



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E
TECNOLÓGICA INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO,
CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE SANTA CATARINA
CAMPUS JARAGUÁ DO SUL

AMANDA MACIEL COSTA
ANDREYNA FERREIRA GAMBA
JOÃO VITOR MEZOMO
RÚBIA BATISTA VIANA

**EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE CAFEÍNA EM ERVAS-MATE
(*ILEX PARAGUARIENSIS*) DE DIFERENTES CIDADES DE
SANTA CATARINA**

Relatório de Pesquisa
Conectando os Saberes
Curso Técnico em Química (modalidade: Integrado): 4ª Fase

JARAGUÁ DO SUL

2016

AMANDA MACIEL COSTA
ANDREYNA FERREIRA GAMBA
JOÃO VITOR MEZOMO
RÚBIA BATISTA VIANA

**EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE CAFEÍNA EM ERVAS-MATE
(*ILEX PARAGUARIENSIS*) DE DIFERENTES CIDADES DE
SANTA CATARINA**

Relatório de pesquisa desenvolvido no eixo formativo diversificado “Conectando os Saberes” do Curso Técnico em Química (Modalidade Integrado) do Instituto Federal Santa Catarina – Câmpus Jaraguá do Sul.
Orientador: Prof. Elder Correa Leopoldino.

JARAGUÁ DO SUL
2016

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a todos que colaboraram para tornar o desenvolvimento desta pesquisa possível.

Ao Instituto Federal de Santa Catarina - Campus Jaraguá do Sul, e todos os servidores, por nos proporcionar a realização de pesquisas neste âmbito, oportunizando o ganho de novos conhecimentos e aprendizados, que são de grande valor para as nossas vidas acadêmicas. Somos gratos pela compreensão e suporte recebidos durante os momentos de estresse.

À banca avaliadora, pelas sugestões e críticas construtivas durante a etapa inicial da pesquisa, que foram de suma importância para a execução da mesma.

Ao Instituto Federal de Santa Catarina - Campus Geraldo Werninghaus por disponibilizar o local e o equipamento para a realização das análises em infravermelho, especialmente ao prof. Jean e ao estagiário Rafael, pelo auxílio e disposição.

À coordenadora da fase, prof. Anne Cristine Rutsatz Bartz, pela organização e desenvolvimento deste ciclo de pesquisas, assim como pelo apoio e compreensão nas adversidades encontradas durante o desenvolvimento.

Aos estagiários do laboratório, Alex Vitor Pinto e Gabriel Matheus Klutckowski, pelo auxílio e apoio no decorrer das atividades laboratoriais, mas principalmente pelos laços de amizade e companheirismo que dali surgiram.

Aos professores de Química, por sempre estarem dispostos a ajudar e esclarecer dúvidas durante a execução, sendo essenciais a realização da pesquisa e para nossa formação acadêmica.

Em especial agradecemos ao nosso orientador, Prof. Elder Correa Leopoldino, pelo excelente trabalho exercido e tempo dedicado no desenvolvimento da pesquisa, estando sempre ativo em nossa pesquisa, nos incentivando e aconselhando em todos os momentos. Agradecemos a confiança que nos foi concedida e a amizade que surgiu durante o decorrer da pesquisa.

E a todos que ajudaram, de forma direta ou indireta para a execução de nossa pesquisa.

