

Classificação de amostras de erva-mate de acordo com o seu envelhecimento por microextração em fase sólida (MEFS)

Hiram da Costa Araujo Filho

Instituto Federal de Educação do Rio de Janeiro

e-mail: hiramcaf@gmail.com

O chá da erva-mate, ou simplesmente mate, é uma bebida tradicionalmente consumida em diversos países da América do Sul. O mate é preparado por extração de folhas e ramos secos de *Ilex paraguariensis* St. Hil. (Aquifoliaceae) com água fria ou quente, denominadas respectivamente tereré e chimarrão ou na forma de chá-mate a partir do produto tostado. A erva-mate tem propriedades terapêuticas importantes, como ação inibidora dos radicais livres (ligados a processos degenerativos como o câncer e o envelhecimento), principalmente devido ao conteúdo de polifenóis. Além da erva para chimarrão, a erva-mate é comercializada também na sua forma tostada e tem ampla aceitação em todo o território nacional, sendo um produto genuinamente brasileiro. Atualmente é apresentado ao mercado consumidor nas mais variadas e sofisticadas formas: a tradicional embalagem contendo as folhas trituradas e soltas; o mate em saquinhos contendo doses individuais ("tea bags"); o mate concentrado na forma líquida; o mate solúvel; e embalagens contendo chá mate tostado pronto para o consumo, puro ou misturado com outros chás (Figura 1).

Os Estados da região Sul do Brasil são os maiores produtores e consumidores da erva-mate cancheada para chimarrão. O maior produtor é o Estado do Paraná por causa da existência de florestas com araucária ou pinheiro, que por sua vez é o habitat natural da erva-mate. O Estado do Rio Grande do Sul é tradicionalmente o principal consumidor de chimarrão e ultimamente tem aumentado a sua produção a partir de ervais cultivados. A erva mate tostada em forma de chá, possui grande potencial de penetração nos estados mais quentes do

país. A região Sudeste é a maior consumidora de chá mate industrializado do Paraná, absorvendo em média mais de 60% do total da produção exportada para outros estados. O consumo de mate tostado é significativamente maior no Estado do Rio de Janeiro, onde nasceu o hábito de consumir chá-mate gelado puro ou misturado com suco de limão nas praias cariocas. Em outros estados observa-se um crescente aumento no consumo de mate tostado. Essa tendência de aumento de consumo da erva-mate é também observada em outros países como Chile, Síria, Alemanha, Japão e Estados Unidos.

Diante deste quadro, a caracterização química e, por conseguinte, a identificação dos fatores ambientais, a tecnologia de cultivo empregada e as condições de processamento de seus produtos e derivados vêm assumindo importância crescente. O estabelecimento de novas técnicas de controle da qualidade e desenvolvimento de novos produtos foram os principais

Figura 1 - Formas de consumo da erva-mate



temas abordados no 5º Congresso Sul-Americano da Erva Mate, ocorrido nos dias 05 e 06 de maio de 2011, em Posadas, Argentina. Apesar dos diversos estudos realizados sobre a composição química da erva-mate, poucos trabalhos referem-se à análise da constituição química do aroma. Neste ponto cabe salientar que fatores naturais e os sistemas de processamento do mate interferem diretamente nas características físico-químicas da erva-mate, e conseqüentemente, são fatores importantes que determinam a qualidade do produto e suas características organolépticas, em relação aos atributos da qualidade: cor, sabor e aroma.

A Microextração em Fase Sólida (MEFS) com amostragem no “headspace” é uma técnica usada na preparação de amostras para a análise cromatográfica. Essa técnica requer pequenas quantidades de amostras, não usa solventes orgânicos, é facilmente acoplada à cromatografos e outros equipamentos analíticos. Além disso é uma técnica simples, rápida e prática. Para executar basta colocar a amostra num frasco vedado e expor a seringa com uma cobertura polimerica no ambiente interno do frasco (headspace), durante um certo tempo e sob determinadas condições de temperatura. A MEFS acoplada à Cromatografia Gasosa de Alta Resolução (MEFS-CGAR) pode ser usada na análise do aroma da erva-mate. Essa análise é feita em duas etapas (Figura 2):

