

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

ÂNGELA MARIA WOLSKI BORILLE *

CARLOS BRUNO REISSMANN**

RENATO JOÃO SOSSELA DE FREITAS***

O presente trabalho teve por objetivo determinar os teores de cafeína, teobromina, teofilina e taninos de três morfotipos de erva-mate, com base na amostragem de folhas jovens e maduras. Também foi quantificado o nitrogênio que ocorre no solo e nas folhas dos referidos morfotipos para estabelecer correlações entre as variáveis analisadas. Avaliações estatísticas foram realizadas usando-se a ANOVA e a análise de correlações. Os morfotipos de erva-mate, de acordo com as cores das folhas e características morfológicas, foram nomeados de “amarelinha”, “cinza” e “sassafrás” e coletados em erval comercial em Ivaí do Sul-PR (Brasil) no mês de julho de 2002. Os resultados analíticos demonstraram altos teores de cafeína, teobromina, taninos, nitrogênio total do solo e nitrogênio total foliar nos três morfotipos. O elevado nível de nitrogênio nas folhas está relacionado com seu alto conteúdo no solo. A falta de diferença estatística significativa entre as amostras para o nitrogênio revelou distribuição homogênea da matéria orgânica na área de estudo. Outro aspecto detectado foi a diferença estatística entre as folhas jovens e maduras para a teobromina, bem como entre os morfotipos e a idade das folhas para os taninos. O morfotipo cinza mostrou-se mais adequado para futuros estudos de padronização dos produtos da erva-mate por apresentar o maior número de correlações significativas entre as variáveis analisadas.

PALAVRAS-CHAVE: ERVA-MATE; *Ilex paraguariensis*; ALCALÓIDES; METILXANTINAS; NITROGÊNIO.

* Pós-Graduada do Departamento de Solos e Engenharia Agrícola, Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, PR (e-mail: angelaborille@ig.com.br).

** Professor Titular do Departamento de Solos e Engenharia Agrícola, UFPR, Curitiba, PR (e-mail: reissman@ufpr.br).

*** Pesquisador do CNPq e Professor Titular do Departamento de Engenharia Química, Setor de Tecnologia, UFPR, Curitiba, PR.

1 INTRODUÇÃO

A erva-mate, *Ilex paraguariensis*, já era conhecida desde a antiguidade pelos aborígenes Tupi-Guaraní do Brasil, Paraguai e Argentina, que a chamavam de “ca-á”. Orientados pelos Jesuítas da Companhia de Jesus do Paraguai, os indígenas iniciaram as plantações de erva-mate no século XVII. Juntamente com a implantação de ervais, os Jesuítas aprofundaram-se no estudo do sistema vegetativo da planta. Foram os precursores do cultivo sistemático, identificaram a época de colheita de sementes e produziram mudas. Além disso, os Jesuítas contribuíram para a expansão da bebida, melhorando seu preparo e sua difusão entre os europeus (MAZUCHOWSKI e RÜCKER, 1993).

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

O consumo da erva-mate no mercado brasileiro apresentou crescimento, porém o produto ainda é limitado comercial e industrialmente. As maiores possibilidades de ampliação do mercado parecem ser oferecidas pela diversificação e modernização do processo de produção (CAMPOS *et al.*, 1996).

Com os desmatamentos ocorridos ao longo do tempo, devido à expansão da agricultura, ocorreu crescente degradação dos povoamentos naturais da erva-mate. Tornou-se necessário plantar essa espécie para que fosse atendida a demanda do mercado e o aumento de área cultivada gerou a preocupação com o incremento da produtividade e da qualidade do produto (FOSSATI, 1997). Em termos comparativos, os ervais nativos ocorrem em solo de mata com propriedades físicas e biológicas diferentes dos ervais cultivados em solos agrícolas. Para melhor entendimento, as diferenças reais se existirem carecem de estudos prospectivos e análises laboratoriais sobre as alterações físico-químicas provenientes da insolação e demais fatores da natureza (RÜCKER e CIRIO, 2000).

Existem poucas informações sobre a variação do padrão fitoquímico para usos futuros e alternativos da erva-mate. A planta apresenta diferentes aspectos fenotípicos, conhecidos pelas pessoas do campo e pesquisadores de erva-mate, que possibilitariam o fornecimento de produtos com características especiais e aplicações específicas.

