o aumento significativo no valor de b^* ao longo do armazenamento, ou seja, aumento da cor amarela. A coloração da erva-mate é determinada pela presença de cor verde-clorofila e de substâncias resinosas com pigmento amarelo dourado (LEPREVOST; 1987; RÜCKER; MACCARI JÚNIOR, 2000). Durante o tratamento térmico das ervateiras pode não ter ocorrido a degradação do pigmento amarelo dourado devido a um tratamento térmico menos severo, comprovado pela presença de atividade residual de POD durante o armazenamento. Portanto, o aumento no parâmetro b^* ao longo do armazenamento pode ser atribuído a detecção da pigmentação amarela da erva-mate à medida que ocorreu a degradação da clorofila. Estudos detectaram o aumento do parâmetro b^* em função do aumento da intensidade do tratamento térmico em folhas de erva-mate (CENI et al. 2010; PROVESI et al., 2010).

Tal qual a luminosidade, o parâmetro de cor b^* pouco variou com o tempo de armazenamento. Schmalko et al. (2005) estudaram o efeito da atividade de água e da temperatura na cor e no conteúdo de clorofila de folhas de erva-mate e também observaram pouca variação na luminosidade (L^*) e b^* quando comparadas ao parâmetro a^* . O mesmo foi observado por Gnanasekhran et al (1992) ao estudarem o armazenamento de brócolis a 21 °C.

A amostra do tratamento a 255 °C 20s segundos apresentou correlação positiva ($p < 0,05$) entre o parâmetro b^* e clorofila *a* e total. Isso pode ser explicado, pois nesse tratamento devido a maior atividade enzimática houve maior variação nesse parâmetro de cor. Cabra-

Malheiros et al (2010) também obtiveram tal correlação ao estudar o armazenamento da erva-mate para chimarrão em diferentes embalagens. Schmalko & Alzamora (2001) obtiveram correlação negativa ($p < 0,05$) entre o parâmetro b^* e o de clorofila a , b e total ao estudar a cor ao longo do processo industrial da erva-mate.

A Tabela 5.4 apresenta os parâmetros de escala de cor CIELCh para os tratamentos realizados. Os fatores tratamento, tempo de armazenamento e sua interação apresentaram influência no croma e no ângulo de matiz.

Tabela 5.4 Parâmetros da escala de cor CIELCh para as amostras de erva-mate dos tratamentos térmicos em forno esteira e para a amostra processada nas ervateiras, ao longo do armazenamento

Tratamentos	Tempo de armazenamento (dias)			
	0	7	14	21
	C^*			
255 °C 20s	28,6 ± 0,8 ^{aB}	28,4 ± 0,8 ^{aB}	25,2 ± 0,8 ^{bC}	26,6 ± 1,1 ^{bBC}
255 °C 22s	30,8 ± 0,3 ^{aA}	30,5 ± 0,5 ^{aA}	27,4 ± 0,8 ^{cAB}	29,3 ± 0,5 ^{bA}
255 °C 24s	31,3 ± 0,7 ^{aA}	30,6 ± 0,6 ^{aA}	27,7 ± 0,3 ^{cA}	29,4 ± 0,8 ^{bA}
Ervateiras	24,1 ± 0,8 ^{cC}	25,3 ± 0,9 ^{bC}	26,6 ± 0,8 ^{aB}	26,2 ± 0,7 ^{abC}
	h^o			
255°C 20s	118,3 ± 0,7 ^{aB}	117,6 ± 0,3 ^{bB}	118,9 ± 0,2 ^{aB}	115,3 ± 0,2 ^{cB}
255°C 22s	120,4 ± 0,3 ^{aA}	119,4 ± 0,1 ^{bA}	120,8 ± 0,6 ^{aA}	117,5 ± 0,2 ^{cA}
255°C 24s	119,6 ± 0,5 ^{aAB}	118,7 ± 0,3 ^{bAB}	119,7 ± 0,7 ^{aAB}	116,8 ± 0,4 ^{cA}
Ervateiras	111,0 ± 1,3 ^{aC}	109,7 ± 1,2 ^{abC}	108,4 ± 1,1 ^{bC}	106,9 ± 1,0 ^{cC}

* Médias seguidas de letras minúsculas/maiúsculas iguais nas colunas/linhas não diferem estatisticamente ao nível de 5%

No vigésimo primeiro dia as amostras dos tratamentos 255 °C 22 e 24 s apresentaram os maiores valores de croma ao longo do armazenamento apresentando os valores de 29,26 e 29,37, respectivamente apresentando coloração mais viva. Estas amostras não apresentaram diferença significativa entre si.

As amostras do tratamento térmico a 255 °C 20 s e provenientes das ervateiras, no vigésimo primeiro dia, apresentaram os menores valores de croma, 26,58 e 26,24, ou seja, apresentaram coloração mais opaca, sendo que não houve diferença significativa entre as duas.

A amostra do tratamento a 255 °C 20 s apresentou decréscimo significativo no croma ao longo do tempo de armazenamento. Embora não houvesse diferença significativa nas amostras do tratamento térmico de 22 e 24 s ao longo do armazenamento, é possível perceber uma tendência ao decréscimo do croma em ambas. Cabral-Malheiros (2007) estudou a degradação da cor em erva-mate para chimarrão ao longo do armazenamento em embalagens de papel e laminada e observou redução no croma ao longo do tempo para as duas embalagens. Gnanasekharan et al. (1992) estudaram a mudança de cor em vegetais durante o armazenamento e observaram a diminuição no valor de croma do espinafre ao longo do período.

No entanto, na amostra proveniente do tratamento térmico das ervateiras ocorreu aumento significativo no croma ao longo do tempo de armazenamento. Ceni et al (2009) observaram o aumento no valor de croma de folhas de erva-mate em função do aumento do tempo de exposição ao micro-ondas. Comportamento similar foi observado para o parâmetro de cor b^* , indicando que o croma também pode ter correlação com o pigmento resinoso cor amarelo dourado da erva-mate.