Figura 2 – Representação da técnica MEFS-CGAR: etapas de amostragem e análise cromatografica

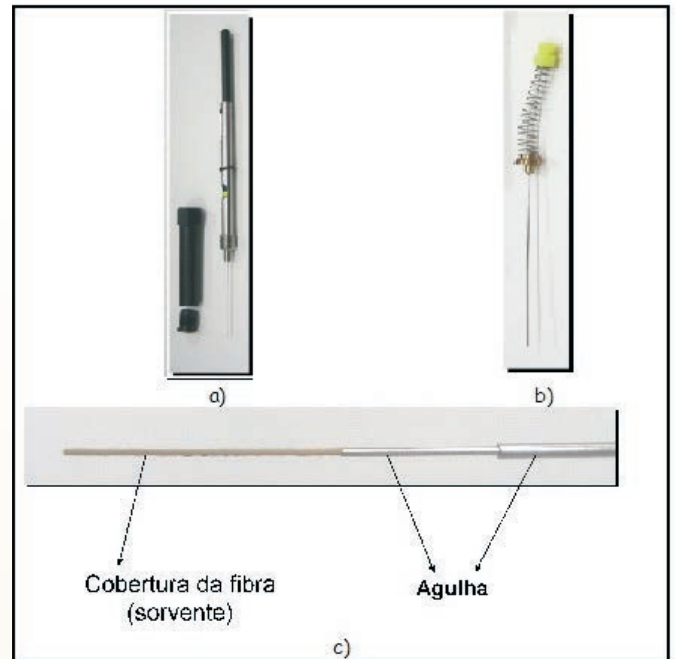
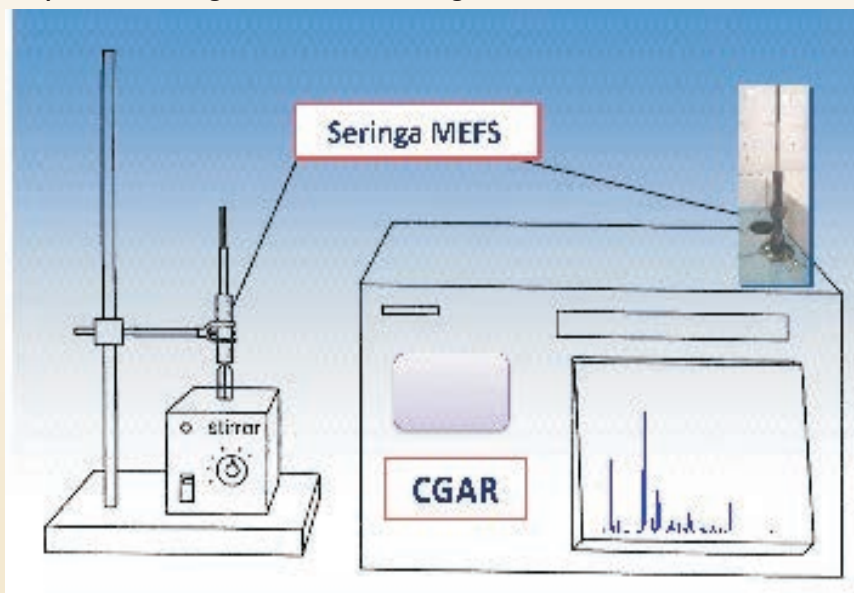


Figura 3 – Equipamento usado em MEFS:
a) seringa, b) dispositivo com agulha e fibra retrátil;
c) Detalhe da agulha retrátil e fibra com cobertura polimérica

1 – Captura dos analitos voláteis e semi-voláteis com uma seringa especialmente adaptada com uma fibra contendo uma cobertura polimérica.

2 – Análise cromatografica obtida a partir da transferência das substâncias capturadas na fibra, através do sistema de injeção do cromatógrafo a gás.

O equipamento básico da MEFS consiste de um bastão de fibra ótica, de sílica fundida de aproximadamente 10 mm de diâmetro, conectado a um tubo de aço inoxidável que pode ser retraído para dentro da agulha de uma seringa (Figura 3).