Pretendeu-se neste trabalho obter os teores de cafeína, teobromina, teofilina e taninos de três morfotipos de erva-mate, com base na amostragem das folhas jovens e maduras. O nitrogênio que ocorre no solo e nas folhas dos referidos morfotipos também foi quantificado para estabelecer correlações entre as variáveis analisadas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 LOCAL DE ESTUDO

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

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

- a) morfotipo amarelinha - caracteriza-se por apresentar as folhas em tonalidade mais clara na região do limbo e as nervuras principais e secundárias em tonalidade amarela;
- b) morfotipo cinza - as folhas apresentam o limbo com tonalidade cinza-esverdeada e as nervuras não tão acentuadamente amareladas como no morfotipo anterior;
- c) morfotipo sassafrás - as folhas apresentam o limbo verde escuro e as nervuras num tom mais claro. O que caracteriza esse morfotipo é o aspecto brilhante do limbo na face adaxial da folha.

2.2 ANÁLISE QUÍMICA FOLIAR

De cada morfotipo foram coletadas folhas jovens e maduras do meio da

copa com exposição Norte de seis indivíduos (população de 1245 árvores), durante o mês de julho de 2002, conforme REISSMANN *et al.* (1983).

Após a coleta das amostras de ramos no campo, as folhas foram lavadas em água deionizada e armazenadas em cartuchos de papel devidamente identificados. As folhas jovens foram separadas das maduras e levadas para secagem em estufa a 60° C até peso constante. As amostras foram moídas (forma de pó) em liquidificador e armazenadas em cartuchos de plásticos bem fechados.

A determinação de N-total das folhas foi efetuada pelo processo semi-micro-Kjeldahl, segundo metodologia descrita por BREMNER (1996).

Efetuiu-se a determinação da cafeína, teobromina e teofilina por cromatografia a líquido de alta eficiência (CLAE) de acordo com a metodologia descrita pela ISO (2002).

Para realizar as quantificações foram utilizadas curvas-padrões de cafeína nas concentrações de 20, 40, 80, 120 e 160 µg/mL; teobromina nas concentrações de 5, 10, 20, 40, 80 µg/mL; e de teofilina nas concentrações 0,5, 1, 2, 4, 8 e 16 µg/mL. Todas preparadas na própria fase móvel.

As amostras e as curvas-padrões foram analisadas em cromatógrafo da marca Shimadzu (SCL-10Avp), com bomba isocrática modelo LC-10Advp e detector UV-VIS modelo SPD-10Avp, equipado com pré-coluna Shim-pack G-ODS de 1,0 cm x 4,0 mm de diâmetro interno e coluna cromatográfica C18 da marca Shim-pack CLC-ODS de 15 cm x 4,6 mm de diâmetro interno com partículas de 5 µm. Usou-se água: metanol (75:25) como fase móvel e fluxo de 1,0 mL/min. Houve monitoramento por detecção de UV-VIS com comprimento de onda de 280 nm e tempo de retenção médio para a teobromina de 3 a 4 minutos, para teofilina de 5 a 7 minutos e 8 a 10 minutos para a cafeína.

Efetuiu-se a análise dos taninos (polifenóis totais) de acordo com PARANÁ (1986), utilizando a curva do ácido tânico preparada nas concentrações de 6, 8, 12, 14 e 16 µg/mL como curva-padrão. Determinou-se a absorvância da curva-padrão e das amostras no comprimento de onda de 760 nm, em cubeta de quartzo de 1 cm de espessura, usando espectrofotômetro de marca Micronal – B 382.

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

2.3 ANÁLISE DE SOLO

Para amostragem do solo usou-se trado holandês, retirando amostras na profundidade de 0 – 20 cm em quatro pontos da projeção da copa (fevereiro de 2002). Essas foram reunidas em uma amostra composta, por árvore e por morfotipo, totalizando dezoito amostras. O solo foi seco ao ar e peneirado para fração de 2 mm. A determinação química do nitrogênio total foi efetuada segundo metodologia descrita pela EMBRAPA (1997), mediante processo Kjeldahl (BREMER, 1996).

