

OS COMPOSTOS BIOATIVOS DA ERVA-MATE SÃO INFLUENCIADOS PELA ADUBAÇÃO NITROGENADA?

Vinicius Charnecki Galvão^{1*}, Volnei Pauletti², Ivar Wendling³, Marcia Toffani Simão Soares⁴

¹ Engenheiro Agrônomo, Mestrando em Ciência do Solo, Universidade Federal do Paraná - UFPR. * vinicius_charneck@hotmail.com;

² Engenheiro Agrônomo, Doutor em Agronomia, Universidade Federal do Paraná – UFPR; ³ Engenheiro Florestal, Doutor em Ciências Florestais, Embrapa Florestas; ⁴ Engenheira Agrônoma, Doutora em Agronomia, Embrapa Florestas.

RESUMO

Os compostos bioativos são amplamente utilizados na indústria farmacêutica. Na erva-mate ainda existem dúvidas se estes compostos são influenciados pela adubação nitrogenada. Desse modo, o objetivo deste trabalho foi avaliar o impacto da adubação nitrogenada nos principais compostos de interesse na erva-mate. Para isso foram utilizadas folhas e galhos finos provenientes de um experimento implantado em 2018 em General Carneiro – PR. Foi utilizado um delineamento experimental de blocos ao acaso, com tratamentos distribuídos em parcelas subdivididas. Foram aplicadas cinco doses anuais de nitrogênio (N) (0, 20, 40, 60 e 80 g de N planta⁻¹ ano⁻¹) em dois clones de erva-mate Yari e Aupaba. Os teores dos compostos bioativos não foram afetados pelo fornecimento de N nos dois clones, porém o clone Yari apresentou maior concentração de teobromina (7,05 mg g⁻¹) quando comparado ao Aupaba (2,57 mg g⁻¹). Por outro lado, o clone Yari apresentou menor teor de cafeína (5,60 mg g⁻¹) quando comparado ao Aupaba (16,42 mg g⁻¹).

PALAVRAS-CHAVE: *Ilex paraguariensis*; cafeína; teobromina; nitrogênio.

INTRODUÇÃO

A erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St-Hil) é uma planta nativa da região sul do continente americano, sendo uma das culturas com maior importância nos sistemas agroflorestais do sul do Brasil, podendo ser explorada de forma natural, monocultivo, em consórcio ou intercalada (Dedecek e Rodigheri, 1999). O produto colhido é constituído principalmente por folhas e galhos finos (Reismann *et al.*, 1985). O consumo da erva mate se dá principalmente na forma de chimarrão e chá.

Os compostos bioativos são originados a partir do metabolismo secundário das plantas, que não apresentam essencialidade na sobrevivência das espécies vegetais, mas auxiliam na defesa contra patógenos e estresses, podendo também auxiliar na polinização e dispersão de sementes (Silva, 2012). Não possuem papel direto nos processos de fotossíntese, respiração, transporte e síntese de proteínas (Taiz; Zeiger, 2013) e são sinalizados em respostas à estímulos externos. Os metabólitos secundários podem ser divididos em três grupos: terpenos, compostos fenólicos e alcalóides (Verma, Shukla, 2015).

Os principais compostos fenólicos presentes na erva-mate são os ácidos cafeoilquínicos (monocafeoilquínicos e dicafeoilquínicos), formados a partir da esterificação entre o ácido quínico e o ácido cafeico (Wozniak *et al.*, 2020). Já os principais alcalóides são as metilxantinas, que englobam a cafeína e a teobromina (Ashihara; Crozier, 1999; Yin; Katahira; Ashirara, 2015).

Segundo Dartora *et al.* (2011), plantas cultivadas com maior incidência solar apresentaram uma porcentagem maior de compostos fenólicos e maior potencial produtivo de antioxidantes, quando comparadas as cultivadas na sombra. A adubação também exerce influência, visto que além de estimular o crescimento pode influenciar nos metabólitos secundários (Yang *et al.*, 2018).