Em todas as amostras observou-se a diminuição do ângulo de matiz ao longo do armazenamento, indicando decréscimo na coloração verde da erva-mate. Cabral-Malheiros (2007) e Valduga et al. (2005) observaram o mesmo comportamento em estudos com erva-mate para chimarrão. No vigésimo primeiro dia as amostras do tratamento a 20 s apresentaram o menor valor de ângulo de matiz (115,27) em relação às amostras tratadas no forno esteira, devido a atividade de POD mais alta no início do armazenamento. Entre as amostras dos tratamentos realizados a 22 e 24 s não houve diferença significativa, e estes apresentaram os maiores valores do ângulo de matiz, 117,52 e 116,83, respectivamente, ou seja, estas amostras apresentaram coloração mais verde. As amostras do processamento das ervateiras apresentaram o menor valor entre todas as amostras (106,86) em função do menor valor de clorofila encontrado para essa amostra (Tabela 5.2). Berset & Caniaux (1983) obtiveram correlação positiva ($p < 0,01$) entre o ângulo de matiz e o teor de clorofila total em folhas de salsa desidratada. A partir disso, sugeriram a utilização da função cromática ângulo de matiz para prever a composição química de pigmentos ou a avaliação sensorial da cor da matéria-prima estudada.

As amostras provenientes do processamento das ervateiras e do tratamento a 255 °C 20s, as quais apresentaram as maiores variações e os menores valores de h^0 no vigésimo dia de armazenamento, apresentaram correlação positiva ($p < 0,05$) em relação a clorofila total

com coeficientes de correlação superiores a 0,99. Tal comportamento foi obtido no estudo do armazenamento da erva-mate de Cabral-Malheiros (2007).

O tempo de armazenamento, o tratamento e sua interação apresentou influência significativa na diferença total de cor. A Tabela 5.5 apresenta a variação de cor total (ΔE^*) para as amostras submetidas aos tratamentos térmicos em forno esteira e a amostra processada nas ervateiras.

Tabela 5.5 Variação de cor total (ΔE^*) para as amostras de erva-mate dos tratamentos térmicos em forno esteira e para a amostra processada nas ervateiras, ao longo do armazenamento

Tratamentos	Tempo de armazenamento (dias)		
	7	14	21
	ΔE^*		
255 °C 20 s	0,6 ± 0,2 ^{cB}	3,6 ± 0,3 ^{aA}	2,4 ± 0,6 ^{bA}
255 °C 22 s	1,1 ± 0,5 ^{cAB}	3,6 ± 0,9 ^{aA}	2,4 ± 0,4 ^{bA}
255 °C 24 s	0,9 ± 0,3 ^{cAB}	3,6 ± 0,8 ^{aA}	2,4 ± 0,2 ^{bA}
Ervateiras	1,4 ± 0,2 ^{ba}	2,9 ± 0,2 ^{aA}	2,8 ± 0,1 ^{aA}

* Médias seguidas de letras minúsculas/maiúsculas iguais nas colunas/linhas não diferem estatisticamente ao nível de 5%

Em todas as amostras ocorreu o aumento na diferença total de cor. Cabral-Malheiros (2007) em seu estudo obteve valores de ΔE^* de 3,21 e 2,63; após 28 dias para erva-mate para chimarrão armazenada em embalagens laminada e de papel.

No vigésimo primeiro dia não houve diferença significativa entre os tratamentos. Porém as amostras dos tratamentos 255 °C 22 e 24 s por apresentarem maiores valores no início do armazenamento foram os mais efetivos para manter o conteúdo de clorofila, a cor verde e a vivacidade de cor das amostras.

A Figura 5.1 apresenta as amostras de erva-mate dos tratamentos térmicos realizados no forno esteira e as amostras provenientes das ervateiras A, B e C. após 21 dias de armazenamento.

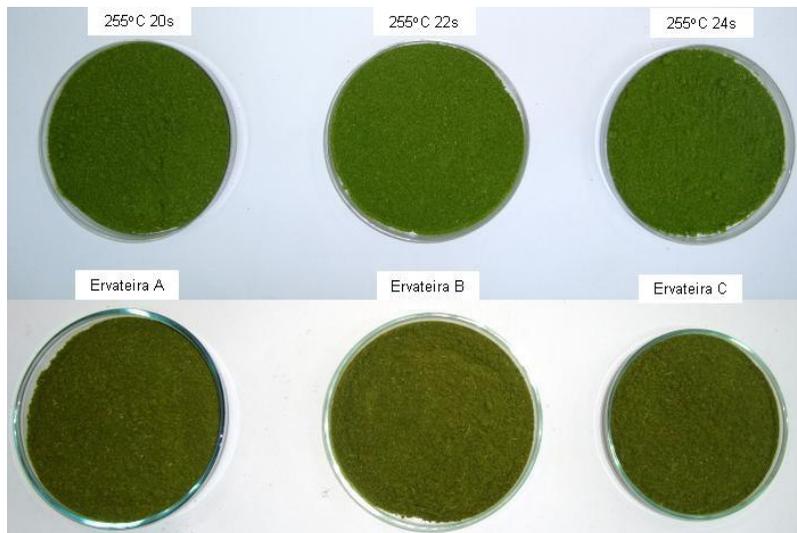


Figura 5.1 Amostras de erva-mate dos tratamentos térmicos em forno esteira e processadas nas ervateiras após 21 dias de armazenamento

Gnanasekharan et. al (1992) estudaram a relação entre a avaliação sensorial e a medida instrumental da cor ao longo do armazenamento de tomates verdes, brócolis, espinafre e pepino. Ao comparar o ângulo de matiz com os resultados de análise sensorial, observaram que não houve diferença visual na cor verde das amostras com uma variação de 3,17 no ângulo de matiz. Diferença visual na cor verde pode ser detectada com uma variação de 11,35 no valor do ângulo de matiz.

Neste estudo, a diferença mínima obtida entre as amostras dos tratamentos realizados no forno esteira e a amostra do processamento das ervateiras foi de 8,41 indicando a possível detecção de diferença visual entre essas amostras. No vigésimo primeiro dia, a diferença máxima entre as amostras do tratamento a 255 °C 20 s e os tratamentos a 20 e 22 s foi de 2,25 e indica a ausência de diferença visual da cor entre as amostras dos tratamentos térmicos.

4 CONCLUSÃO

O processo de sapeco das amostras das ervateiras apresentou menor eficiência na inativação da POD e na manutenção da clorofila e cor da erva-mate em relação às amostras dos tratamentos térmicos em forno esteira.

Em relação às amostras dos tratamentos em forno esteira, as amostras dos tratamentos a 22 e 24 s apresentaram os menores valores de atividade residual de POD, maiores teores de clorofila e maiores valores dos parâmetros a^* , C e h_0 , ou seja, tendência a coloração mais verde e brilhante quando comparadas as amostras do tratamento a 20 s, o entanto diferença visual não foi detectada entre essas amostras.

Desta maneira se indica o tratamento com menor tempo de processamento, 255 °C por 20 s, e, portanto, mais produtivo e econômico, como parâmetro para próximos experimentos visando à ampliação de escala.