2.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E TRATAMENTOS

Os dados analíticos da cafeína, teobromina, taninos, nitrogênio total do solo e foliar foram analisados segundo delineamento inteiramente casualizado com arranjo fatorial, sendo testados seis tratamentos para três morfotipos com seis repetições. Os resultados foram submetidos à análise de variância e avaliados, inicialmente quanto à sua homogeneidade pelo teste de Bartlett. Mostrando-se homogêneas, as médias dos tratamentos foram analisadas pelo teste de F. Quando os resultados revelaram diferenças estatísticas significantes entre as médias dos tratamentos, essas foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade (STEEL e TORRIE, 1960). Usou-se o programa estatístico MSTATC (1989) da Michigan State University.

2.5 ANÁLISE DE CORRELAÇÕES SIMPLES

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

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 ANÁLISE QUÍMICA FOLIAR E DO SOLO

3.1.1 Nitrogênio

O teor de N-total foliar (Tabela 1) não apresentou diferença estatística significativa ($p < 0,05$) entre os morfotipos de erva-mate e a idade das folhas.

TABELA 1 – TEORES DE N-TOTAL FOLIAR DE TRÊS MORFOTIPOS DE ERVA-MATE

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

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

A variação dos teores de N-total foliar entre 27,05 a 31,50 g kg⁻¹ foi considerada elevada, tendo por base o trabalho de REISSMANN e PREVEDELO (1992) que encontraram teores médios de 29 g kg⁻¹. Menores teores foram obtidos por CAMPOS (1991), entre 21,9 a 24,3 g kg⁻¹ e FOSSATI (1997), entre 17,2 a 24,6 g kg⁻¹.

Não foi verificada diferença estatística significativa para o teor de nitrogênio total presente no solo (Tabela 2) entre os morfotipos, evidenciando que a mineralização da matéria orgânica no solo ocorre de forma uniforme na área de plantio. O carbono orgânico segundo TOMÉ JÚNIOR (1997) apresenta teor médio de 2,3 g.kg⁻¹ (REISSMANN *et al.*, 2003 b). A relação C/N resultou em 10,3, indicando boas condições de decomposição da matéria orgânica e a conseqüente liberação de nitrogênio para absorção pela planta. Tal fato explica os altos valores de nitrogênio total encontrados nas folhas, conforme a Tabela 1.

TABELA 2 – TEORES MÉDIOS DE N-TOTAL DO SOLO

Morfotipo	N-total do Solo (g kg⁻¹ amostra)
Amarelinha	2,270 a
Cinza	2,260 a
Sassafrás	2,192 a

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

3.1.2 Alcalóides

Os resultados analíticos dos teores da cafeína e teobromina encontrados por CLAE constam da Tabela 3. A teofilina não foi detectada em nenhuma das amostras, provavelmente devido à sua baixa solubilidade em água (solvente utilizado para efetuar as extrações). O mesmo foi observado por GOSSMANN (1989), CHIFFORD e MARTINEZ (1990) e REGINATO *et al.* (1999), porém usando cromatografia em camada delgada.

TABELA 3 – TEORES MÉDIOS DE CAFEÍNA E TEOBROMINA EM TRÊS MORFOTIPOS DE ERVA-MATE

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

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

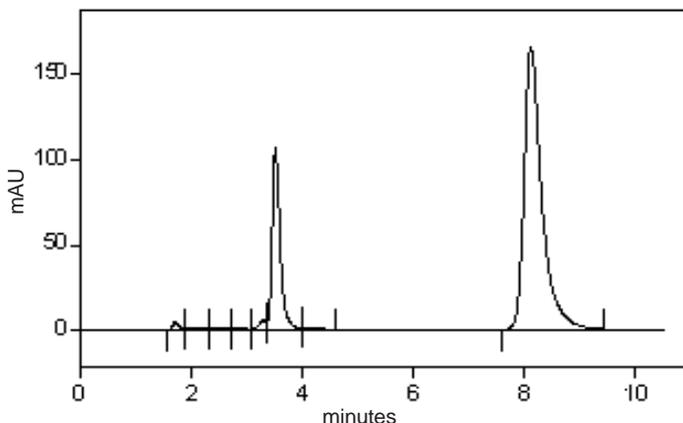
Na Figura 1 é apresentado um dos cromatogramas das análises dos alcalóides por CLAE.

