

Foto: Ivar Wendling



## Efeito do solvente na extração de teobromina e cafeína em progênies de erva-mate

Cristiane Vieira Helm<sup>1</sup>  
Henrique Zavattieri Ruiz<sup>2</sup>  
Fabrício Augusto Hansel<sup>3</sup>  
Carlos André Stuepp<sup>4</sup>  
Ivar Wendling<sup>5</sup>

*Ilex paraguariensis* St. Hil. (Aquifoliaceae) é uma espécie muito apreciada e consumida na América do Sul, sobretudo na forma de infusão (CARVALHO, 2003). Seu consumo em nível mundial vem crescendo, estimulado por suas propriedades medicinais (ANESINI et al., 2012; DARTORA et al., 2013; GORGEN et al., 2005; HECK; DE MEJÍA, 2007; LUNCEFORD; GUGLIUCCI, 2005) e nutricionais, principalmente energéticas, devido à presença de metilxantinas como cafeína e teobromina (ALIKARIDIS, 1987; ISOLABELLA et al., 2010).

A erva-mate apresenta diversas classes de compostos, sendo elas flavonóides, aminoácidos, ácidos graxos, taninos, saponinas, terpenóides, metilxantinas, carboidratos, proteínas, glicídios, vitaminas e minerais (ALIKARIDIS, 1987; CARON et al., 2014; DARTORA et al., 2011; DUCAT; QUINÁIA, 2004; OLIVA et al., 2014; VALERGA et al., 2012). Entre estes, as metilxantinas se destacam pelo elevado interesse farmacológico e terapêutico, sobretudo por suas propriedades estimulantes (FERRÉ, 2008). A principal metilxantina identificada em erva-mate é a cafeína

(0,16-1,84%) (REGINATTO et al., 1999), seguido de teobromina (0,26-0,88%) (CLIFFORD et al., 1990). Essa elevada variação nos teores de metilxantinas vem sendo motivo de estudo em erva-mate (CARDOZO JUNIOR. et al., 2007; GNOATTO et al., 2007; ISOLABELLA et al., 2010; REGINATTO et al., 1999; SCHUBERT et al., 2006;), resultado da elevada variabilidade genética entre plantas (CARDOZO JUNIOR. et al., 2007) e acurácia dos métodos de extração aplicados em sua determinação (GNOATTO et al., 2007).

A eficiência na extração de metilxantinas depende diretamente da sua solubilidade nos diferentes solventes empregados, entre eles, H<sub>2</sub>O (GNOATTO et al., 2007) e acetonitrila (MOREIRA et al., 2014).

A acetonitrila apresenta um perfil altamente tóxico por diferentes vias de absorção, com elevado potencial teratogênico e, quando na forma de vapor, é prontamente absorvida pelo trato respiratório e metabolizada principalmente pelo fígado (BRACHT, 2011; CASSINI et al., 2013). Ademais, no caso específico da erva-mate, consumida na forma de

<sup>1</sup> Química Industrial, Doutora em Ciências dos Alimentos, Pesquisadora da Embrapa Florestas, Colombo, PR

<sup>2</sup> Químico, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, PR

<sup>3</sup> Químico, Doutor em Química, Analista da Embrapa Florestas, Colombo, PR

<sup>4</sup> Engenheiro Florestal, Doutorando em Produção Vegetal, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR

<sup>5</sup> Engenheiro Florestal, Doutor em Ciências Florestais, Pesquisador da Embrapa Florestas, Colombo, PR

chimarrão ou chá, a água quente é o solvente naturalmente usado para seu consumo (BASTOS et al., 2006; FERRÉ, 2008).

Considerando a importância das metilxantinas na qualidade final de produtos provenientes de erva-mate (SCHUBERT, et al., 2006), foram avaliados dois solventes (H<sub>2</sub>O quente e acetonitrila) em diferentes progênies, objetivando encontrar aquele mais adequado para a extração destes metabólitos por meio de CLAE.

