

## METILXANTINAS E COMPOSTOS FENÓLICOS EM AMOSTRAS DE ERVA-MATE

CRISTIANE VIEIRA HELM<sup>1\*</sup>; HENRIQUE ZAVATTIERI RUIZ<sup>2</sup>; AMANDA COELHO DE MIRANDA<sup>3</sup>;  
IVAR WENDLING<sup>4</sup>; MARCUS VINICIUS DE LIZ<sup>5</sup>

<sup>4</sup> Pesquisador da EMBRAPA Florestas – [cristiane.helm@embrapa.br](mailto:cristiane.helm@embrapa.br) – [ivar.wendling@embrapa.br](mailto:ivar.wendling@embrapa.br)

<sup>2,3</sup> Alunos de graduação de Bacharelado em Química – UTFPR – [amanda\\_acm@hotmail.com](mailto:amanda_acm@hotmail.com)

<sup>5</sup> Professor Doutor da UTFPR, – [marcusliz@utfpr.edu.br](mailto:marcusliz@utfpr.edu.br)

\* Autor correspondente

### ABSTRACT

Currently Brazil is one of the largest producers of yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hill) with most of the commercial production in plantations without genetic improvement or extraction into areas of natural occurrence. The production and accumulation of compounds of interest such as methylxanthines and phenolic compounds can vary by genetic factors as by environmental factors. This study aimed to quantify the levels of caffeine and theobromine by high-performance liquid chromatography and total phenolic, Folin Ciocalteu method, in extracts prepared by the infusion of dried and crushed leaves in boiling water from the 52 yerba mate progenies, 49 coming from Ivaí / PR and 3 grown at Embrapa Forests. The maximum level of caffeine found 2.39 g/100 g of dry leaf, theobromine 1.56 g/100 g and phenolic compounds 13.38 g/100g. In 4 samples evaluated the concentration of the methylxanthine theobromine was below the limit of quantification, the minimum content of caffeine was found to be 0.01 g/100g and a minimum amount of phenolic compounds was 6.65 g/100g.

**Keywords:** *Ilex paraguariensis*, Caffeine and Theobromine, polyphenols.

### 1 INTRODUÇÃO

A erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hill) pertence à família Aquifoliaceae e cerca de 450 espécies do mesmo gênero são conhecidas em regiões tropicais. Cultivada na América do Sul a erva-mate apresenta benefícios para a saúde humana, devido à presença de polifenóis, saponinas, minerais, vitaminas, flavonoides, aminoácidos e metilxantinas. As metilxantinas presentes em maior quantidade são cafeína e teobromina (MAZUR et al., 2014).

Devido a sua composição, a erva-mate pode ser utilizada em indústrias de cosméticos, farmacêuticas e alimentícias). Os benefícios relacionados ao consumo de erva-mate foram largamente estudados, sendo os principais: combate de radicais livres, efeito estimulante, terapêutico, diurético, antirreumático, laxante, auxílio na digestão, perda de peso, tratamento de diabetes, antimutagênica e hipoglicêmica, além de estudos comprovando a redução da taxa de lipídeos em ratos e humanos e aumento na densidade óssea em mulheres que já passaram pela menopausa.

Sabe-se que as condições de cultivo e processamento podem afetar significativamente a produção e a concentração de compostos presentes na erva-mate, relacionados diretamente com a qualidade do produto. A qualidade genética e fisiológica de sementes utilizadas em plantios de erva-mate pode ser aprimorada com estudos de melhoramento genético, propiciando um maior valor agregado para o produto final). O teor de metilxantinas, principalmente a cafeína, é responsável por agregar valor aos produtos de

erva-mate. Um alto teor de compostos fenólicos também pode ser explorado comercialmente devido suas propriedades antioxidantes. O objetivo desse estudo foi quantificar em amostras de folhas de erva-mate os teores de cafeína, teobromina e compostos fenólicos totais visando a seleção de fenótipos com teores diferenciados desses compostos.

## 2 METODOLOGIA

### 2.1 COLETA DE AMOSTRAS

As amostras de folhas jovens e adultas de erva-mate, referentes a 49 árvores, foram coletadas em julho de 2015 no município de Ivaí/PR (Figura 1) e na Embrapa Florestas foram coletadas amostras de 3 árvores..

**Figura 1. Progênes cultivadas no município de Ivaí (A); Folhas de *Ilex paraguariensis* (B)**



Fonte: O autor.