Para a teobromina verificou-se diferença estatística significativa ($p < 0,05$) entre a idade das folhas, sendo os maiores teores encontrados nas folhas jovens. Entre os morfotipos não ocorreu diferença estatística significativa, havendo maior teor nas folhas jovens do cinza (cinza > sassafrás > amarelinha). Nas folhas maduras o morfotipo cinza também apresentou maior teor de teobromina, seguido pelo amarelinha e pelo sassafrás (cinza > amarelinha > sassafrás). PAULA (1968) já havia constatado que a riqueza relativa aos alcalóides diminui com a idade das folhas.

Os teores de teobromina e, principalmente, os de cafeína encontrados neste trabalho foram superiores aos obtidos por MAZZAFERA (1994), VALDUGA (1995), REGINATO *et al.* (1999), SALDANÑA, MOHAMED e MAZZAFERA (2000), ZAMPIER (2001) e SCHERER *et al.* (2002). As metilxantinas (cafeína, teofilina e teobromina) sofrem variação dependendo da procedência do produto, condições ambientais, fatores edafoclimáticos, tratos culturais, variedade genética da planta, ocorrências de

pragas, condições de crescimento, técnicas de cultivo e poda, idade da planta e das folhas selecionadas, época da colheita, tipo de processamento industrial, aspectos sazonais, tempo de armazenamento, tempo de prateleira e dos métodos extrativos usados para a quantificação (PARANÁ, 2000; ESMELINDRO *et al.*, 2002).

FIGURA 1 – CROMATOGRAMA DE ANÁLISE POR CLAE DE ALCALÓIDES DA ERVA-MATE



O primeiro pico com tempo de retenção de $\pm 3,5$ minutos refere-se à teobromina e o segundo com tempo de retenção de $\pm 8,2$ minutos refere-se a cafeína. A teofilina não foi determinada em nenhuma amostra no seu tempo de retenção (5 a 7 minutos).

mAU = Absorbância $\times 10^{-3}$.

3.1.3 Compostos fenólicos (Taninos)

Os teores médios dos taninos obtidos pela análise espectrofotométrica encontram-se na Tabela 4.

Verificou-se diferença estatística significativa ($p < 0,05$) entre a idade das folhas (jovens e maduras) e entre os morfotipos para os teores de taninos ($p < 0,01$). Os teores obtidos para os taninos mostraram-se superiores aos encontrados por PAULA (1968), VALDUGA (1995), RACHWAL *et al.* (2000) e ZAMPIER (2001). Tais diferenças podem estar ligadas à idade das folhas, procedência, insolação e mecanismo de defesa contra herbivoria (COLEY e BARONE, 1996; THOMSON, 1993; HELDT, 1997; KOZLOWSKI e PALLARDY, 1997; MISRA *et al.*, 1999). O maior teor de taninos nas folhas jovens pode estar relacionado com o fato das plantas

analisadas terem sido cultivadas a pleno sol e os taninos estarem agindo como uma forma de defesa das folhas novas ao estresse causado pelo ambiente (COELHO *et al.*, 2000).

TABELA 4 – TEORES MÉDIOS DOS TANINOS EM TRÊS MORFOTIPOS DE ERVA-MATE

Morfotipo	Idade das folhas	Média taninos (g/100 g amostra)
Amarelinha	Jovens	13,6958 c
Amarelinha	Maduras	12,9530 c
Cinza	Jovens	20,5911 ab
Cinza	Maduras	18,2607 abc
Sassafrás	Jovens	22,1339 a
Sassafrás	Maduras	15,7772 bc

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

Na Tabela 5 são apresentados os resultados da análise de variância e os valores de Qui-quadrado (χ^2) referentes ao teste de Bartlett.

TABELA 5 – ANÁLISE DE VARIÂNCIA DOS DADOS REFERENTE ÀS VARIÁVEIS ANALISADAS

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

ns = não-significativo.

* significativo a 5% de probabilidade.