Foram selecionadas 37 progênies de erva-mate com base em sua produtividade, provenientes de teste de procedências e progênies de meios-irmãos, instalado no Município de Ivaí, PR (25°01'S e 50°48'W, 600 m, 1.500-1.600 mm anuais). Este foi implantado em novembro de 1997, com 156 progênies de sete procedências, sendo seis do Paraná (Ivaí, Colombo, Quedas do Iguaçu, Pinhão, Antônio Olinto e Cascavel) e uma do Rio Grande do Sul (Barão de Cotegipe). Foi utilizado espaçamento de 3 m x 2 m e condições de pleno sol. Em agosto de 2011, coletou-se 60 g de folhas íntegras, totalmente expandidas (maduras) localizadas no terço médio da copa, nos quatro quadrantes, sendo devidamente acondicionadas em embalagens do tipo "kraft", identificadas e encaminhadas ao Laboratório de Tecnologia de Produtos não-madeiráveis da Embrapa Florestas.

As amostras foram previamente secas em forno micro-ondas (potência 1.500 W, frequência 2.450 MHz), por aproximadamente 4 min, alternando a posição das folhas após 2 min, com a finalidade de homogeneizar a secagem. Posteriormente, as folhas foram trituradas, peneiradas a 0,5 mm, embaladas e armazenadas em freezer (-20 °C).

Foram preparados extratos aquosos contendo 0,1 g de material vegetal em 25 mL de água ultrapura tipo I aquecida até sua temperatura de ebulição. Em seguida, foram homogeneizados em ultrassom (Ultracleaner 1.400 A) por 15 min, resfriados a temperatura ambiente e congelados (-20 °C).

As análises foram realizadas em cromatógrafo líquido de alta eficiência (Waters® Alliance) equipado com injetor automatizado, coluna Symmetry® C18 (150 x 4,6 mm) com detector de arranjo de fotodiodos Waters® modelo 2996. Por se tratar de

ambiente climatizado (20 °C), não foi necessário ajuste da coluna.

A solução foi filtrada em membranas 0,45 µm e desgaseificada em banho ultrassônico (Ultracleaner 1400A). Posteriormente realizou-se a injeção de 10 µL de extrato aquoso em corrida isocrática com fase móvel constituída de 8,5% de acetonitrila em água contendo 0,5% de ácido acético. O fluxo da fase móvel foi de 0,250 mL min<sup>-1</sup>, com tempo de análise de 40 min. A detecção de cafeína e teobromina foi realizada com comprimento de onda fixo em 280 nm.

As curvas de calibração foram preparadas a partir de soluções estoques de cafeína e teobromina 250 mg L<sup>-1</sup> e 100 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente (> 98% de pureza, Sigma-Aldrich). A fase móvel foi usada como solvente no preparo das soluções estoque e nas diluições para a confecção da curva de calibração, as quais foram preparadas em balão de 25 mL.

Para a quantificação de cafeína e teobromina, os extratos foram descongelados e homogeneizados manualmente por 30 s. Cerca de 2 mL de extrato foram filtrados em membrana de 0,22 µm com auxílio de seringa e *holder*. Após, uma alíquota foi transferida para um *vial* de 1,5 mL âmbar e tampa de teflon. Estas amostras foram injetadas diretamente no cromatógrafo. A quantificação de cafeína e teobromina em 100 g<sup>-1</sup> de amostra foi realizada de acordo com a seguinte equação:

$$\% = \frac{[C]}{2 \cdot M}$$

Onde:

[C] = Concentração em mg L<sup>-1</sup> obtida por meio da curva de calibração;

M = Massa utilizada para a preparação de extrato em etanol.

$$Fr = \frac{[\text{padrão}] \left( \frac{\text{mg}}{25\text{mL}} \right)}{\text{Área do pico padrão}}$$

$$\text{Teor} = \frac{Fr A_{am} 0,1}{P_{am}}$$

Onde:

A<sub>am</sub> – Área de pico de interesse na amostra;

P<sub>am</sub> – Massa amostra (g 25 mL);

0,1 – fator de conversão mg → g e %.

Os dados coletados foram submetidos à análise de variância. As variáveis que apresentaram diferenças significativas pelo teste de F tiveram suas médias comparadas pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Independente do solvente utilizado, verificou-se a presença de cafeína e teobromina em todas as progênies avaliadas. É possível afirmar que as concentrações de metilxantinas apresentam forte variabilidade genética, podendo variar de 0,01 a 0,95 g 100 g<sup>-1</sup> (teobromina) e 0,01 a 2,96 g 100 g<sup>-1</sup> (cafeína) (Tabela 2).