RESUMO

O uso da erva-mate (*Ilex paraguariensis*) difundiu-se principalmente nas regiões subtropicais do mundo, onde essa espécie é nativa. Entre os diversos componentes químicos que constituem a erva-mate existe uma classe de compostos que destacam-se devido a seu elevado potencial estimulante, as metilxantinas, tendo como principal representante a cafeína. Na literatura, encontra-se que a constituição da erva-mate pode variar de acordo com as cidades onde são cultivadas, assim, a presente pesquisa teve como objetivo a extração e quantificação da cafeína presente em ervas-mate de diferentes cidades de Santa Catarina, sendo elas Rio das Antas, Canoinhas, Catanduvas, Jaborá e Itaiópolis. Adotou-se dois processos para a extração: extração sólido-líquido (mistura de carbonato de cálcio, erva-mate e água) e extração líquido-líquido (clorofórmio e extrato), em seguida, as amostras foram recristalizadas. Os solventes obtidos durante o processo de extração foram recuperados no evaporador rotativo para serem reutilizados. As amostras tiveram seus rendimentos calculados com a finalidade de comparação da quantidade de cafeína entre as cidades. Constatou-se que as quantidades variam dependendo do local de cultivo. Para caracterização utilizou-se a espectroscopia na região do infravermelho e a cromatografia de camada delgada (TLC). Notou-se, com a caracterização que as amostras apresentaram um alto grau de pureza.

Palavras-chave: erva-mate; Santa Catarina; metilxantinas; cafeína.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	6
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	7
2.1 BREVE HISTÓRICO DA ERVA-MATE.....	7
2.2 ERVA-MATE EM SANTA CATARINA	8
2.3 ERVA-MATE.....	9
2.4 METILXANTINAS	9
2.4.1 Cafeína	10
2.5 MÉTODOS PARA ANÁLISE	11
2.5.1 Cromatografia em camada delgada (TLC)	11
2.5.2 Espectroscopia no infravermelho	12
3 METODOLOGIA	13
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES	15
4.1 FASE DE TESTES	15
4.2 EXTRAÇÃO DA CAFEÍNA.....	16
4.3 CARACTERIZAÇÃO DA CAFEÍNA	24
4.3.1 Caracterização por infravermelho	24
4.3.2 Caracterização por cromatografia de camada delgada (TLC)	26
4.4. TRATAMENTO DE RESÍDUOS	28
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	28
6 REFERÊNCIAS	30

1 INTRODUÇÃO

A *Ilex paraguariensis* é uma espécie nativa das regiões subtropicais da América do Sul, onde é popularmente conhecida como erva-mate. A erva-mate é utilizada na preparação de bebidas - como chimarrão, tererê e chás - e o seu uso difundiu-se tanto que tornou-se parte dos hábitos culturais dessas regiões (BASSANI et al., 2007).

Formada por vários componentes químicos, a erva-mate apresenta uma classe de compostos, denominadas metilxantinas que apresentam um elevado potencial estimulante. Pertencentes a essa classe estão a cafeína (1,3,7-trimetilxantina), a teobromina (3,7-dimetilxantina) e a teofilina (1,3-dimetilxantina), sendo a cafeína a metilxantina presente em maior quantidade na erva-mate.

Cada vez mais os componentes químicos da erva-mate vêm sendo utilizados na indústria farmacêutica, no Ministério da Saúde estão registradas 14 preparações derivadas da *I. paraguariensis* devido às suas propriedades terapêuticas, no qual é recomendado como estimulante, anti-inflamatório, anti-reumático, tônico e diurético (GIRARDI, 2010). Em específico, a cafeína possui benefícios como redução de apatia, fadiga e favorecimento da atividade intelectual do indivíduo.

Na literatura, encontra-se que a composição da erva-mate pode sofrer alterações quantitativas – composição química – e qualitativas – qualidade da erva-mate (CUNHA et al, 2011 apud SILVA, 2015). A vista disso, foi delimitada a extração e quantificação da cafeína em ervas-mate de diferentes cidades de Santa Catarina, em que a escolha das cidades foi feita considerando a disponibilidade das ervas-mate nos mercados de Jaraguá do Sul. As cidades escolhidas foram Canoinhas, Catanduvas, Itaiópolis, Jaborá e Rio das Antas. Na figura 1 há um mapa representando as cidades produtoras de erva-mate que foram escolhidas para análise.