Esse trabalho gerou um ponto de partida para o estudo da inativação enzimática em erva-mate, em temperaturas menores do que as praticadas pelas indústrias ervateiras, o que subentende a menor tendência de formação de compostos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs).

CONCLUSÃO GERAL

A matéria-prima utilizada apresentou composição similar à encontrada em outros estudos. A proporção folha/talo e a densidade aparente dos ramos de erva-mate poderão ser utilizadas no projeto do sapecador em escala industrial.

O forno esteira utilizado no experimento não apresenta temperatura constante ao longo do seu comprimento, devido à constante entrada de ar frio pelas aberturas de entrada e saída, assim como em equipamentos de processos industriais. A temperatura real dentro do equipamento, não correspondeu ao ajustado no visor, o que requer monitoramento e ajustes da temperatura para as condições de teste. O tempo em função do ajuste da frequência do motor varia de acordo com a temperatura ajustada. Essa variação é mais evidente nas frequências mais baixas.

Nas indústrias ervateiras visitadas, as folhas de erva-mate após o sapeco apresentaram queima, indicando que além da incorporação pela fumaça ocorre a geração de HPAs devido a pirólise da erva-mate indicando que mudanças no processamento devem ser realizadas.

As folhas de erva-mate possuem grande variação em suas dimensões e, desta forma, as elevadas temperaturas e o curto tempo de sapeco ocasionam a queima de folhas menores e inativação insatisfatória nas folhas maiores.

A enzima peroxidase apresentou maior termo resistência em relação a polifenoloxidase e assim, como em outros produtos, pode ser utilizada como indicadora de eficiência da inativação enzimática em erva-mate. A cinética de inativação da POD na temperatura estudada apresentou comportamento bi exponencial.

Em relação ao processo atual de sapeco, o estudo indica o tratamento a 255 °C 20 s que resulta na diminuição da temperatura e aumento do tempo de sapeco. Desta maneira haverá maior eficiência na inativação enzimática e, conseqüentemente, na manutenção da cor da erva-mate sem que ocorra geração de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) através da queima das folhas de erva-mate.

Um novo estudo visando à ampliação de escala do equipamento em nível industrial deve ser realizado. Sugere-se como fontes de energia a lenha ou gás natural, desde que não possua contato dos derivados da combustão, visto que o aquecimento realizado por resistências é inadequado à escala industrial.

Os parâmetros de cor das amostras obtidas no estudo podem servir como padrão de comparação para as amostras obtidas no sapecador industrial.

Uma posterior análise sensorial do novo produto obtido deve ser realizada, pois provavelmente seu sabor será diferente do produto obtido no processo tradicional pela ausência do contato com a fumaça.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÜERO, M.V.; ANSORENA, M.R.; ROURA, S.I.; DEL VALLE, C.E. Thermal inactivation of peroxidase during blanching of butternut squash. **LWT**, v. 41, p. 401-407, 2008.

ARGÜELLO, B.V.; SPIONI, G.P.; MARTOS, M.S. Determinación de actividad peroxidasa en yerba mate (*Ilex paraguariensis*). **Información Tecnológica**, v.1, n.6, 1999.

ALENCAR, T. R. **Erva-Mate**. Rio de Janeiro, 1960. 85 p.

ANESINI, C.; FERRARO, G.; FILIP, R. Peroxidase-like activity of *Ilex paraguariensis*. **Food Chemistry**, v. 97, p. 459-464, 2006.

ARNON, D.I. Copper enzymes in isolated chloroplasts: polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, v. 24, p. 1-15, 1949.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official Methods of Analysis of the AOAC**. 18 ed. Gaithersburg: AOAC International, 2005.

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

BARBOZA, L.M.V. **Desenvolvimento de bebida à base de erva-mate (*Ilex paraguariensis* Saint Hilaire) adicionada de fibra alimentar**. 260p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos)- Programa de pós-graduação em tecnologia de alimentos, UFPR, Curitiba, 2006.

BARNES, J.D.; BLAGUER, L.; MANRIGUE, E.; ELVIRA, S.; DAVISON, W. A reappraisal of the use of DMSO for the extraction and determination of chlorophylls a and b in lichens and higher plants. **Environmental and Experimental Botany**, v. 32, n. 2, p. 85-100, 1992.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, S.I.; BRUNS, E.R. **Planejamento e Otimização de Experimentos**. Campinas: Editora da Unicamp, 1996. pp. 43-54.

BASTOS, D. H. M.; TORRES, E. A. F. S. Bebidas à base de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) e saúde pública. **Journal of Brazilian Society of Food and Nutrition**, v. 26, p. 77-89, 2003.

BASTOS, D. H. M.; FORNARI, A. C.; QUEIROZ, Y.S.; TORRES, A.F.S. Bioactive compounds content of chimarrão infusions related to the moisture of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) leaves. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 49, n. 3, p. 399-404, 2006a.

BASTOS, D.H.M.; ISHIMOTO, E.Y.; MARQUES, M.O.M.; FERRI, A.F.; TORRES, E.A.F.S. Essential oil and antioxidant activity of Green mate and mate tea (*Ilex paraguariensis*) infusions. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, p. 538-543, 2006b.

BATES, M.N.; HOPENHAYN, C.; REY, O.A.; MOORE, L.E. Bladder cancer and mate consumption in Argentina: A case-control study. **Cancer Letters**, v. 246. p. 268-273, 2007.

BENDLIN, R.C.S. **Secagem convectiva de erva-mate (*Ilex paraguariensis*)**. 77 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia de Alimentos, Departamento de Engenharia Química e de Alimentos, UFSC, Florianópolis, 2003.

BERSET, C.; CANIAUX, P. Relationship between color evaluation and chlorophyllian pigment content in dried parsley leaves. **Journal of Food Science**, v. 48, p. 1854- 1857, 1983.

BETTIN, S.M.; FRANCO, D.W. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) em aguardente. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 2, p. 234-238, 2005.

BISHNOI, N.R.; MEHTA, U.; SAIN, U.; PANDIT, G.G. Quantification of polycyclic aromatic hydrocarbons in tea and coffee samples of Mumbai city (India) by high performance liquid chromatography. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 107, p. 399-406, 2005.