De maneira geral, a grande variação para os teores de teobromina e cafeína obtida para as diferentes progênies de erva-mate evidencia o seu elevado potencial para o desenvolvimento de novos produtos provenientes de suas folhas. Em termos de metodologia de extração, foram verificadas diferenças significativas entre os dois solventes em nove das 37 progênies (24,3%) para o teor de teobromina. No entanto, não houve diferença significativa para cafeína para nenhuma amostra com a utilização dos dois solventes (Tabela 2).

Além dos fatores genéticos, as concentrações de metilxantinas podem ser influenciadas pelas condições ambientais (MAZZAFERA, 1994), sazonais (BLUM-SILVA et al., 2015; SCHUBERT et al., 2006;) e tratamento pós colheita (DARTORA et al., 2011; GNOATTO et al., 2007;). De forma semelhante, as concentrações de metilxantinas são maiores em tecidos jovens com elevada atividade metabólica (regiões meristemáticas, flores e frutos jovens) em comparação com tecidos maduros ou em senescência, devido a menor atividade celular nestas regiões (BLUM-SILVA et al., 2015; MAZZAFERA, 1994). Estas variações foram minimizadas ou até evitadas no presente estudo com a utilização exclusiva de folhas completamente expandidas (maduras), provenientes de matrizes cultivadas a pleno sol.

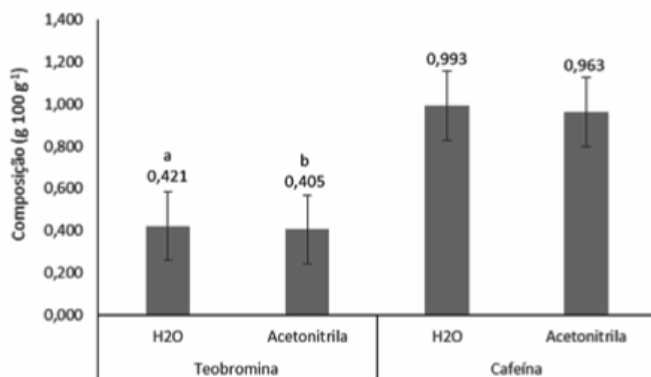
Os dois solventes utilizados (H<sub>2</sub>O quente e acetoneitrila) apresentaram bons resultados na extração e quantificação de metilxantinas em amostras de erva-mate. Foram verificadas diferenças significativas apenas para os teores de

**Tabela 2.** Teor de metilxantinas (teobromina e cafeína) em 37 progênies de erva mate (*Ilex paraguariensis*) cultivadas em Ivaí, PR, e extraídas com H<sub>2</sub>O quente e acetoneitrila.