** significativo a 1 % de probabilidade.

3.2 ANÁLISE DE CORRELAÇÕES SIMPLES

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

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

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

() valor referente a % de probabilidade de significância do coeficiente de correlação linear (r).

(A, C, S) = morfotipo amarelinha, cinza e sassafrás.

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

	Cafeína (A, C, S)	Teobromina (A, C, S)	Taninos (A, C, S)	N-total do solo (A, C, S)
N-total nas folhas - Amarelinha	0,61 (20%)	-0,22 (68%)	0,06 (90%)	-0,01 (98%)
N-total nas folhas - Cinza	0,92 (0,9%)	-0,16 (78%)	-0,64 (17%)	0,47 (33%)
N-total nas folhas - Sassafrás	-0,19 (72%)	0,33 (52%)	0,49 (32%)	-0,20 (70%)
Cafeína - Amarelinha	1,00	-0,65 (18%)	-0,11 (82%)	-0,51 (30%)
Cafeína - Cinza	1,00	-0,34 (50%)	-0,51 (30%)	0,59 (22%)
Cafeína - Sassafrás	1,00	0,44 (38%)	0,53 (28%)	-0,43 (39%)
Teobromina - Amarelinha		1,00	0,05 (93%)	0,07 (89%)
Teobromina - Cinza		1,00	0,64 (17%)	-0,93 (0,8%)
Teobromina - Sassafrás		1,00	0,33 (52%)	-0,46 (36%)
Taninos - Amarelinha			1,00	-0,07 (89%)
Taninos - Cinza			1,00	-0,80 (3%)
Taninos - Sassafrás			1,00	-0,82 (4%)
N-total do solo - Amarelinha				1,00
N-total do solo - Cinza				1,00
N-total do solo - Sassafrás				1,00

() valor referente a % de probabilidade de significância do coeficiente de correlação linear (r).

(A, C, S) morfotipo amarelinha, cinza e sassafrás

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

Nas folhas maduras do morfotipo cinza foram observadas as seguintes correlações significativas ($p < 0,05$): probabilidade de 0,9% de significância entre a cafeína e o N-total das folhas ($r = 0,92$), com probabilidade de 0,8% de significância entre o N-total do solo e a teobromina ($r = -0,93$) e com probabilidade de 5% de significância entre o N-total do solo e os

taninos ($r = -0,80$). Para o morfotipo sassafrás nas folhas maduras foi observada correlação significativa com 4% de probabilidade ($p < 0,05$) entre o N-total do solo e os taninos ($r = -0,82$).

O morfotipo cinza apresentou o maior número de correlações significativas e evidenciou maior similaridade entre folhas jovens e maduras, tanto na quantificação dos seus componentes quanto na semelhança das correlações estabelecidas. Correlações fenotípicas entre a cafeína e a teobromina, bem como entre a cafeína e o nitrogênio também foram observadas por SCHERER et al. (2002) e ZAMPIER (2001), respectivamente. Tais aspectos sugerem a necessidade de pesquisas direcionadas para o esclarecimento dessas evidências.

BOEGER, REISSMANN e BORILLE (2003) analisaram folhas maduras de três morfotipos de erva-mate da *Ervateira* Bitumirim em Ivaí do Sul (PR). Observaram que as concentrações de clorofila total diferiram significativamente entre os morfotipos, havendo maiores concentrações no cinza e menores na amarelinha. Os morfotipos cinza e o sassafrás apresentaram, respectivamente, 58,1% e 29,4% mais clorofila que o morfotipo amarelinha. A concentração de clorofila nas folhas se reflete na cor da erva-mate, que por sua vez constitui parâmetro de qualidade (MORAWICKI, SCHMALKO e KÄNZIG, 1999). A quantidade de clorofila numa planta sofre influência da intensidade luminosa. Folhas sob alta incidência de luz apresentam maior quantidade de clorofila por cloroplastos e xantofilas por área (LAMBERS, CHAPIN e PONS, 1998). Entretanto, BOEGER, REISSMANN e BORILLE (2003) afirmaram que as diferentes tonalidades entre os morfotipos parecem estar mais relacionadas com suas características genéticas (material de procedência) do que com as condições ambientais.