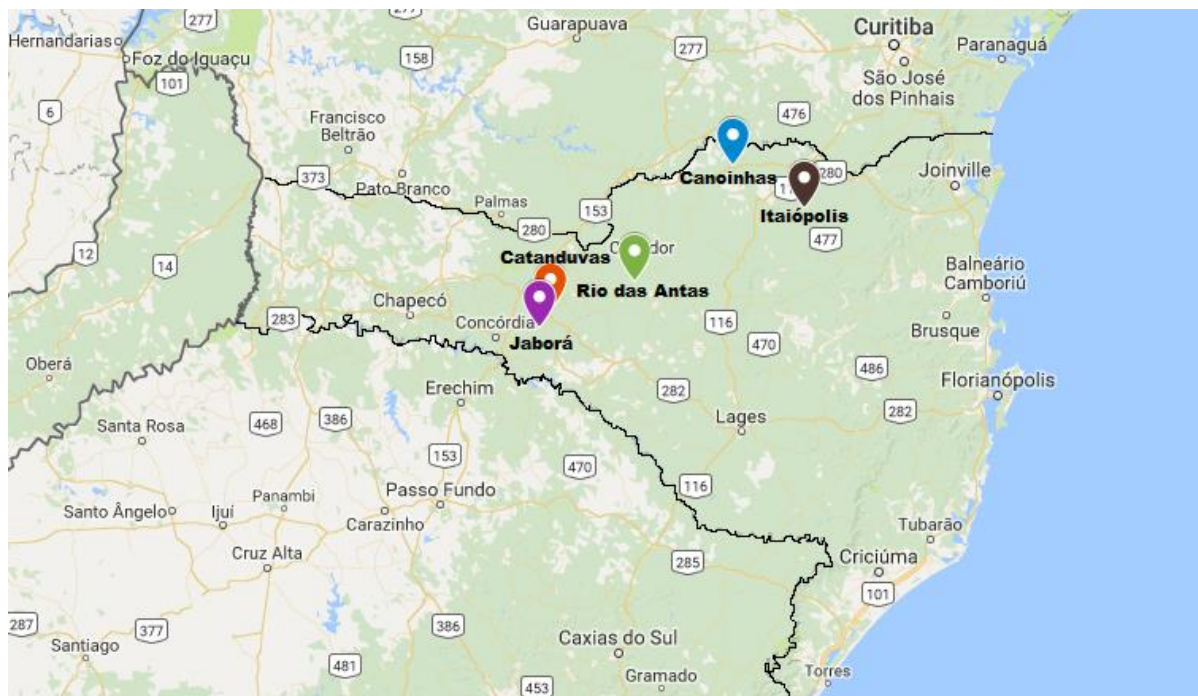


Figura 1. mapa representando as cidades escolhidas para análise.

Fonte: elaborado pelo grupo.

A pesquisa teve como objetivo a análise e comparação da quantidade de cafeína presente na erva-mate de diferentes cidades de Santa Catarina. Inicialmente, foram levantadas algumas hipóteses, como se seria possível a extração e separação das metilxantinas, e se essa quantidade obtida seria diferente de acordo com a cidade na qual a erva-mate era cultivada.

Utilizou-se o método de extração básica mantendo a mistura em ebulição e a purificando em seguida. Por fim, caracterizou-se as amostras através de espectrofotometria na região do infravermelho e cromatografia de camada delgada, e comparou-se a quantidade de cafeína presente na erva-mate das diferentes cidades.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 BREVE HISTÓRICO DA ERVA-MATE

A erva-mate é conhecida desde a época pré-colombiana, no entanto, há poucos vestígios da sua utilização. Alguns estudos indicam que foram os nativos guarani que ensinaram seu uso aos espanhóis durante a ocupação castelhana no Paraguai. O uso da erva-mate como bebida tônica e estimulante já era conhecida pelos aborígenes da América do Sul. Segundo alguns autores, por volta de 1670, os jesuítas deram início ao cultivo da erva-mate (DANIEL, 2009).

No início do século XIX, o naturalista francês August de Saint-Hilaire fez várias viagens ao Brasil, esteve no Rio Grande do Sul, Curitiba e litoral. Ao retornar à França,

em 1823, apresentou um relatório dos ervais sulinos brasileiros, onde propôs a designação de *Ilex paraguariensis* (DANIEL, 2009).