BOBROVNIK, S.A. Determination the rate constants of some biexponential reactions. **Journal of Biochemical and Biophysical Methods**. v. 42, p. 49-63, 2000

BRAGAGNOLO, N.; PAN, W; FILHO, L. K. Manual Técnico da erva-mate, EMATER-Paraná: Curitiba, Brasil, 1980. 40p

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria n°. 234, de 25 de março de 1998. **Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade para erva-mate**. Brasília, 1998. 5p

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC-302, de 07 de novembro de 2002. **Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade para erva-mate**. Brasília, 2002. 5p

BRASIL. Ministério do Desenvolvimento Indústria e Comércio Exterior. Banco de dados. Sistema de Análise das Informações de Comércio Exterior via Internet – ALICEWEB, 2009 Disponível em: <http://aliceweb.desenvolvimento.gov.br/>. Acesso em: 30 mar. 2010.

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.

BRUNS, R.E. **Como Fazer Experimentos**. 2 ed. Campinas: editora da Unicamp, 2003.

BURGSTALLER, J.A. **700 Hierbas Medicinales**. Buenos Aires : Edicial SA.

CABRAL-MALHEIROS, G. **Estudo da Alteração da cor e degradação da clorofila durante armazenagem de erva-mate tipo chimarrão** 104 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Programa de pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, UFSM, Santa Maria, 2007

CABRAL-MALHEIROS, G.; HECKTHEUER, L.H.R.; CANTO, M.W.; BALSAMO, G.M. Influence of time and kind of packaging on

mate during storage under ambient conditions. **Ciência Rural**, v. 40, n. 3, p. 654-660, 2010.

CAMARGO, M. C. R.; TOLEDO, M. C. F. Chá-mate e café como fontes de hidrocarbonetos poliaromáticos (HPAs) na dieta da população de campinas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 22, p. 49-53, 2002.

CANJURA, F.L.; SCHWARTZ, S.J.; NUNES, R.V. Degradation kinetics of chlorophylls and chlorophyllides. **Journal of Food Science**, v. 56, n. 6, p. 1639-1643, 1991.

CARDOZO JR, E.L.; FERRARESE-FILHO, O.; CARDOZO FILHO, L.; FERRARESE, M.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.

CENI, G. C. **Oxidases de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hill):** extração, estabilidade térmica e influência da exposição ao microondas. 194 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Programa de Mestrado em Engenharia de Alimentos, URI, Erechim, 2005.

CENI, G. C. ; BALDISSERA, E.M.; OLIVEIRA, J. W. ; DARIVA, C.; OLIVEIRA, D. Oxidases from mate tea leaves (*Ilex paraguariensis*): extraction optimization and stability at low and high temperatures. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 31, p. 541-550, 2008.

CENI, G.C.; BALDISSERA, E.M.; PRIMO, M.S.; ANTUNES, O.A.C.; DARIVA, C.; OLIVEIRA, J.V.; OLIVERA, D. Influences 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

CHOI, Y.; OKOS, M.R. The properties of tomato juice concentrates. **Transactions of the ASAE**, v.26, n.1, p.305-311, 1983.

COELHO, G.C.; MARIATH, J.E.A.; SCHENKEL, E.P. Populational diversity on leaf morphology of mate (*Ilex paraguariensis* A. St-Hil., Aquifoliaceae). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 45, p. 47-51, 2002.

CONESA, A.; PUNT, P.J.; VAN DEN HONDEL, C.A.M.J.J. Fungal peroxidases: molecular aspects and applications. **Journal of Biotechnology**, v. 93, p. 143-158, 2002.

CONTRERAS, P.D. **Desenvolvimento de bebida à base de subprodutos da indústria da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) e verificação de sua atividade antioxidante.** 2007. 82 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - UFPR, 2007.

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

DA CROCE, D.M. ; FLOSS, P.A. . **Cultura da erva-mate no Estado de Santa Catarina.** Florianópolis, SC: EPAGRI - Empresa de Pesquisa Agropecuária e Difusão de Tecnologia de SC, 1999. 81p. (EPAGRI, Boletim Técnico;100)

DUARTE-VÁZQUEZ, M.A.; GARCÍA-ALMENDÁREZ, B.G.; RAGALADO, C.; WHITAKER, J.R. Purification and partial characterization of threese turnip (*Brassica napus* L. var. esculenta D.C.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 1574-1579, 2000.

EISENMENGER, M.J.; REYES-DE-CORCUERA, J.I. High pressure enhancement of enzymes: A review. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 45, p. 331-347, 2009.

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

ESMELINDRO, A. A.; GIRARDI, J. S.; 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.

FATIBELLO-FILHO, O.; VIEIRA, I.C. Uso analítico de tecidos e de extratos brutos vegetais como fonte enzimática. **Química Nova**, v. 25, n. 3, p 455-464, 2002.

FAGUNDES, R. B.; ABNET, C. C.; STRICKLAND, P. T.; KAMANGAR, F.; ROTH, M. J.; TAYLOR, P. R.; DAWSEY, S. M. Higher urine 1-hydroxy pyrene glucuronide (1-OHPG) is associated with tobacco smoke exposure and drinking Mate in healthy subjects from Rio Grande do Sul. **BMC Cancer**, v. 139, n. 6, p. 139-145, 2006.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. FAO Statistical Databases. FAOSTAT: banco de dados da FAO. Disponível em <http://faostat.fao.org/>. Acesso em: 11 nov. 2009.

FILIP, R.; LOTITO, S. B.; FERRARO, G.; FRAGA, C. G. FENNEMA, O.R. **Química de los alimentos**. Zaragoza: Acribia, 1993. FILIP, R.; LOTITO, S.B.; FERRARO, G.; FRAGA, C. Antioxidant activity of *Ilex paraguariensis* and related species. **Nutrition Research**, v. 20, n. 10, p. 1437-1446, 2000.

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

FRANCIS, F.J. Pigmentos y otros colorantes. In: FENNEMA, O.R. **Química de los alimentos**. Zaragoza: Acribia, 1993. Cap. 8. p. 615-652

FUJIKAWA, H.; ITOH, T. Characteristics of a multicomponent first-order model for thermal inactivation of microorganisms and enzymes. **International Journal of Food Microbiology**, v. 31, p. 263-271, 1996.

FUNAMOTO, Y.; YAMAUCHI, N.; SHIGYO, M. Involvement of peroxidase in chlorophyll degradation in stores broccoli (*Brassica oleracea* L.) and inhibition of the activity by heat treatment. **Postharvest Biology and Technology**, v. 28. p. 39-46. 2003.

GNANASEKHARAN, V.; SHEWFEKT, R.L.; CHINNAN, M.S. Detection of color changes in Green vegetables. **Journal of Food Science**, v. 57, n. 1, p. 149-154, 1992.