4 CONCLUSÃO

O nitrogênio do solo e o foliar não apresentaram diferenças estatísticas significativas, sendo reflexo da distribuição uniforme e satisfatória da matéria orgânica no solo.

Os teores de teobromina variaram significativamente em relação à idade das folhas e os de tanino conforme o morfotipo da erva-mate e a idade das folhas (jovens e maduras).

Dentre os morfotipos estudados, o cinza foi o que apresentou maior número

de correlações significativas (nitrogênio do solo x taninos para folhas jovens e maduras, nitrogênio do solo x teobromina para folhas maduras e nitrogênio foliar x cafeína folhas jovens e maduras), mostrando-se o mais adequado para futuros estudos de padronização dos produtos da erva-mate.

Abstract

RELATION BETWEEN PHYTOCHEMICAL COMPOUNDS AND NITROGEN IN MATE (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) MORPHOTYPES

The present work had as objective to determine the amounts of caffeine, theobromine, theophylline and tannins of three mate morphotypes based on sampling of young and mature leaves. Nitrogen in the leaves and in soil cores of the morphotypes was also determined to establish correlations among the analysed variables. Statistical evaluation was performed using ANOVA and simple correlation analysis. According to leaf color and morphological characteristics, the morphotypes were named as "amarelinha" (yellowish), "cinza" (gray) and "sassafras" and were collected in a commercial plantation at Ivaí do Sul County, Paraná state, in July 2002. The analytical results showed high levels of caffeine, theobromine, tannins, total nitrogen in soil and total nitrogen in leaves in the three morphotypes. The high level of nitrogen in the leaves is related to its high contents in the soil cores. The lack of significant differences among samples for nitrogen is a result of a homogeneous distribution of the organic matter in the study area. Another aspect detected was the statistical differences between young and mature leaves for theobromine as for tannins, among morphotypes and between leaf ages. The "cinza" morphotype is the most appropriate for future standardization studies for mate products due to its higher number of significant correlations between the analysed variables.

KEY-WORDS: MATE; *Ilex paraguariensis*; ALKALOIDS; METHYLXANTHINES; NITROGEN.

REFERÊNCIAS

- 1 BOEGER, M. R. T.; REISSMANN, C. B.; BORILLE, A. M. W. Análise morfométrica foliar de três morfotipos de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil). In: CONGRESSO SUL AMERICANO DE ERVA-MATE, 3; FEIRA DO AGRONEGÓCIO DA ERVA-MATE, 1, 2003, Chapecó. **Anais...** Chapecó: Ed. News Print, 2003.
- 2 BREMNER, J. M. Nitrogen-Total. In: SPARTS, D. L. (Ed.) **Methods of Gril Analysis**. Part 3- Chemical Methods. 1996. p. 1085-1121.
- 3 CAMPOS, M. A. **Balanco de biomassa e nutrientes em povoamento da *Ilex paraguariensis*. Avaliação na safra e na safrinha**. Curitiba, 1991. 107f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal), Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.
- 4 CAMPOS, M. A.; ESCOBAR, J.; LISSI, E. A. The total reactive antioxidant potential (TRAP) and total antioxidant reactivity (TAR) of *Ilex paraguariensis* extracts and