No final do século XIX boa parte da economia brasileira era movida pela erva-mate. A história econômica da erva-mate caracterizou-se em períodos de escassez dos produtos, alternados por períodos de excessiva demanda, fases em que a erva-mate era adulterada com outras plantas e, por fim, o método de consumo na forma de tererê ou chimarrão, considerado por muito anti-higiênico, contribuiu para restringir sua expansão a outros continentes (DANIEL, 2009)

No Brasil, os estados da Região Sul e o Mato Grosso do Sul são os estados que concentram a maioria dos ervais. A atividade ervateira tem grande importância econômica, principalmente no sul, presente em 180 mil propriedades rurais, abastecendo aproximadamente 725 indústrias, gerando 710 mil empregos por ano.

2.2 ERVA-MATE EM SANTA CATARINA

A erva-mate é comumente usada como bebida em Santa Catarina, principalmente na forma de chimarrão e tererê, mas recentemente, a erva-mate vem sendo utilizada também para a produção de cervejas e de farinhas.

Segundo Da Croce (2001), a erva-mate em Santa Catarina é encontrada em aproximadamente 140 municípios, os quais possuem em torno de 19.700 propriedades rurais e cerca de 118 mil trabalhadores nas 118 empresas processadoras distribuídas pelo estado. A produção estimada ultrapassa 112.000 t/ano de erva-mate cancheada (erva-mate seca) beneficiada. Essas características dão ao estado o título de primeiro produto brasileiro de erva-mate, cuja produção é sustentada por 80% de ervais nativos e 20% cultivados, distribuindo-se desde a Serra do Mar até a divisa com a Argentina (FRANCO, 1992).

De acordo com o Anuário Brasileiro da Erva-Mate (1999), as ervateiras do estado de Santa Catarina e do Paraná já tiveram participações de exposições internacionais na Europa, mostrando seu relevante valor não apenas para o Brasil, mas também para o exterior. A erva-mate também contribuiu para a fixação de imigrantes no século passado e é exportada pelo Brasil para países como Japão e Estados Unidos (Anuário Brasileiro da Erva-Mate, 1999).

2.3 ERVA-MATE

A *Ilex paraguariensis*, popularmente conhecida como erva-mate, é uma árvore da família Aquifoliaceae nativa das regiões subtropicais e temperadas da América do Sul. A erva-mate apresenta algumas classes de compostos fitoquímicos, ou seja, compostos químicos biologicamente ativos que podem ser encontrados em ervas e vegetais e possuem benefícios a saúde, como as metilxantinas, fenóis, compostos nitrogenados, entre outros. (NAKAMURA, 2003).

A erva-mate apresenta variações em sua qualidade, no conjunto de suas características e benefícios devido à influência de alguns fatores como a idade das árvores e das folhas, a época de colheita, o sistema de cultivo, região produtora e as formas de beneficiamento e armazenamento, época de poda, luminosidade, tipo de solo e teor de minerais, adubação, variabilidade genética, além dos métodos de extração, isolamento e quantificação (VIEIRA, 2009).

A espécie apresenta bons resultados na região sul devido aos aspectos climáticos, pois a planta precisa de temperaturas amenas e chuvas regulares. As árvores passam pela colheita a cada dois anos, que também é a idade necessária para a primeira poda (VIEIRA, 2009).

Segundo Pedrolo (2005 *apud* FILIPI et al, 2000) a erva é utilizada na medicina popular para o tratamento de doenças como artrite, lenta digestão, obesidade, dor de cabeça e reumatismo e também é conhecida por conter compostos com propriedades antioxidantes. Ela apresenta propriedades estimulantes ao sistema nervoso central atribuído ao teor das metilxantinas.

2.4 METILXANTINAS

As metilxantinas são derivadas da xantina (Figura 2) e esta, por sua vez, é uma base nitrogenada cristalina. Devido às suas propriedades e a presença de nitrogênio heterocíclico, as metilxantinas são denominadas alcalóides purínicos (RATES; SIMÕES, 2004 *apud* MAZUR, 2012).