| Progênie                          | Teobromina       |               | Cafeína          |               |
|-----------------------------------|------------------|---------------|------------------|---------------|
|                                   | H <sub>2</sub> O | Acetoneitrila | H <sub>2</sub> O | Acetoneitrila |
| ----- g 100 g <sup>-1</sup> ----- |                  |               |                  |               |
| 7-93-1                            | 0,35             | 0,32          | 1,51             | 1,44          |
| 4-76-2                            | 0,16             | 0,09          | 2,25             | 2,09          |
| 5-72-5                            | 0,03             | 0,02          | 1,61             | 1,59          |
| 4-8-3                             | 0,10             | 0,04          | 0,02             | 0,02          |
| 3-25-4                            | 0,77             | 0,66          | 0,03             | 0,02          |
| 3-65-1                            | 0,03             | 0,03          | 0,35             | 0,38          |
| 9-25-1                            | 0,19             | 0,15          | 0,02             | 0,04          |
| 7-157-1                           | 0,19             | 0,14          | 1,80             | 1,71          |
| 9-124-5                           | 0,58 **          | 0,71 **       | 0,82             | 0,98          |
| 3-105-1                           | 0,62             | 0,59          | 0,10             | 0,09          |
| 4-153-5                           | 0,48             | 0,49          | 0,98             | 1,01          |
| 7-61-3                            | 0,45             | 0,42          | 2,35             | 2,33          |
| 6-105-3                           | 0,95 **          | 0,85 **       | 1,01             | 0,91          |
| 5-25-4                            | 0,44             | 0,45          | 0,02             | 0,01          |
| 3-105-3                           | 0,71             | 0,75          | 0,37             | 0,38          |
| 3-158-2                           | 0,60             | 0,55          | 1,14             | 1,14          |
| 7-165-1                           | 0,53             | 0,54          | 2,78             | 2,77          |
| 3-62-1                            | 0,22             | 0,17          | 1,60             | 1,48          |
| 4-67-1                            | 0,25 **          | 0,13 **       | 0,97             | 0,65          |
| 3-115-5                           | 0,70             | 0,64          | 0,30             | 0,27          |
| 7-70-6                            | 0,33 **          | 0,48 **       | 0,09             | 0,10          |
| 4-81-6                            | 0,30             | 0,32          | 2,96             | 2,95          |
| 6-172-3                           | 0,07             | 0,04          | 2,56             | 2,12          |
| 3-25-1                            | 0,19             | 0,21          | 0,02             | 0,04          |
| 4-110-6                           | 0,09             | 0,11          | 0,95             | 0,97          |
| 4-10-2                            | 0,76             | 0,74          | 1,08             | 1,01          |
| 7-105-1                           | 0,62 **          | 0,77 **       | 0,03             | 0,04          |
| 6-156-6                           | 0,18             | 0,20          | 1,27             | 1,40          |
| 4-86-5                            | 0,41             | 0,37          | 1,26             | 1,06          |
| 5-96-5                            | 0,30             | 0,26          | 1,54             | 1,68          |
| 8-107-5                           | 0,72 **          | 0,84 **       | 0,05             | 0,07          |
| 4-118-2                           | 0,91             | 0,85          | 0,71             | 0,59          |
| 3-11-6                            | 0,34             | 0,29          | 0,06             | 0,04          |
| 5-107-4                           | 0,82 **          | 0,59 **       | 1,62             | 1,38          |
| 3-115-4                           | 0,82 **          | 0,72 **       | 0,27             | 0,26          |
| 5-162-1-S                         | 0,46 **          | 0,56 **       | 1,48             | 1,81          |
| 4-56-2-A                          | 0,02             | 0,01          | 0,83             | 0,87          |

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade (p<0,01).

teobromina, no qual a água quente resultou em maior extração ( $0,421 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ ) em relação à acetoneitrila ( $0,405 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ ) (Figura 1). Para os teores de cafeína não foram verificadas diferenças significativas entre as médias das progênies avaliadas ( $p > 0,05$ ), mostrando que independe do solvente aplicado (Figura 1). Por outro lado, a extração com  $\text{H}_2\text{O}$  é mais simples e de menor custo, além disso, não utiliza agentes nocivos à saúde humana e ao ambiente.



**Figura 1.** Médias dos teores de metilxantinas (teobromina e cafeína), em 37 progênies de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) cultivadas em Ivaí, PR, extraídas por CLAE com a utilização  $\text{H}_2\text{O}$  e acetoneitrila como solventes.

Estes resultados sugerem a utilização de  $\text{H}_2\text{O}$  quente como solvente de alta eficiência para determinação de metilxantinas em erva-mate. Resultados semelhantes foram verificados por Gnoatto et al. (2007) em erva-mate, no qual a água quente apresentou-se como o melhor solvente em comparação a clorofórmio (isopropanol, 3:1, v/v), quando utilizado em material vegetal sem tratamento prévio.

Apesar da eficiência dos dois solventes na extração e quantificação de metilxantinas, deve-se ressaltar o efeito tóxico de acetoneitrila, tornando-se uma desvantagem a sua utilização para fins de análise laboratorial. Por outro lado, a água quente apresenta-se como uma solução simples e de baixo custo, diminuindo os riscos de contaminação e facilitando os processos laboratoriais. Embora na extração de teobromina tenham ocorrido diferenças significativas, salienta-se que em média os teores foram maiores quando do uso da água quente (Figura 1). Ainda, como a erva-mate é consumida por infusão, o teor de teobromina mensurado

através da extração por água reflete com maior segurança os teores desse composto biodisponível durante o seu consumo.

## Conclusões

Os métodos utilizados são apropriados para a determinação dos compostos bioativos estudados em amostras de erva-mate. A variabilidade dos teores de metilxantinas entre as diferentes progênies é resultado das características genéticas destas progênies.

A utilização de  $\text{H}_2\text{O}$  quente como solvente é uma alternativa ao uso de solventes com elevada toxicidade, apresentando um conteúdo de metilxantinas similar ou superior à extração com acetoneitrila.