GNOATTO, S.C.B.; SCHENKEL, E.P.; BASSANI, V.L. HPLC method to assay total saponins in *Ilex paraguariensis* aqueous extract. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 16, n. 4, p. 723-726, 2005.

GÖKMEN, V.; BAHÇEÇI, K.S.; SERPEN, A.; ACAR, J. Study of lipoxygenase and peroxidase as blanching indicator enzymes in peas: change of enzyme activity, ascorbic acid and chlorophylls during frozen storage. **LWT**, v. 38, p. 903-908, 2005.

GOLDENBERG, D. Maté: a risk factor for oral and oropharyngeal cancer. **Oral Oncology**, v. 38, p. 646-649, 2002.

GONÇALVES, E.M.; PINHEIRO, J.; ABREU, M.; BRANDÃO, T.R.S.; SILVA, C.L.M. Modelling the kinetics of peroxidase inactivation, colour and texture changes of pumpkin (*Cucurbita maxima* L.) during blanching. **Journal of Food Engineering**, v. 81, p. 693-701, 2007.

GONDIM, J.A.M.; MOURA, M.F.V.; DANTAS, A.S.; MEDEIROS, R.L.S.; SANTOS, K.M. Composição centesimal e de minerais em cascas de frutas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 4, p. 825-827, 2005.

GOUPY, P.; AMIOT, M.J.; RICHARD-FORGET, R.; DUPRAT, F.; AUBERT, S.; NICOLAS, J. Enzymatic browning of model solutions and apple phenolic extracts by apple polyphenoloxidase. **Journal of Food Science**, v. 60, n. 3, p. 497-502, 1995.

GUGLIUCCI, A. Antioxidant Effects of *Ilex Paraguariensis*: Induction of Decreased Oxidability of Human LDL *in vivo*. **Biochemical and Biophysical Research Communications**. v. 224, p. 338-344, 1996.

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

HEATON, J.W.; MARANGONI, A.G. Chlorophyll degradation in processed foods and senescent plant tissues. **Trends in Food Science and Technology**, v. 7, p. 8-15, jan., 1996.

HELDMAN, D. R., e SINGH, R. P. **Food process engineering**. 2nd ed. Westport, Connecticut: AVI Pub.Co. 1981.

HEMEDA, H. M.; KLEIN, B. P.. Inactivation and regeneration of peroxidase activity in vegetable extracts treated with anti-oxidants. **Journal of Food Science**, v. 56 n. 1, p. 68–71, 1991.

HUNTERLAB. CIE L* a* b* color scale. **Applications note**, v. 8, n. 7, 1996a. Disponível em: <http://www.hunterlab.com>. Acesso em: 04 dez. 2008.

HUNTERLAB. CIE L* C* h color scale. **Applications note**, v. 8, n. 11, 1996b. Disponível em: <http://www.hunterlab.com>. Acesso em: 04 dez. 2008.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Banco de dados. Produção Agrícola Municipal 1990-2008, 2008. In: banco de dados agregados, sistema IBGE de recuperação automática SIDRA. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br> Acesso em: 11 nov. 2009.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção da Extração Vegetal e da Silvicultura 1990-2008, 2008. In: banco de dados agregados, sistema IBGE de recuperação automática SIDRA. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br>. Acesso em: 05 abr. 2010.

INM - INSTITUTO NACIONAL DO MATE. Resolução nº 485, de 25 de outubro de 1955. In: WERNECK, R.M.R. **Legislação Ervateira**. Companhia Brasileira de Artes Gráficas, 1962. p. 219-233.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. v.1:Métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 4 ed. Brasília: Editora MS, 2005. 1018p.

JACQUES, R. A.; ARRUDA, E. J.; OLIVEIRA, L. C. S.; OLIVEIRA, A. P.; DARIVA, C.J.; OLIVEIRA, V. CARAMA, E. B. Influence of agronomic variables on the macronutrient and micronutrient contents and thermal behavior of mate tea leaves (*Ilex paraguariensis*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 7510-7516, 2007.

KOCA, N.; KARADENIZ, F.; BURDULU, H.S. Effect of pH on chlorophyll degradation and colour loss in blanched green peas. **Food Chemistry**, v. 100. p. 609-615, 2006

LAWLESS, H.T.; HEYMANN, H. **Sensory Evaluation of Food**. Maryland: AspenPublishers, 1999.

LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.L.; COX, M.M . **Princípios de Bioquímica**. 2. ed. São Paulo: Sarvier, 1995. Cap. 8, p. 147-177.

LEPREVOST, A. **Química e tecnologia da erva mate (*Ilex paraguariensis*, St. Hil.)**. Curitiba: Instituto de Tecnologia do Paraná, 1987. 59p.

LIMA, E.A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W. **Biotecnologia Industrial**. São Paulo (SP): Edgard Blucher, 2001. 3v.

LIN, D.; TU, Y., ZHU, L. Concentration and health risk of polycyclic aromatic hydrocarbons in tea. **Food and Chemical Toxicology**, 43, 41-48, 2005.

LOEY, A.V.; INDRAWATI; SMOUT, C.; HENDRICKX, M. Inactivation of enzymes: from experimental design to kinetic modeling. In: WHITAKER, J.R.; VORAGEN, A.G.J.; WONG, D.W.S. **Handbook of Food Enzymology**. New York: Marcel Dekker Inc, 2003. 1108p.

LUMRY, R.; EYRING, H. Conformation changes of proteins. **Journal of Physica Chemistry**, v. 58, p. 110-120, 1954.

MACCARI JUNIOR, A. **Análise do pré-processamento da erva-mate para chimarrão**. 215p. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) – Curso de Engenharia Agrícola, UNICAMP. Campinas, 2005.

MARCHISIO, P.F.; SALES, A.; CERUTTI, S.; MRCHEVSKI, E.; MARTINEZ, L.D. On -line preconcentration/determination of lead in *Ilex paraguariensis* samples (mate tea) using polyurethane foam as filter and USN-ICP-OES. **Journal of Hazardous Materials**, v. 124, p. 113-118, 2005.

MARTÍNEZ-PARRA, J.; MUÑOZ, R. Characterization of betacyanin oxidation catalyzed by a peroxidase from *Beta vulgaris* L. roots. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 4064-4068, 2001.

MAZUCHOWSKI, J.Z. **Manual da erva-mate: *Ilex paraguariensis* St. Hill.** 2. ed. Curitiba: EMATER/PR, 1991. 104p.