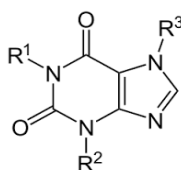


Figura 2. Representação genérica da xantina, onde R¹, R² e R³ indicam qual é a metilxantina.

Essas substâncias são de origem vegetal e responsáveis pela obtenção de bebidas estimulantes. As principais metilxantinas encontrados na erva-mate estão presente na Figura 3, sendo elas a cafeína (1,3,7-trimetilxantina), a teofilina (1,3-dimetilxantina) e a teobromina (3,7-dimetilxantina), sendo as duas primeiras as mais importantes para a indústria farmacêutica por suas características estimulantes do sistema nervoso central e respiratório, respectivamente.

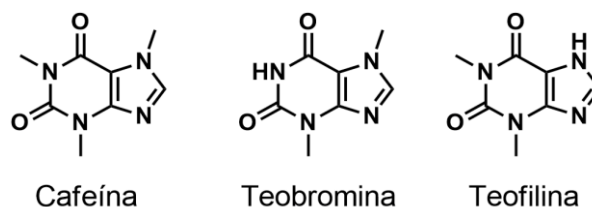


Figura 3: Estrutura molecular de três metilxantinas.

2.4.1 Cafeína

A cafeína (1,3,7-trimetilxantina) é um alcalóide - composto natural que contém nitrogênio e possui propriedades de uma base amina orgânica -, pertencente ao grupo das metilxantinas. Este composto possui fórmula molecular de $C_8H_{10}N_4O_2$ (figura 4) e é uma substância branca, sólida e inodora, pouco solúvel em água e com o ponto de fusão entre 234 e 239 °C.

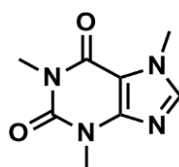


Figura 4. Estrutura molecular da cafeína (1,3,7,-trimetilxantina).

A cafeína atua bloqueando a adenosina, neurotransmissor do sono. Ao ser ingerida em quantidade adequada, a ela reduz a sonolência, a apatia e a fadiga, além de favorecer a atividade intelectual do indivíduo, aumentando a capacidade de atenção, concentração e memória (Segatto, 1999; Lima, 1995 apud Encarnação; Lima, 2003. p. 26).

Segundo Ferreira (2006) a cafeína também é capaz de proporcionar um efeito termogênico, fazendo com que o organismo esteja mais adaptado a queimar calorias, pois promove a lipólise, o que leva o organismo a utilizar a gordura como grande fonte de energia e, além disso, também é apontada como um potencial diurético para eliminação de fluídos.

Aproximadamente 250 mg de cafeína, para pessoas que não estejam habituadas ao seu consumo regular, pode levar a um aumento da frequência cardíaca (taquicardia). Em

certos casos, pode chegar a sentir-se a sensação de palpitações (SOARES; FONSECA, 2004). Alguns autores classificam a cafeína como relativamente tóxica, outros indicam que ela pode causar dependência, no entanto, a dose letal da cafeína é de 75 mg/kg e para obtê-la, o indivíduo deveria ingerir cerca de uma centena de xícaras de café em um curto período de tempo (SAWYNOK, s/d apud LUNKES, 2008).

Nos casos de abstinência em que se desenvolve tolerância ou dependência a cafeína, pode causar letargia, dor de cabeça e náuseas. Assim como o uso excessivo da cafeína pode levar à inquietação, irritabilidade, insônia e a tremores musculares (PAVIA, 2006).

Pode ser encontrada em diversas plantas como no guaraná, erva-mate e em outros vegetais, e é responsável pelo efeito estimulante de bebidas como chá e café e de refrigerantes (CARVALHO et al., 2006).

2.5 MÉTODOS PARA ANÁLISE

Entre os possíveis métodos de análise das amostras optou-se pela utilização de métodos qualitativos para caracterizar a cafeína, como a cromatografia em camada delgada (TLC) e a espectroscopia na região do infravermelho.