## Referências

- ALIKARIDIS, F. Natural constituents of *Ilex* species. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 20, p. 121-144, 1987. DOI: 10.1016/0378-8741(87)90084-5.
- ANESINI, C.; TURNER, S.; COGOI, L.; FILIP, R. Study of the participation of caffeine and polyphenols on the overall antioxidant activity of mate (*Ilex paraguariensis*). **LWT: Food Science and Technology**, v. 45, n. 2, p. 299-304, 2012. DOI: 10.1016/j.lwt.2011.06.015.
- BASTOS, D. H.; FERNARI, A. C.; QUEIROZ, Y. S.; TORRES, E. A. Bioactive compounds content of chimarrão infusions related to the moisture of yerba maté (*Ilex paraguariensis*) leaves. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 49, n. 3, p. 399-404, 2006. DOI: 10.1590/S1516-89132006000400007.
- BLUM-SILVA, A. H.; CHAVESA, V. C.; SCHENKEL, E. P.; COELHO, G. C.; REGINATTO, F. H. The influence of leaf age on methylxanthines, total phenolic content, and free radical scavenging capacity of *Ilex paraguariensis* aqueous extracts. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v. 25, n. 1, p. 1-6, 2015. DOI: 10.1016/j.bjp.2015.01.002.
- BRACHT, F.; Acetonitrila. **Revista Virtual de Química**, v. 3, n. 1, p. 51-52, 2011. DOI: 10.5935/1984-6835.20110006.
- CARDOZO JUNIOR, 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**, San Diego, v. 20, p. 553-558, 2007. DOI: 10.1016/j.jfca.2007.04.007.