MAZUCHOWSKI, J. Z. BRACHT, M. J. e MACCARI JUNIOR, A. (org) **Câmara setorial da cadeia produtiva da Erva-Mate do Paraná.** MCT/CNPq/PROJETO PADCT Erva-Mate. Patentes industriais e as prioridades para os investimentos tecnológicos na cadeia produtiva da Erva-Mate. Curitiba PR, 2000. 178p

MEJIA, E. G.; SONG, Y. S.; RAMIREZ-MARES, M. V.; KOBAYASHI, H. Effect of Yerba Mate (*Ilex Paraguariensis*) Tea on Topoisomerase Inhibition and Oral Carcinoma Cell Proliferation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, p. 1966-1973, 2005.

MENDES, R.M.O. **Caracterização e avaliação da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.), beneficiada no Estado de Santa Catarina.** 119 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Curso de Engenharia Química, UFSC, Florianópolis, 2005.

MINOLTA. **Precise color communication: color control for perception to instrumentation.** 62p, 2007. Disponível em: <http://www.konicaminolta.com/instrument/knowledge/color/pdf/colorcommunication.pdf>. Acessado em: 11 jun. 2009.

MIWA, A.C.P.; FALCO, P.B.; CALIJURI, M.C. Evaluation of spectrophotometric methods for protein determination in waste stabilization ponds sample. **Engenharia Sanitária e Ambiental.** v. 13, n. 2, p. 236-242, 2008.

MORAWICKI, R.O.; SCHMALKO, M.E.; KANZIG, R.G. Chlorophyll stability in yerba maté leaves in controlled atmospheres. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 42, n. 1, p. 85-90, 1999.

MORET, S.; CONTE, L.S. Polycyclic aromatic hydrocarbons in edible fats and oils: occurrence and analytical methods. **Journal of Chromatography A**, v. 882, p. 245-253, 2000.

NETO, J.A. Algumas aplicações de enzimas. In: LIMA, E.A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W. **Biotecnologia Industrial**. São Paulo (SP): Edgard Blucher, 2001. 3v.

NUÑEZ, J.C.; KÄNZIG, R.G. Secanza de yerba mate. In: WINGE, H.; FERREIRA, A.G.; MARIATH, J.E.A.; TARASCONI, L.C. (Ed) **Erva-mate: Biologia e Cultura no Cone Sul**. Porto Alegre: Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1995. p.175-180.

NÚÑEZ-DELICADO, E.; SERRANO-MEGÍAS, M.S.; PÉREZ-LÓPEZ, A.J. LÓPEZ-NICOLÁS, J.M. Characterization of polyphenol oxidase from napoleon grape. **Food Chemistry**. v. 100, p. 108-114, 2007.

PAGLIOSA, C. M. **Caracterização química do resíduo de ervais e folhas “in natura” de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hill.)**. 146p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos)- Curso de pós-graduação em Ciência de Alimentos, UFSC, Florianópolis, 2009.

PARANÁ - Secretaria da agricultura e do abastecimento do Paraná. **Erva-Mate: Prospecção Tecnológica da Cadeia Produtiva**. Curitiba: SEAB, 1997. 121p.

PEARSON, David. **The Chemical Analysis of Foods**. London: J. & A. Churchill, 1962.

PERALTA, J.M.; SCHMALKO, M.E. Modelado de la transferencia de calor y materia en el zapecador. Congresso Sul-Americano da Erva-Mate, 3., 16 a 19 de novembro de 2003. Chapecó (SC); **Anais...** Chapecó: EPAGRI, 2003. CD.

PERALTA, J.M.;SCHMALKO, M.E. Modeling heat and mass transfer in the heat treatment step of yerba mate processing. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 24, p.73-82, 2007.

POLAKOVIC, M.; VRÁBEL, P. Analysis of the mechanism and kinetics of thermal inactivation of enzymes: critical assessment of isothermal inactivation experiments. **Process Biochemistry**, v. 31, n. 8, p. 787-800, 1996.

POLATA, H.; WILINKA, A.; BRYJAK, J.; POLAKOVIC, M. Thermal inactivation kinetics of vegetable peroxidases. **Journal of Food Engineering**, v. 91, p. 387-391, 2009.

POLAKOVIC, M.; VRÁBEL, P. Analysis of the mechanism and kinetics of thermal inactivation of enzymes: critical assessment of isothermal inactivation experiments. **Process Biochemistry**, v. 31, n. 8, p. 787-800, 1996.

PRABHA, T.N.; PATWARDHAN, M.V. Polyphenol oxidase (PPO) and peroxidase (POD) enzyme activities and their isoenzyme patterns in ripening fruits. **Acta Alimentaria**, v. 15, n. 3, p. 199-207, 1986.

PRAT KRICUN, S.D.; BELINGHERI, L.D. Congresso Sul-Americano da Erva-Mate, 3., 16 a 19 de novembro de 2003. Chapecó (SC); Anais... Chapecó: EPAGRI, 2003. CD.

PRIMO, M.S.; CENI, G.C.; MARCON, N.S.; ANTUNES, O.A.C.; OLIVEIRAS, D.; OLIVEIRAS, J.V.; DARIVA, C. Effects of compressed carbon dioxide treatment on the specificity of oxidase enzymatic complexes from mate tea leaves. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 43, p. 283-290, 2007.

PROVESI, J.G.; NABECHIMA, G.H.; VIEIRA, M.A.; AMANTE, E.R. Effect of thermal precessing on oxide reductase inactivation and on colour fixing in erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hill) leaves. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 45, p. 971-977, 2010.

RAMALLO, L.A.; POKOLENKO, J.J.; BALMACEDA, G.Z.; SCHMALKO, M.E. Moisture diffusivity, shrinkage, and apparent density variation during drying of leaves at high temperatures. **International Journal of Food Properties**, v. 4, n. 1, p. 163-170, 2001.

RAMÍREZ, E.C.; WHITAKER, J.R.; VIRADOR, V.M. Polyphenoloxidase. In: WHITAKER, J.R.; VORAGEN, A.G.J.; WONG, D.W.S. **Handbook of Food Enzymology**. New York: Marcel Dekker Inc, 2003. p. 509-524.

REED, G. General characteristics of enzymes. In: REED, G. **Enzymes in Food Processing**. 2. ed. New York: Academic Press, 1975. Cap. 3. p. 15-19.

RESENDE, M.D.V.; STURION, J. A.; CARVALHO, A. P.; SIMEÃO, R. M.; FERNANDES, J. S. C. Programa de melhoramento da erva-mate coordenado pela EMBRAPA – resultados da avaliação genética de populações, progênies, indivíduos e clones. Radial: Embrapa florestas, circular técnica 43, Colombo, 2000. 67p.