### 2.2 PREPARO DE AMOSTRAS

A secagem das folhas foi realizada em um forno micro-ondas. As amostras foram trituradas em um liquidificador de bancada (Figura 2) e tiveram sua granulometria controlada por peneira, sendo posteriormente armazenadas em freezer à temperatura  $-18^{\circ}\text{C}$ .

**Figura 2. Liquidificador utilizado na moagem de amostras de folhas previamente secas em micro-ondas**



Fonte: O autor.

## 2.3 PREPARO DOS EXTRATOS

Em tubos Falcon contendo 0,1 gramas de amostra foram adicionados 25 mL de água ultrapura previamente aquecida (95,0 °C). A partir destes extratos, foram realizadas análises para quantificação de cafeína, teobromina e fenólicos totais.

## 2.4 TEORES DE CAFÉINA E TEOBROMINA

Os extratos obtidos foram filtrados em membranas de nylon 0,45 µm e armazenados em vial âmbar para análise cromatográfica.

As análises de cafeína e teobromina foram realizadas por HPLC equipado com injetor automatizado e detector UV-DAD (280nm), adaptado de método da literatura (CASTRO; MELLO 2002). Os compostos foram separados em coluna C18 (DIONEX, Acclaim 120 Å, 3 µm, 2.1 x 150 mm) com pré-coluna C18 (DIONEX, Acclaim 120 Å, 5 µm, 2 x 10 mm). O fluxo utilizado foi de 0,300 mL min<sup>-1</sup>, e o volume injetado foi de 10 µL de extrato aquoso. A fase móvel foi constituída de acetonitrila grau CLAE (Fase A) e solução aquosa contendo ácido acético 0,5 % grau CLAE (Fase B), operado em eluição gradiente.

## 2.5 TEOR DE COMPOSTOS FENÓLICOS

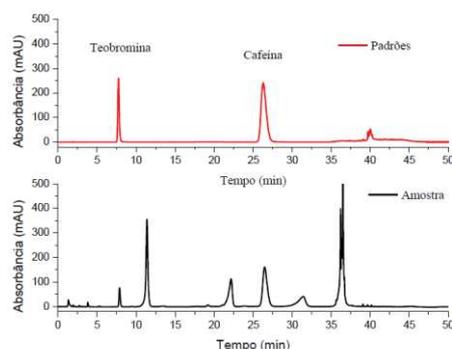
O teor de compostos fenólicos totais foi determinado por espectrofotometria e uma curva de calibração com padrão de ácido gálico foi utilizada para reação com Folin Ciocalteu®.

As leituras foram realizadas em espectrofotômetro UV-vis a 760 nm, adaptado de HORŽIĆ et al. (2009).

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Foram identificados os picos de teobromina (tR = 7,8 minutos) e cafeína (tR = 26,2 minutos) (Figura 3). Comparou-se o tempo de retenção e fortificação de extratos aquosos com padrão de metilxantinas. Uma comparação entre os teores de metilxantinas avaliadas em folhas jovens e maduras pode ser visualizada na Tabela 1. A metilxantina teobromina não foi detectada em 4 amostras avaliadas e a quantidade máxima encontrada foi de 1,56 g/100g. Já a cafeína apresentou valores variando entre 0,01 g/100g e 2,39 g/100g.

**Figura 3. Cromatogramas resultantes da injeção de padrões de metilxantinas e extrato aquoso de erva-mate.**



Fonte: O autor.

**Tabela 1. Comparação entre os teores de metilxantinas avaliadas em folhas jovens e maduras.**

AMOSTRAS EMBRAPA	CAFEÍNA (g/100g)		TEOBROMINA (g/100g)	
	Folha Jovem	Folha Madura	Folha Jovem	Folha Madura
<b>A</b>	1,05	1,51	0,31	0,18
<b>B</b>	1,21	1,65	0,76	0,39
<b>C</b>	1,27	0,44	0,81	0,81

Fonte: O autor.

O valor máximo encontrado de compostos fenólicos totais foi de 13,38 g/100g, enquanto o mínimo foi de 6,65 g/100g, comprovando a grande variação entre plantas da mesma espécie e área de plantio. A quantidade média obtida de compostos fenólicos totais, foi de 8,76 g/100g. Na Tabela podem ser vista uma comparação entre os teores de compostos fenólicos totais avaliados em folhas jovens e maduras.