A palatabilidade das bebidas derivadas da erva-mate (chás, chimarrão, tereré) pode ser alterada por meio de variações nos teores de metilxantinas e polifenóis (Scherer *et al.*, 2002), afetando diretamente o público consumidor. Desse modo, o objetivo deste trabalho foi avaliar o impacto da adubação nitrogenada nos principais compostos bioativos da erva-mate.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado por meio de um experimento implantado em agosto de 2018, em General Carneiro – PR, onde no momento da colheita as plantas estavam com 6 anos. O experimento está localizado nas seguintes coordenadas: -26°25'57.54" S, 51° 23'27.62 O, a 1172 metros de altitude, em clima classificado como Cfb (Alvares *et al.*, 2013).

Foi utilizado um delineamento experimental de blocos ao acaso, combinando cinco doses de N aplicadas em dois clones de erva-mate, distribuídos a campo em parcelas subdivididas, com quatro repetições. O espaçamento entre linhas de plantio foi de 3m e entre plantas na linha de 1,5m, totalizando 2.222 plantas por hectare. Cada parcela foi composta por seis linhas, sendo as duas externas consideradas bordaduras e as quatro internas, duas de cada clone, as úteis. Cada linha contém cinco plantas, sendo as duas externas no início e final da linha as bordaduras.

Nas parcelas foram aplicadas doses anuais de nitrogênio (0, 20, 40, 60 e 80 g de N planta⁻¹ ano⁻¹) desde 2022, e nas sub-parcelas os dois clones de erva-mate (BRS BLD Yari e BRS BLD Aupaba). A fonte de N utilizada foi a ureia, contendo 45% de N. As adubações anuais foram realizadas em superfície, na projeção da copa, com as doses divididas e aplicadas em janeiro e agosto.

Na colheita realizada no ano de 2024, foram coletadas amostras e na sequência foram levadas ao laboratório para serem secas em microondas, com períodos de 1 minuto e 30 segundos, sendo constantemente revolvidas para evitar processos de queima e oxidação, em potência máxima. Posteriormente foram moídas em moedor de café (Cadence®), após isso, 25 mg de amostra foram pesadas e diluídas com 2 mL de água MilliQ (água ultrapura). O material foi aquecido em banho maria por 30 minutos à 100°C, agitados manualmente a cada 10 minutos. Posteriormente, os extratos aquosos foram filtrados em um filtro de 0,22 µm e transferidos para balões volumétricos de 50 mL, que foram utilizados para determinar os compostos fenólicos totais, metilxantinas e ácidos cafeoilquínicos (medidos por HPLC-UV).

Para as análises cromatográficas, foi utilizado um cromatógrafo líquido Shimadzu® (UFLC), controlado pelo software de solução LC e equipado com injetor automático e detector UV (SPD-20A). A separação dos compostos foi realizada usando a coluna Shim-Pack CLC-ODS (M) C18 (250 x 4,6 mm i.d., tamanho de partícula de 5 µm), protegida pela pré-coluna Shim-Pack CLC G-ODS (100 x 4,0 mm id) ambas da Shimadzu (Kyoto, Japão). A separação dos compostos no extrato aquoso (20 µL de injeção) foi conduzida a 30 °C usando um fluxo de 0,5 mL min⁻¹. As fases móveis consistiram em uma eluição gradiente de água com ácido acético DinâmicaR (99,9:0,1, v v⁻¹) (solvente A) e acetonitrila Merck® 100 % (solvente B).

A detecção do composto foi realizada no comprimento de onda fixo de 280 nm. O programa de eluição de gradiente foi: 0-15 min (3-3 % B), 15-20 min (3-20 % B), 20-40 min (20-20 % B), 40-45 min (20-30 % B), 45-55 min (30-100 % B), 55-75 (100-100 % B), 75-80 (100-3 % B) e 80-95 (3-3 % B).