A fibra é recoberta com um filme fino de um líquido polimérico ou de um sólido adsorvente disperso em um líquido polimérico. Ao findar o tempo de extração, a fibra é novamente retraída, a agulha é retirada do septo e levada para o injetor do cromatógrafo. Com a fibra retraída o septo do injetor é perfurado, e só então a fibra é exposta ao fluxo do gás no injetor.

Após a dessorção, a fibra é retraída, a agulha retirada e transferida para a porta do injetor do cromatógrafo (Figura 2).

Tabela 1 - Lista de 24 componentes do aroma da erva-mate cancheada de cordo com o cromatograma obtido por MEFS-CGAR (Figura 4) e seus respectivos índices de retenção (*I*) e tempos de retenção (*t_R*)

Nº	ANALITO	I OBS	T _R (MIN)
1	Ácido acético	596	2,88
2	1-penten-3-ol	676	3,66
3	1-penten-3-ona	682	3,73
4	pentanal	699	3,91
5	(<i>E</i>)-2-pentenal	753	5,25
6	hexanal	802	6,71
7	(<i>E</i>)-2-hexenal	855	9,00
8	6-metil-5-hepten-2-ona	989	16,92
9	(<i>E,Z</i>)-2,4-heptadienal	998	17,48
10	(<i>E,E</i>)-2,4-heptadienal	1014	18,37
11	(<i>E,E</i>)-3,5-octadien-2-ona	1092	24,04
12	linalol	1098	24,53
13	dodecano	1200	31,31
14	decanal	1206	31,69
15	<i>E</i> -ciclocitral	1217	32,41
16	3-etil-4-metil-2,5-diona-(1H)-pirrol	1238	33,77
17	1 ou 2 metilnaftaleno	1280	36,42
18	D-copaeno	1370	42,25
19	D-ionona	1424	45,55
20	geranilacetona	1454	47,24
21	<i>E</i> -ionona	1485	49,02
22	diidroactinidilido	1519	51,18
23	cafeína	1830	67,70
24	6,10,14-trimetil-2-pentadecanona	1846	68,14

A fibra usada nesta investigação continha uma camada de 50/30 m de divinilbenzeno/carboxen/polidimetilsiloxano (DVB-CAR-PDMS), e foi condicionada previamente antes da análise, segundo as recomendações do fabricante (Supelco Inc. Bellefonte, USA). A amostra de erva mate para chimarrão foi pesada (300 mg), colocada em frasco com capacidade de 4 mL vedado com septo de silicone/PTFE (Ø 11 mm) e aquecida a 80°C. Em seguida, a fibra com cobertura polimérica foi colocada em contato com a atmosfera do frasco ("headspace") durante 50 min e após esse tempo foi

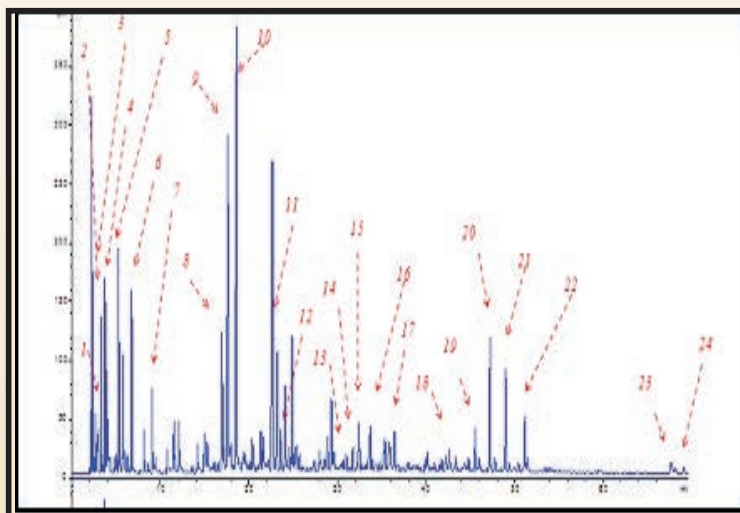
transferida para o injetor do cromatógrafo. As análises cromatográficas foram realizadas em cromatógrafo HP 6890 com detector de ionização por chama, coluna HP-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 m) e He como gás de arraste com fluxo 1 mL/min. A temperatura da coluna foi de 40°C durante 4 min, seguida de programação de 2°C/min até 200°C com 2 min adicionais, totalizando 86 min de corrida. Os fornos do injetor e do detector foram ajustados em 270°C e em 280°C, respectivamente [4].