- redwin. **J. Braz. Chem. Soc.**, v.7, n.1, p.43-49, 1996.
- 5 CHIFFORD, M. N.; MARTINEZ, J. R. R. Chlorogenic acids and purine alkaloid contents of maté leaf and beverage. **J. Food Chem.**, v. 35, n. 1, p. 13-21,1990.
 - 6 COELHO, G. C.; RACHWAL, M.; SCHNORREBERGER, E.; SCHENKEL, E. P. Efeito do sombreamento sobre a sobrevivência, morfologia e química da erva-mate. In CONGRESSO SUL-AMERICANO DE ERVA-MATE, 2; REUNIÃO TÉCNICA DA ERVA-MATE, 3, 2000, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: Ed. dos Organizadores, 2000. p.396-399.
 - 7 COLEY, P. D.; BARONE, J. A. Herbivory and plant defenses in tropical forests. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 27 p. 305-335, 1996.
 - 8 EMBRAPA. **Levantamento de reconhecimento dos solos do Estado do Paraná**. Londrina: SNLCS/SUDESUL/IAPAR, 1984. 791 p. (Boletim Técnico , 57).
 - 9 EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de métodos de análise de solo**. 2. ed. Rio de Janeiro, 1997. 212 p.
 - 10 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.
 - 11 FOSSATI, L. C. **Avaliação do estado nutricional e da produtividade da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St.Hil.), em função do sítio e da dioxina**. Curitiba, 1997. 113 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal). Curso de Pós-Graduação em Engenharia Florestal. Universidade Federal do Paraná.
 - 12 GOSMANN, G. **Saponinas de *Ilex paraguariensis* St. Hil. (erva-mate)**. Porto Alegre, 1989. 108 p. Dissertação (Mestrado em Farmácia), Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
 - 13 HELDT, H. W. **Plant biochemistry and molecular biology**. Oxford: Ed Oxford University Press, 1997.
 - 14 ISO. International Organization for Standardization. **Tea and instant tea in solid form: determination of caffeine content – method using high performance liquid chromatography (ISO 10272)**. Geneva, 2002.
 - 15 KOZLOWSKI, T. T.; PALLARDY, S. G. **Physiology of woody plants**. Oxford, Academic Press, 1997. 411 p.
 - 16 LAMBERS, H.; CHAPIN III, F. S.; PONS, T. L. **Plant Physiological Ecology**. New York: Springer Verlag, 1998. 356 p.
 - 17 MAZZAFERA, P. Caffeine, theobromine and theophylline distribution in *Ilex paraguariensis* St Hil. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v. 6 n. 2, p. 149-151, set. 1994.
 - 18 MAZUCHOWSKI, J. Z.; RUCKER, N. G. A. **Diagnóstico e alternativas para a**

- erva-mate *Ilex paraguariensis***. Curitiba: Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento, Departamento de Economia Rural, 1993. 141 p.
- 19 MICHIGAN STATE UNIVERSITY. **MSTATC, versão 2.10**. East Lansing, MI, 1989, 2 disquetes 3½ pol., MSDOS.
- 20 MISRA, N.; LUTHRA, R.; SINGH, K. L.; KUMAR, S. Recent advances in biosynthesis of alkaloid. In: BARTON, S. D.; NAKANISHI, K.; METH-COHN, O. **Comprehensive natural products chemistry**. London, Ed. Elsevier, 1999. v.4.
- 21 MORAWICKI, R. O.; SCHMALKO, M. E.; KÄNZIG, R.G. Chlorophyll stability in yerba maté leaves in controlled atmospheres. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 42, p. 85-90, 1999.
- 22 PARANÁ. Ministério da Agricultura Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Vegetal. **Metodologia de análises de bebidas e vinagres**. Curitiba, 1986.
- 23 PARANÁ. Câmara Setorial da Cadeia Produtiva da Erva-mate. **Produtos alternativos e desenvolvimento da tecnologia industrial na cadeia produtiva da erva-mate**. Curitiba: Ed. Do autor, 2000. 160 p. (Série PADCT III, 1).
- 24 PAULA, R. D. de G. **Novos estudos sobre o mate**. Rio de Janeiro: Ministério da Indústria e do Comércio/Instituto Nacional de Tecnologia, 1968. p 11-46.
- 25 RACHWAL, M. F. G. et al. Influência da luminosidade sobre os teores de macronutrientes e taninos em folha de erva-mate. In: CONGRESSO SUL-AMERICANO DE ERVA-MATE, 2.; REUNIÃO TÉCNICA DA ERVA-MATE, 3. 2000, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: Ed. dos Organizadores, 2000. p. 417-420.
- 26 REGINATTO, F. H. et al. Methylxanthines accumulation in *Ilex* Species-caffeine and theobromine in erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) and other *Ilex* Species. **Journal Brazilian Chemistry Society**, v. 10, n. 6, p. 443-446, 1999.
- 27 REISSMANN, C. B.; CORRÊA, D. R.; BOEGER, M. R.; MACARRI JÚNIOR, A.; CRUZ, A. C. L.; RIBEIRO, M. M.; WISNIEWSKI, C. Calibração preliminar de Fe e Mn em erva-mate utilizando a análise foliar e extração do solo com ácido cítrico 1% e ácido clorídrico 1 mol. L⁻¹. In: CONGRESSO SUL AMERICANO DE ERVA-MATE, 3., FEIRA DO AGRONEGÓCIO DA ERVA-MATE, 1., 2003, Chapecó. **Anais...** Chapecó: Ed. News Print, 2003a.
- 28 REISSMANN, C. B.; DÜNISCH, O.; BOEGER, M. R. Beziehung Zwischen Ernährungsbiologischen (Fe, Mn, Ca) und Strukturellen Merkmalen Ausgewählter Morphotypen Der Mate-Pflanze (*Ilex paraguariensis* St. Hil). In: HÜTTL, R. F. **Boden, Wald und Wasser**. Germany: KLUVER, 2003 b. p. 146-171.
- 29 REISSMANN, C. B.; PREVEDELLO, B. M. S. Influência da calagem no crescimento e na composição química foliar da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). In: CONGRESSO NACIONAL SOBRE ESSÊNCIAS NATIVAS: CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE, 2., 1992, São Paulo. **Anais Revista do Instituto Florestal**, São Paulo, v. 4, n. único, p. 625-629, 1992.