RICHARDSON, T.; HYSLOP, D.B. Enzimas. In: FENNEMA, O.R. **Química de los Alimentos**. Zaragoza: Acribia, 1993. Cap. 6. p. 415-536.

RIZVI, A. F.; TONG, C. H. Fractional conversion for determining texture degradation kinetics of vegetables. **Journal of Food Science**, v. 62, n. 1, p. 1-7, 1997.

ROCHA JUNIOR, W.F.; MILOCA, L.M. **Sistema Agroindustrial Ervateiro: Perspectivas e Debates**. Cascavel: Coluna do saber, 2007. 206p.

ROCHA JUNIOR, W.F. **Análise do agronegócio da erva-mate com o enfoque da nova economia institucional e o uso da matriz estrutural prospectiva**. 2001. 110 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Produção) – Curso de Engenharia de Produção, UFSC, Florianópolis, 2001.

RÜCKER, N.G.A.; MACCARI JÚNIOR, A. **A cor no controle de qualidade em erva-mate – *Ilex paraguariensis* A. ST. HIL.** Anais 2º Congresso Sul-americano da Erva Mate, p. 97-99, 2000. Disponível em: http://www.seab.pr.gov.br/modules/qas/uploads/380/cor_qualidade_erva.pdf. Acessado em: 24 maio 2010

RUDRA, S.G.; SINGH, H.; BASU, S.; SHIVHARE, U.S. Enthalpy entropy compensation during thermal degradation of chlorophyll in mint and coriander puree. **Journal of Food Engineering**, v. 86. p. 379-387, 2008.

SALDAÑA, M.D.A.; ZETZL, C.; MOHAMED, R.S.; BRUNNER, G. Extraction of methylxanthines from guaraná seeds, mate leaves, and cocoa beans using supercritical carbon dioxide and ethanol. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 4820-4826, 2002.

SCHENKEL, W.P.; GOSMANN, G.; HEINZMANN, B.M.; MONTANHA, J.A.; ATHAYDE, M.L.; TAKETA, A.C. Saponinas em espécies do gênero *Ilex*. In: WINGE, H.; FERREIRA, A.G.; MARIATH, J.E.A.; TARASCONI, L.C. (Ed) **Erva-mate: Biologia e Cultura no Cone Sul**. Porto Alegre: Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1995. p.175-180.

SCHINELLA, G.R.; TROIANI, G.; DÁVILA, V.; BUSCHIAZZO, P.M.; TOURNIER, H.A. Antioxidant effects of an aqueous extract of *Ilex paraguariensis*. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 269, p. 357-360, 2000.

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

SCHMALKO, M.E.; MORAWICKI, R.O.; RAMALLO, L.A. Simultaneous determination of specific heat capacity and thermal conductivity using the finite-difference method. **Journal of Food Engineering**, v. 31, p. 531-540, 1997.

SCHMALKO, M.E.; ALZAMORA, S.M. Color, chlorophyll, caffeine, and water content variations during yerba mate processing. **Drying Technology**, v. 19, p. 599-610, 2001.

SCHMALKO, M.E.; RAMALHO, L.A.; FERREIRA, D.; BERLINGHERI, R.D. Dimethoate degradation in plants and during processing of yerba mate leaves. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 45, p. 419-422, 2002.

SCHMALKO, M.E.; ALZAMORA, S.M. Modelling the drying of a twig of “yerba mate” considering as a composite material Part I: shrinkage, apparent density, and equilibrium moisture content. **Journal of Food Engineering**, v. 67, p. 267-272, 2005a.

SCHMALKO, M.E.; ALZAMORA, S.M. Modelling the drying of a twig of “yerba mate” considering as a composite material Part II: mathematical model. **Journal of Food Engineering**, v. 67, p. 267-272, 2005b

SCHMALKO, M.E.; SCIPIONI, P.G.; FERREYRA, D.J. Effect of water activity and temperature in color and chlorophylls changes in yerba mate leaves. **International Journal of Food Properties**, v. 8, p. 313-322, 2005

SCHUBERT, A.; ZANIN, F.F.; PEREIRA, D.F.; ATHAYDE, M.L. Variação anula de metilxantinas totais em amostras de *Ilex paraguariensis* A. ST. – HIL. (Erva-mate) em Ijuí e Santa Maria, estado do Rio Grande do Sul. **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1233-1236, 2006.

SCHWARZENBACH, R. P.; GSCHWEND, P. M.; IMBODEN, D. M. **Environmental Organic Chemistry**. Nova Iorque, Wiley, 1991. p. 681.

SCHWARTZ, S.J.; LORENZO, T.V. Chlorophyll in foods. **Food Science and Nutrition**, v. 29, p. 1-17, 1990.

SCHWARTZ, S.J.; LORENZO, T.V. Chlorophyll stability during continuous aseptic processing and storage. **Journal of Food Science**, v. 56, n. 4, p. 1059-1062, 1991

SCHWARTZ, M.M.; NUNEZ, K.H.; MUNOZ, A.A.M. Efecto de la temperatura de concentración de pulpa de kiwi sobre el color, clorofila y ácido ascórbico. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v. 49, n. 1, p. 44-48, 1999.

SCOTT, D. Oxidoreductases. In: REED, G. **Enzymes in Food Processing**. 2. ed. New York: Academic Press, 1975. Cap. 9. p. 222-254.

SHALINI, G.R.; SHIVHARE, U.S. BASU, S. Thermal inactivation kinetics of peroxidase in mint leaves. **Journal of Food Engineering**, v. 85. p. 147-153. 2008

SIMKO, P. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in somked meat products and smoke flavouring food additives. **Journal of Chromatography B**, v. 770, p. 3-18, 2002.

SINNECKER, P.; GOMES, M.S.O.; ARÊAS, J.A.G; LANFER-MARQUEZ, U.M. Relationship between color (instrumental and visual)

and chlorophyll contents in soybean seeds during ripening. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 3961-3966, 2002.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática: Guia Ilustrado, Baseado em APG II**;

Instituto Plantarum: Nova Odessa, SP, 2005.

SOYSAL, Ç. ; SÖYLEMEZ, Z. Kinetics and inactivation of carrot peroxidase by heat treatment. **Journal of Food Engineering**, v. 68, p. 349-356, 2005.

STEET, J.A.; TONG, C.H. Degradation kinetics of green color and chlorophylls in peas by colorimetry and HPLC. **Journal of Food Science**, v. 61, n. 5, p. 924-931, 1996.