A identificação e quantificação das metilxantinas: 1,3,7-trimetilxantina (cafeína) e 3,7-dimetilxantina (teobromina) foi realizada por meio de uma curva analítica dos padrões de cafeína e teobromina Sigma® na faixa de 0 a 1,0 mg mL⁻¹ e 0 a 0,5 mg mL⁻¹ respectivamente. A identificação dos ácidos cafeoilquínicos (ácido 3-cafeoilquínico (3-CQA), ácido 4-cafeoilquínico (4-CQA), ácido 5-cafeoilquínico (5-CQA) pelos padrões Sigma® e a semi-quantificação foi realizada por uma curva analítica na faixa de 0 a 10 mg mL⁻¹ do 3-CQA Sigma®. Os resultados foram expressos como mg de compostos por g de amostra (mg g⁻¹) em base seca.

Os dados obtidos foram testados quanto à normalidade por meio do teste de Shapiro Wilk e posteriormente analisados por regressão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas condições avaliadas, a adubação nitrogenada não alterou o teor de compostos bioativos na erva-mate (Tabela 1). Quanto à diferença da composição entre clones, o clone Yari ocorreu maior teor de teobromina (7,05 mg g⁻¹) quando comparado ao Aupaba (2,57 mg g⁻¹). O clone Aupaba apresentou maior teor

de cafeína (16,42 mg g⁻¹) quando comparado ao Yari (5,60 mg g⁻¹). Para os demais compostos não houve variações entre os clones.

Tabela 1. Quantificação de compostos bioativos para os clones de erva-mate Yari e Aupaba

CLONE	COMPOSTO BIOATIVO							
	Teobromina	Cafeína	3 cafeoilquinico	4 cafeoilquinico	5 cafeoilquinico	3,4 dicafeoilquinico	3,5 dicafeoilquinico	4,5 dicafeoilquinico
mg g ⁻¹								
Yari	7,05a	5,60b	50,49a	52,30a	86,82a	18,38a	51,90a	27,10a
Aupaba	2,57b	16,42a	61,69a	52,14a	96,02a	18,54a	65,21a	28,38a

*Letras iguais na coluna não diferem entre si - Anova 5%. Fonte: O autor (2024).

A não variação dos teores dos compostos bioativos com incremento de adubação nitrogenada diferem dos valores encontrados por Tomasi *et al.* (2024) em seus estudos com clones EC22 e EC40. Esses autores observaram incremento dos compostos mediante aumento de N em ambiente protegido. Essa diferença pode ser justificada pela variação genética entre os clones e pelo ambiente de produção utilizado, uma vez que os clones EC22 e EC40 são produzidos via sistema CEVAD estufas, com grande aptidão para a produção de compostos bioativos, com fornecimento adequado de água e nutrientes (Aguiar *et al.*, 2023). Aguiar *et al.* (2024) observaram em seus experimentos que os teores de cafeína tendem a reduzir somente com o aumento do sombreamento no erval.

CONCLUSÃO

A concentração de compostos bioativos varia entre clones, mas não é influenciada pela adubação nitrogenada.

AGRADECIMENTOS

Ao proprietário Márcio Olsen Pizzato (Fazenda Água Viva), pela concessão das áreas para instalação e manutenção dos experimentos e à Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP), pelo fomento do projeto “Cadeira Produtiva da Erva-Mate: erva-mate descafeinada e cafeína natural” (Chamada Pública MCTI/FINEP/FNDCT/CT-AGRO, Programa Cadeias Produtivas da Bioeconomia MCTI Fomento à ICT – 01/2022).