O perfil cromatográfico típico do aroma da erva-mate está ilustrado na Figura 4 e as substâncias selecionadas estão apresentadas na Tabela 01.

Um exemplo de aplicação dessa técnica no controle da qualidade da erva-mate é a discriminação e classificação de amostras a partir do perfil cromatográfico. O cromatograma resultante contém centenas de sinais que trazem consigo valiosas informações. Para tratar os dados obtidos e verificar a similaridade das amostras foi utilizada a Análise de Componentes Principais (ACP). ACP é uma ferramenta quimiométrica que consiste numa redução de dimensões da matriz de dados original, permitindo visualizar facilmente as informações, a fim de descobrir em que medida uma amostra é diferente da outra e quais são as variáveis mais importantes.

Um exemplo de aplicação dessa técnica no controle da qualidade da erva-mate é a discriminação e

Figura 4 – Cromatograma típico da Erva-mate para chimarrão [4] obtido a partir da técnica MEFS-CGAR. Relação dos analitos na Tabela 1



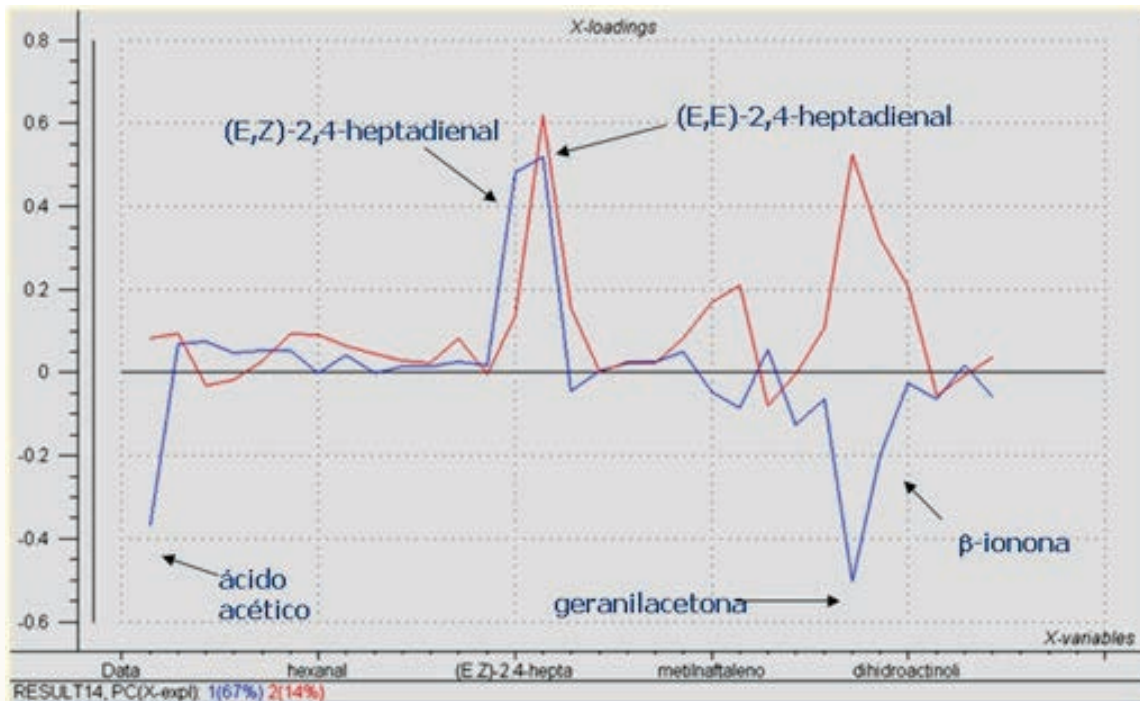


Figura 5 – Gráfico de “loading”. Em destaque as variáveis principais

classificação de amostras a partir do perfil cromatográfico. O cromatograma resultante contém centenas de sinais que trazem consigo valiosas informações. Para tratar os dados obtidos e verificar a similaridade das amostras foi utilizada a Análise de Componentes Principais (ACP). ACP é uma ferramenta quimiométrica que consiste numa redução de dimensões da matriz de dados original, permitindo visualizar facilmente as informações, a fim de descobrir em que medida uma amostra é diferente da outra e quais são as variáveis mais importantes.