Os valores obtidos são similares com a quantificação feita por outros autores: 14,32 g/100g equivalente em ácido gálico em extrato aquoso com água fervente (DELADINO et al., 2013); amostras de erva-mate do Estado do Paraná apresentaram valores entre 7,91 g/100g e 9,59 g/100g em extratos aquosos (CARDOZO JUNIOR et al., 2007); 9,71% equivalente em ácido gálico, porém com extração utilizando 70% de etanol (HOLOWATY et al., 2015) e amostras de 3 regiões de Curitiba os teores variaram de 3,70% até 13,31% sendo extraídos com etanol 50% (FRIZON et al., 2015).

**Tabela 2. Comparação entre os teores de compostos fenólicos totais avaliados em folhas jovens e maduras.**

AMOSTRAS EMBRAPA	COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS (g/100g)	
	Folha Jovem	Folha Madura
<b>A</b>	10,93	9,02
<b>B</b>	12,48	6,65
<b>C</b>	13,38	8,43

Fonte: O autor.

A temperatura da água utilizada e o tempo de contato para extrair compostos fenólicos totais influencia na quantidade total extraída destes compostos, contudo alguns autores afirmam que temperaturas mais próximas à fervura apresentam uma melhor eficácia na extração (HORŽIĆ et al., 2009; SILVEIRA, et al., 2015).

A comparação entre os teores de compostos fenólicos totais de folhas jovens e maduras (Tabela 2) indicou que as folhas maduras apresentaram uma quantidade menor destes compostos

## 4 CONCLUSÕES

A metodologia cromatográfica utilizada permitiu a separação dos compostos cafeína e teobromina em amostras de extratos aquosos de *I. paraguariensis*, e quantificação nas progênies avaliadas.

Em relação a metilxantina teobromina, em 4 amostras este valor pode ter ficado abaixo do valor de limite de detecção. Nas amostras em que ela foi quantificada a quantidade máxima encontrada foi de 1,56 g/100g. Para a cafeína todas as amostras apresentaram o analito, sendo o valor máximo quantificado de 2,39 g/100g. Os teores de compostos fenólicos totais apresentaram grande variação, sendo o mínimo observado de 6,65 g/100g e o máximo de 13,38 g/100g. Com os resultados obtidos até o momento onze progênies foram selecionadas por apresentarem teores superiores a 1,5 g/100g e serão avaliadas em experimentos futuros de melhoramento genético.

## AGRADECIMENTOS

A UTFPR, seu corpo docente e a Embrapa Florestas e toda sua equipe pela atenção e disponibilidade em prestar apoio necessário para o bom andamento do trabalho.

## REFERÊNCIAS

CARDOZO JUNIOR, E. L. et al. Methylxanthines and phenolic compounds in mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) progenies grown in Brazil. **Journal of Food Composition and Analysis**, 20, 553-558, 2007.

CASTRO, I. M.; e MELLO, J. S. R. Determinação de Metilxantinas em Alimentos por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência. Empresa Brasileira de Agricultura e Pecuária – **EMBRAPA - Comunicado Técnico 55**, 2002.

DELADINO, L. et al. Major Phenolics in Yerba Mate Extracts (*Ilex paraguariensis*) and Their Contribution to the Total Antioxidant Capacity. **Food and Nutrition Sciences**, 4, 154-162, 2013.

FRIZON, C. N. T. et al. Determination of total phenolic compounds in yerba mate (*Ilex paraguariensis*) combining near infrared spectroscopy (NIR) and multivariate analysis. **Journal LWT – Food Science and Technology**, 60, 795-801, 2015.

HOLLOWATY, S. et al. Yerba Maté (*Ilex paraguariensis* ST. Hil.): Chemical and physical changes under different aging conditions. **Journal of Food Process Engineering**, 1-12, 2015.

HORŽIĆ, D. et al. The composition of polyphenols and methylxanthines in teas and herbal infusions. **Journal Food Chemistry**, 115, 441-448, 2009.

MAZUR, L. et al. Application of multivariate calibration and NIR spectroscopy for the quantification of methylxanthines in yerba mate (*Ilex paraguariensis*). **Journal of food composition and analysis**, 35, 55-60, 2014.

SILVEIRA, T. et al. Phenolic compounds from yerba mate based beverages – A multivariate optimisation. **Journal of Food Chemistry**, 190, 1150-1167, 2015.