- CARON, B. O.; SANTOS, D. R.; SCHMIDT, D.; BASSO, C. J.; BEHLING, A.; ELOY, E.; BAMBERG, R. Biomassa e acúmulo de nutrientes em *Ilex paraguariensis* A. St. Hil. **Ciência Florestal**, Santa Maria, RS, v. 24, n. 2, p. 267-276, 2014. DOI: 10.5902/1980509814565.
- CARVALHO, P. E. R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Colombo: Embrapa Florestas, 2003. 1039 p.
- CASSINI, S. T. A.; ANTUNES, P. W. P.; KELLER, R. Validação de método analítico livre de acetonitrila para análise de microcistinas por cromatografia líquida de alta eficiência. **Química Nova**, São Paulo, v. 36, n. 8, p. 1208-1213, 2013. DOI: 10.1590/S0100-40422013000800019.
- CLIFFORD, M. N.; RAMIREZ-MARTINEZ, J. R. Chlorogenic acids and purine alkaloids contents of mate (*Ilex paraguariensis*) leaf and beverage. **Food Chemistry**, v. 35, p. 13-21, 1990.
- DARTORA, N.; DE SOUZA, L. M.; SANTANA, A. P.; IACOMINI, M.; VALDUGA, A. T.; GORIN, P. A. J.; SAS-SAKI, G. L. UPLC-PDA-MS evaluation of bioactive compounds from leaves of *Ilex paraguariensis* with different growth conditions, treatments and ageing. **Food Chemistry**, London, v. 129, p. 1453-1461, 2011. DOI: 10.1016/j.foodchem.2011.05.112.
- DARTORA, N.; SOUZA, L. M.; PAIVA, S. M.; SCOPARO, C. T.; IACOMINIA, M.; GORINA, P. A. J.; RATTMANN, T. D.; SASSAKI, G. L. Rhamnogalacturonan from *Ilex paraguariensis*: a potential adjuvant in sepsis treatment. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 92, n. 2, p. 1776-1782, 2013. DOI: 10.1016/j.carbpol.2012.11.013.
- DUCAT, G.; QUINÁIA, S. P. Avaliação do teor de minerais da *Ilex paraguariensis* da região Centro-Oeste do Estado do Paraná. **Revista Ciências Exatas e Naturais**, v. 6, n. 1, p. 31-42, 2004.
- FERRÉ, S. An update on the mechanisms of the psychostimulant effects of caffeine. **Journal of Neurochemistry**, Oxford, v. 105, n. 4, p. 1067-1079, 2008.
- GNOATTO, S. C. B.; BASSANI, V. L.; COELHO, G. E.; SCHENKEL, E. P. Influência do método de extração nos teores de metilxantinas em erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. ST.-Hil., Aquifoliaceae). **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 2, p. 304-307, 2007. DOI: 10.1590/S0100-40422007000200012.
- GORGEN, M.; TURATTI, K.; MEDEIROS, A. R.; BUFFON, A.; BONAN, C. D.; SARKIS, J. J. F.; PEREIRA, G. S. Aqueous extract of *Ilex paraguariensis* decreases nucleotide hydrolysis in rat blood serum. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 97, p. 73-77, 2005.
- HECK, C. I.; DE MEJIA, E. G. Yerba mate tea (*Ilex paraguariensis*): A comprehensive review and chemistry, health implications, and technological considerations. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 72, n. 9, p. 138-151, 2007.
- ISOLABELA, S.; COGOI, L.; LÓPEZ P.; ANESINI C.; FERRARO G.; FILIP R. Study of the bioactive compounds variation during yerba mate (*Ilex paraguariensis*) processing. **Food Chemistry**, London, v. 122, p. 695-699, 2010. DOI: 10.1016/j.foodchem.2010.03.039.
- LUNCEFORD, N.; GUGLIUCCI, A. *Ilex paraguariensis* extracts inhibit AGE formation more efficiently than green tea. **Fitoterapia**, v. 76, p. 419-427, 2005. DOI: 10.1016/j.fitote.2005.03.021.
- MAZZAFERA, P. Caffeine, theobromine and theophylline distribution in *Ilex paraguariensis*. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 6, p. 149-151, 1994.
- MOREIRA, I.; SCHEEL, G. L.; HATUMURA, P. H.; SCARMINIO, I. S. Efeito do solvente na extração de ácidos clorogênicos, cafeína e trigonelina em *Coffea arabica*. **Química Nova**, São Paulo, v. 37, n. 1, p. 39-43, 2014. DOI: 10.1590/S0100-40422014000100008.
- OLIVA, E. V.; REISSMANN, C. B.; GAIAD, S.; OLIVEIRA, E. B.; STURION, J. A. Composição nutricional de procedências e progênies de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) cultivadas em latossolo vermelho distrófico. **Ciência Florestal**, Santa Maria, RS, v. 24, n. 4, p. 793-805, 2014. DOI: 10.1590/1980-509820142404001.
- REGINATTO, F. H.; ATHAYDE, M. L.; GOSMANN, G.; SCHENKEL, E. P. Methylxanthines Accumulation in *Ilex* Species - caffeine and theobromine in Erva-Mate (*Ilex paraguariensis*) and other *Ilex* Species. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 10, n. 6, p. 443-446, 1999.
- SCHUBERT, A.; ZANIN, F. F.; PEREIRA, D. F.; ATHAYDE, M. L. Variação anual 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**, São Paulo, v. 29, n. 6, p. 1233-1236, 2006. DOI: 10.1590/S0100-40422006000600016.
- VALERGA, J.; RETA, M.; LANARI, M. C. Polyphenol input to the antioxidant activity of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) extracts. **LWT: Food Science Technology**, v. 45, p. 28-35, 2012. DOI: 10.1016/j.lwt.2011.07.022.

**Comunicado  
Técnico, 363**

Ministério da  
Agricultura, Pecuária  
e Abastecimento

**Embrapa Florestas**

**Endereço:** Estrada da Ribeira Km 111, CP 319

Colombo, PR, CEP 83411-000

**Fone / Fax:** (0\*\*) 41 3675-5600

[www.embrapa.br/florestas](http://www.embrapa.br/florestas)

[www.embrapa.br/fale-conosco/sac/](http://www.embrapa.br/fale-conosco/sac/)

**1ª edição**

Versão eletrônica (2015)

**Comitê de  
Publicações**

**Presidente:** *Patrícia Póvoa de Mattos*

**Secretária-Executiva:** *Elisabete Marques Oaida*

**Membros:** *Elenice Fritzsos, Giselda Maia Rego, Ivar Wendling, Jorge Ribaski, Luis Cláudio Maranhão Froufe, Maria Izabel Radomski, Susete do Rocio Chiarello Pentead, Valderes Aparecida de Sousa*

**Expediente**

**Supervisão editorial:** *Patrícia Póvoa de Mattos*

**Revisão de texto:** *Patrícia Póvoa de Mattos*

**Normalização bibliográfica:** *Francisca Rasche*

**Editoração eletrônica:** *Luciane Cristine Jaques*