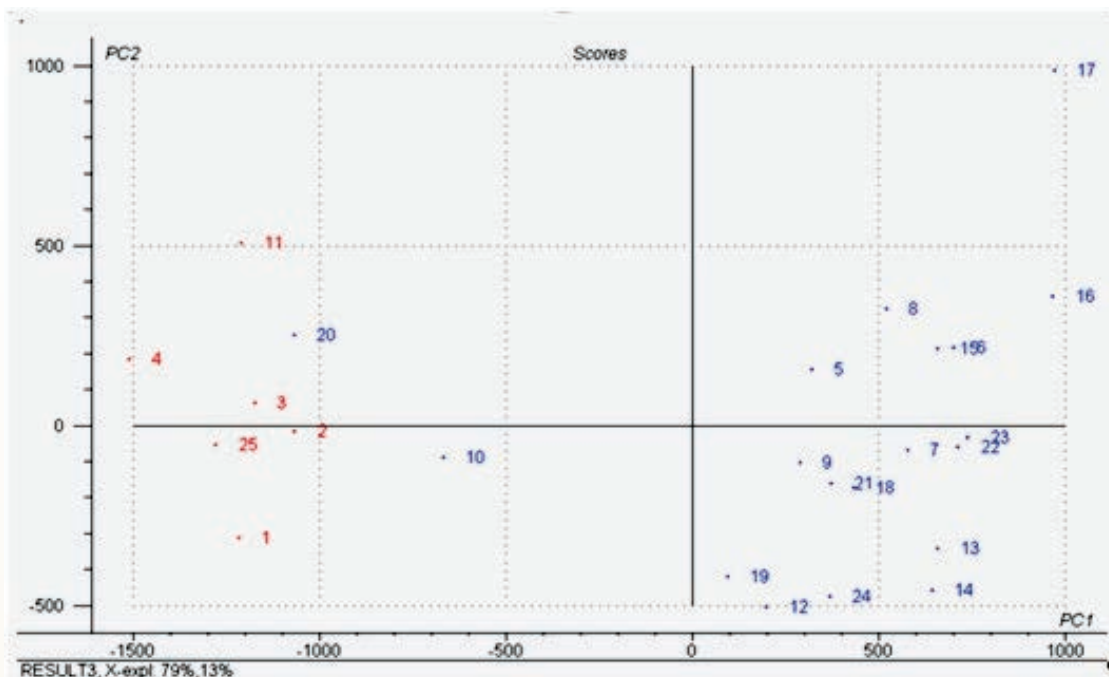
Foram analisadas 25 amostras de erva-mate obtidas no comércio local (Rio de Janeiro), sendo que 17 delas eram originárias dos Estados do Rio Grande do Sul e do Paraná e 4 provinham da Argentina. Outras 4 amostras de procedência nacional foram envelhecidas por 3 anos em suas embalagens originais. Todas as vinte e cinco amostras foram analisadas nas mesmas condições. A partir dos cromatogramas foram selecionados 24 sinais, associados por sua vez aos analitos, englobando uma variedade de componentes representativos do aroma da erva-mate (Tabela 1). Os critérios usados para a escolha dos analitos foram a sensibilidade e a resolução cromatográfica. Os valores das áreas dos sinais, centradas na média, foram usadas como variáveis. Os dados

cromatográficos foram transferidos para uma planilha eletrônica onde uma matriz de dados de 25 linhas (amostras de mate) e 24 colunas (áreas dos sinais) foi construída e processada.