BIBLIOGRAFIA

- AGUIAR, N.S.; GABIRA, M.M.; DUARTE, M.M.; TOMASI, J.C.; HANSEL, F.A.; LAVORANTI, O.J.; DESCHAMPS, C.; HELM, C.V.; WENDLING, I. How shading levels affect bioactive compounds in leaves of yerba mate clones. *Biochemical Systematics and Ecology*, volume 113, Abril/2024. DOI: 104796.
- AGUIAR, N. S.; TOMASI, J. C.; VIEIRA, L. L.; DUARTE, M. M.; GABIRA, M. M.; WENDLING, I. CEVAD estufa: cultivo de erva-mate em alta densidade em estufa. *Comunicado Técnico 485 – Embrapa Florestas*, 2023.
- ALVARES, C. A.; STAPE, J. L., SENTELHAS, P., C.; DE MORAES, G.; LEONARDO, J.; SPAROVEK, G. Koppen's Climate Classification Map for Brazil. *Meteorologische Zeitschrift*, 22 (6), 711-728, 2013.
- ASHIHARA, H.; CROZIER, A. Biosynthesis and metabolism of caffeine and related purine alkaloids in plants. *Advances in Botanical Research*, v. 30, p. 117-205, 1999.



- DARTORA, N.; DE SOUZA, L. M.; SANTANA-FILHO, A. P.; IACOMINI, M.; VALDUGA, A. T.; GORIN, P. a. J.; SASSAKI, G. L. UPLC-PDA-MS evaluation of bioactive compounds from leaves of *Ilex paraguariensis* with different growth conditions, treatments and ageing. *Food Chemistry*, v. 129, n. 4, p. 1453–1461, dez. 2011.
- DEDECEK, R. A.; RODIGHERI, H. R. Sistemas de preparo do solo em cultivos anuais intercalados em erva-mate. *Boletim de Pesquisa Florestal, Colombo*, n. 38, p. 77-88, jan./jun. 1999.
- REISSMANN, C.B.; KOEHLER, C.W.; ROCHA, H.O.; HILDEBRAND, E.E. Avaliação das exportações de macronutrientes pela exploração da erva-mate. In: X SEMINÁRIO SOBRE ATUALIDADES E PERSPECTIVAS FLORESTAIS: Silvicultura da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.), 1985, Curitiba. Anais..., Curitiba: 1985, p. 128-139.
- SCHERER, R.; URFER, P.; MAYOL, 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*, [S. l.], v. 126, n. 2, p. 203–210, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1023/A:1016375012471>
- SILVA, C. H. B. da. Influência da idade das folhas e da luminosidade nos teores de metilxantinas, ácido clorogênico, fenólicos totais e na atividade de captação de radicais livres de extratos aquosos de *Ilex paraguariensis* A. St. Hilaire. 2012. 92p. Dissertação (Mestrado em Farmácia) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2012.
- TOMASI, J.C.; AGUIAR, N.S.; DUARTE, M.M.; GABIRA, M.M.; VIEIRA, L.M.; PAULETTI, V.; FRANCISCON, L.; HELM, C.V.; DESCHAMPS, C.; WENDLING, I. Bioactive compound production in Yerba Mate clones with increasing nitrogen in semi-hydroponic system. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. Agosto, 2024. Volume 24. DOI: 10.1007/S42729-024-01953-0.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Plant Physiology*, Sunderland: Sinauer Associates Inc, 2013.
- VERMA, N.; SHUKLA, S. Impact of various factors responsible for fluctuation in plant secondary metabolites. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, v. 2, n. 4, p. 105–113, 2015.
- WOŹNIAK, D.; NAWROT-HADZIK, I.; KOZŁOWSKA, W.; ŚLUSARCZYK, S.; MATKOWSKI, A. Caffeoylquinic acids. *Handbook of Dietary Phytochemicals*, in *Handbook of dietary phytochemicals*, p. 1–40, 2020.
- YANG, L.; KUI-SHAN, W.; XIAO, R.; YING-XIAN, Z.; WEI, F.; WANG, Q. Response of plant secondary metabolites to environmental factors. *Molecules*, MDPI – Molecules, 2018.
- YIN, Y.; KATAHIRA, R.; ASHIHARA, H. Metabolism of purine alkaloids and xanthine in leaves of mate (*Ilex paraguariensis*). *Natural Product Communications*, v.10, n.5, p. 707-712, 2015.