SWEAT, V.E. **Thermal properties of foods**. In: RAO, M.A.; RIZVI, S.S.H. Engineering Properties of Foods, Marcel Dekker Inc. 1986, p. 49-87.

TAUBER, H. **The Chemistry and Technology of Enzymes**. New York: J. Wiley & Sons, 1950. Cap. 9. p. 203-210.

TEREFE, N.S.; YANG, Y.H.; KNOERZER, K.; BUCKOW, R.; VERSTEEG, C. High pressure and thermal inactivation kinetics of polyphenol oxidase and peroxidase in strawberry puree. **Innovative Food Science and Emerging technologies**, v. 11, p. 52-60, 2010.

TIJSKENS, L.M.M.; SCHIJVENS, BIEKMAN, E.S.A. Modelling the change in colour of broccoli and green beans during blanching. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 2, p. 303-313, 2001.

TOLEDO, R.T. **Fundamentals of Food Process Engineering**. 2ed. New York: Chapman & Hall, 1999. Cap. 9. p. 315-397.

USEPA, United States Environmental Protection Agency. Locating and estimating air emissions from sources of polycyclic organic matter, 1998. Disponível em <http://www.epa.gov/ttnchie1/lc/pompta.pdf>. Acesso em 12 jan. 2010.

UFSC. Universidade Federal de Santa Catarina (Florianópolis, SC). Amante, E. R.; Prudêncio, E. S.; Zanelatto, A. **Xarope de Erva-Mate**. Br. n. PI0203157-4, 26 jul., 2002.

VALDUGA, E. **Caracterização química e anatômica da folha de *Ilex paraguayensis* Saint Hilarie e de algumas espécies utilizadas na adulteração do mate**. 119f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Química) –, Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 1995.

VALDUGA, A.T.; FINZER, J.R.D.; MOSELE, S.H. **Processamento de Erva-Mate**. Erechim, RS: EdiFAPES, 2003. p.33-174.

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.

VAN BOECKEL, M.A.J.S. Testing of kinetic models: usefulness of the multiresponse approach as applied to chlorophyll degradation in foods. **Food Research International**, v. 32, p. 261-269, 1999.

VIDOR, M.A.; RUIZ, C.P.; MORENO, S.V.; FLOSS, P.A. Marcadores moleculares em estudos de caracterização de erva-mate (*Ilex paraguayensis* St. Hil.): O sabor. **Ciência Rural**, v. 32, n. 3, p. 415-420, 2002.

VIEIRA, M. A.; ROVARIS, A. A.; MARASCHIN, M.; SIMAS, K. N.; PAGLIOSA, C. M.; PODESTA, R.; AMBONI, R. D. M. C.; BARRETO, P. L. M.; AMANTE, E. R. Chemical characterization of candy made of erva-mate (*Ilex paraguayensis* A. St. Hil.) Residue. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 4637–4642, 2008.

VIEIRA, M.A. **Análise de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) nas etapas do processamento da erva-mate (*Ilex paraguayensis*) e caracterização química dos resíduos da trituração para o desenvolvimento de produto**. 245 f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos)- Curso de pós-graduação em Ciência de Alimentos, UFSC, Florianópolis, 2009.

VIEIRA, M.A.; MARASCHIN, M.; ROVARIS, A.A.; AMBONI, R.D.M.C.; PAGLIOSA, C.M.; XAVIER, J.J.M.; AMANTE, E.R. Occurrence of polycyclic aromatic hydrocarbons throughout the processing stages of erva-mate (*Ilex paraguariensis*). **Food Additives & Contaminants**, DOI: 10.1080/19440041003587310, 2010

WEG. **Motores de indução alimentador pó inversores de frequência PWM**. 2009. Disponível em: <http://www.weg.net>. Acesso em: 13 de maio 2010.

WHITAKER, J.R.; VORAGEN, A.G.J.; WONG, D.W.S. **Handbook of Food Enzymology**. New York: Marcel Dekker Inc, 2003. 1108p.

WILBERG, K.Q., **Oxidação de compostos fenólicos em solução aquosa com enzima peroxidase de extratos vegetais**. Port alegre, 2003. 156p. Tese de Doutorado (Doutora em Engenharia) – Engenharia de minas, metalúrgica e de materiais, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), 2003.

WINGE, H.; FERREIRA, A.G.; MARIATH, J.E.A.; TARASCONI, L.C. (Ed) **Erva-mate: Biologia e Cultura no Cone Sul**. Porto Alegre: Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1995. p.175-180.

XANDER, C.G.; ACOSTA, L.M.; SCIPIONI, G.P.; ARGÜELLO, B.V. **Inactivación termica de peroxidases en *Ilex paraguariensis* A. ST. Hil. y Dumosa**. Anais 2º Congresso Sul-americano da Erva-Mate, p. 366-369, 2000.

YAMADA, E.A.; ALVIM, I.D.; SANTUCCI, M.C.C.; SGARBIERI, V.C. Centesimal composition and protein nutritive value of yeast from ethanol fermentation and of yeast derivatives. **Revista de Nutrição**, p. 16, n. 4, p. 423-432, 2003.

YAMAUCHI, N.; FUNAMOTO, Y.; SHIGYO, M. Peroxidase-mediated chlorophyll degradation in horticultural crops. **Phytochemistry Reviews**, v. 3, p. 221–228, 2004.

YUAN, Z.Y; JIANG, T.J. Horseradish peroxidase. In: WHITAKER, J.R.; VORAGEN, A.G.J.; WONG, D.W.S. **Handbook of Food Enzymology**. New York: Marcel Dekker Inc, 2003. p. 403-411

ZAIA, D.A.M.; ZAIA, C.T.B.V.; LICHTIG, J. Determinação de proteínas totais via espectrofotometria: vantagens e desvantagens dos métodos existentes. **Química Nova**, v. 21, n. 6, p. 786-793, 1998.

ZANOELO, E.F; DI CELSO, G.M.; KASKANTZIS, G. Drying kinetics of mate leaves in a packed bed dryer. **Biosystems Engineering**, n.4, v. 96, p. 487-494, 2007.

ZANOELO, E.F.; ABITANTE, A.; MELEIRO, L.A.C. Dynamic modeling and feedback control for conveyors-belt dryers of mate leaves. **Journal of Food Engineering**, v. 84, p. 458-468, 2008.

ZUIN, V. G.; MONTERO, L.; BAUER, C.; POPP, P. Stir bar sorptive extraction and highperformanceliquid chromatography-fluorescence detection for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in Mate teas. **Journal Chromatography**, v. 1091, p. 2-10, 2005.