A contribuição de cada variável original na componente principal é representada pelo “loading”. Na Figura 5 estão assinaladas as variáveis mais importantes com maiores valores de “loading”: ácido acético, (E,Z)-2,4-heptadienal, (E,E)-2,4-heptadienal, geranilacetona e β-ionona, que por sua vez explicam 95% da variância total do conjunto de dados. Os gráficos de escores representados na Figura 6 comparam CP 1 e CP 2. Na primeira avaliação foi possível observar a formação de dois grupos (“clusters”), um deles à correspondente às 17 amostras adquiridas recentemente no mercado local e originárias dos estados do Rio Grande do Sul e do Paraná, (amostras 5,6,7,8,9,12,13,14,15,16,17,18,19,21,22,23 e 24) e o outro grupo correspondente às 4 amostras de procedência nacional, envelhecidas por 3 anos (1,2,3 e 4) juntamente com as 4 amostras (10,11,20 e 25) que foram adquiridas recentemente, mas que eram originárias da Argentina.

A quantidade de ácido acético foi maior nas amostras mais velhas, significando que essa substância é um indicador de discriminação importante.

Figura 6 -
Gráfico de escores para amostras de erva-mate para chimarrão. Considerando as 5 principais variáveis (ácido acético, (E,Z)-2,4-heptadienal, (E,E)-2,4-heptadienal, geranilacetona e - β -ionona)



Isso está de acordo com estudos relacionados à formação de ácidos de cadeia curta no envelhecimento do café e de outros produtos correlatos [3]. Mas o ácido acético não foi o único indicador, pois essa variável ao ser retirada do conjunto de dados não modificou a discriminação observada após refazer o gráfico de escores. A degradação de aldeídos, como os isômeros do heptadienal, EE e EZ, foi nítida nas amostras envelhecidas, assim como a formação de sesquiterpenos, como o geranilacetona e β -ionona, foram igualmente importantes na discriminação das amostras. Isso demonstra que basta somente medir as áreas dos cinco analitos principais (ácido acético, (E,Z)-2,4-heptadienal, (E,E)-2,4-heptadienal, geranilacetona e β -ionona) para alcançar o resultado esperado em termos de classificação por envelhecimento da erva-mate.

Outro dado interessante mostrado pelo gráfico de escores (Figura 6) é que as 4 amostras oriundas do estado do Rio Grande do Sul, envelhecidas por 3 anos, mostraram-se similares às 4 amostras oriundas da Argentina. Essa observação é coerente com o hábito de consumo na Argentina, de amostras previamente envelhecidas, enquanto que no Brasil é mais comum o consumo de amostras recém processadas.

CONCLUSÃO

A microextração em fase sólida (MEFS) acoplada à cromatografia com fase gasosa (CGAR) e associada a

análise de componentes principais (ACP) demonstrou ser um método útil para rápida discriminação e classificação de amostras de mate baseado na comparação do perfil cromatográfico dos componentes voláteis e semivoláteis da erva-mate. Resultados satisfatórios na caracterização do envelhecimento da erva foram alcançados e por essa razão, o método descrito tem potencial para ser implantado em laboratórios para verificar o prazo de validade da erva-mate durante o período de estocagem. Dentro dessa ótica, a análise do aroma por MEFS-CGAR, a partir de estudos posteriores, poderia auxiliar na classificação das amostras em função de outros parâmetros, como o tipo de plantio e a origem da erva, a fim de, quiçá, possibilitar a criação de um selo de qualidade para a erva-mate e seus produtos comerciais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] PAWLISZYN, J. Solid Phase Microextraction. Theory and Practice, Wiley-VCH, New York, 1997.
- [2] MORGANO, M.A., QUEIROZ, S.C.N., FERREIRAN, M.M.C. Aplicação da análise exploratória da diferenciação de vegetais. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.2, p.73-79, 1999.
- [3] ROBERTS, D.D., POLLIN, P., MILO, C. Solid-Phase Microextraction method development for headspace analysis of volatile flavor compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.48, 2000.
- [4] ARAUJO, H.C.; KAPLAN, M.A.C.; LACERDA M.E.G.; BIZZO H.; LOPES, D. Studies on the aroma of mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) using headspace solid-phase microextraction. **Phytochemical Analysis**, v. 18, p.469-474, 2007.