- 30 REISSMANN, C. B.; ROCHA, H. O. da; KOEHLER, C. W. Bioelementos em folhas e hastes de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) sobre cambissolo na região de Mandirituba-PR. Curitiba. **Revista Floresta**. v. 14 n. 2 p. 49-54, 1983.
- 31 RÜCKER, N. G. de A.; CIRIO, G. M. Ecofisiologia da erva-mate e os parâmetros legais In: MACCARI JUNIOR, A.; MAZUCOWSKI, J. Z. **Produtos alternativos e desenvolvimento da tecnologia industrial na cadeia produtiva da erva-mate**. Curitiba: Ed. Câmara Setorial da Cadeia Produtiva da Erva-mate do Paraná, 2000. p. 105-119.
- 32 SALDAÑA, M. D. A.; MOHAMED, R. S.; MAZZAFERA, P. Supercritical carbon dioxide extraction of methylxanthines from Maté Tea leaves. **Braz. J. Chem. Eng.**, v. 17, n. 3, p. 1-14, 2000.
- 33 SCHERER, R.; UFER, M. R.; BELINGHERI, L. D.; MARX, F.; JANSSENS, M. J. J. Inheritance studies of caffeine and theobromine content of Mate (*Ilex paraguariensis*) in Misiones, Argentina. **Euphytica**, v. 126, p. 230-210, 2002.
- 34 SOSA, D. A. Evaluación de la productividad del cultivo de yerba mate en relación al estado nutricional suelo/planta. In: CURSO DE CAPACITACIÓN EN PRODUCCIÓN DE YERBA MATE: Cerro Azul. **Anais...Cerro Azul**: INTA, Estación Experimental Agropecuaria Cerro Azul, 1992. p.61-64.
- 35 STEEL, R. G. D.; TORRIE, I. H. **Principles and procedures of statistics**. New York: Mc Graw-Hill, 1960. 481 p.
- 36 THOMSON, R.H. **The chemistry of natural products**. London: Ed. Blackie Academic Professional, 1993.
- 37 TOMÉ JÚNIOR, J. B. **Manual para interpretação de análise do solo**. Guaíba: Ed. Agropecuária, 1997. 247 p.
- 38 VALDUGA, E. **Caracterização química e anatômica da folha de *Ilex paraguariensis* Saint Hilaire e de algumas espécies utilizadas na adulteração do mate**. Curitiba, 1995. 97 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Química), Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná.
- 39 ZAMPIER, A. C. **Avaliação dos níveis dos nutrientes, cafeína e taninos em erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) após adubação e sua relação com a produtividade**. Curitiba, 2001. 94 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal), Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pelo incentivo e apoio à pesquisa; à Universidade Federal do Paraná pela disponibilização dos laboratórios; à Ervateira Bitumirim na pessoa do Sr. Afonso Olisieski pelo apoio de campo; aos Professores Dr. Carlos Bruno Reissmann e Dr. Renato João Sossela de Freitas pela amizade, apoio e orientação na execução do trabalho.