A espectroscopia na região do infravermelho está associada com as vibrações específicas das ligações químicas, as quais correspondem a níveis de energia da molécula. Assim o aparelho incide radiação eletromagnética na região do infravermelho em um mesmo nível de energia das vibrações da ligação. A molécula absorve essa energia e a converte em energia vibracional, em seguida ela a transmite (PAVIA et al., 2012).

Enquanto as cromatografias, não apenas a de camada delgada mas todas as demais, se baseiam em como a substância interage com o eluente que flui no sistema, separando as mais interativas das menos interativas, tais interações podem se dar por características como polaridade, acidez e basicidade, afinidade química e solubilidade (PAVIA et al, 2006).

2.5.1 Cromatografia em camada delgada (TLC)

A cromatografia em camada delgada (TLC) se destaca por ser um método simples, rápido, visual e econômico, muito utilizada para a identificação de frações coletadas de cromatografia líquida em coluna (DEGANI et al, 1998).

O método se constitui em uma espécie “reversa” da cromatografia líquida em coluna (pois também irá ter uma separação pela afinidade do composto pelo solvente),

onde, após aplicar uma pequena parte da amostra em uma placa de TLC (geralmente constituída por uma base de Alumínio e uma fina camada de Sílica Gel) com adsorvente, ela será colocada em um recipiente com solvente que, por capilaridade, subirá pela placa. Se o composto for colorido será possível acompanhar o deslocamento visualmente, se não for possível essa visualização é necessário revelar a placa para visualizar este deslocamento (DEGANI et al, 1998).

No caso das substâncias incolores, como a cafeína, as placas geralmente são submetidas à luz ultravioleta (UV), para que possam ser visualizadas as manchas, que assumem colorações brilhantes ou até mesmo fluorescentes. A fluorescência ocorre sobretudo em compostos orgânicos, sendo rara nos inorgânicos. (PAVIA et al., 2012).

Para que haja a identificação dessas substâncias, faz-se o cálculo do R_f , que é a razão do deslocamento do composto e o deslocamento do solvente. Na literatura, o símbolo R_f , recebe o nome de “fator de atraso” ou “razão até a frente”, porém, estas nomeações não são comuns na comunidade científica brasileira, que geralmente usa o termo “Fator de Retenção”. O R_f é calculado a partir da seguinte fração decimal:

$$R_f = \frac{\text{Distância percorrida pela substância}}{\text{Distância percorrida pelo solvente}}$$

Para calcular o R_f mede-se a distância que o composto percorreu a partir do seu ponto de aplicação. Então, este valor obtido é dividido pela distância percorrida pela frente do solvente a partir do ponto de aplicação. Cada substância possui seu R_f específico, e a partir dele é possível identificar compostos desconhecidos, porém muitos podem apresentar o mesmo valor de R_f , necessitando assim, ser confirmado com outros métodos. Geralmente, é calculado o R_f da substância pura que é então comparado com o do composto obtido, para que se tenha certeza da substância revelada. (PAVIA et al., 2012).

2.5.2 Espectroscopia no infravermelho

A espectroscopia de infravermelho é uma técnica utilizada para identificar compostos ou investigar a composição de uma substância, baseando-se nas vibrações dos grupos funcionais que ela apresenta. Dessa forma, o aparelho incide radiação eletromagnética na região do infravermelho em um mesmo nível de energia das vibrações da ligação. A molécula absorve essa energia e a converte em energia vibracional, em seguida ela a transmite (PAVIA et al., 2012).

No entanto, apenas as ligações que tem um momento de dipolo que se altera em

função do tempo é que são capazes de absorver essa energia. A cafeína possui grupos funcionais bem característicos que facilitam na sua identificação, como amina e amida. Através da diferença entre luz absorvida e transmitida é possível saber quais ligações vibraram e como vibraram. Na Figura 5, está apresentado uma parte do espectro eletromagnético.

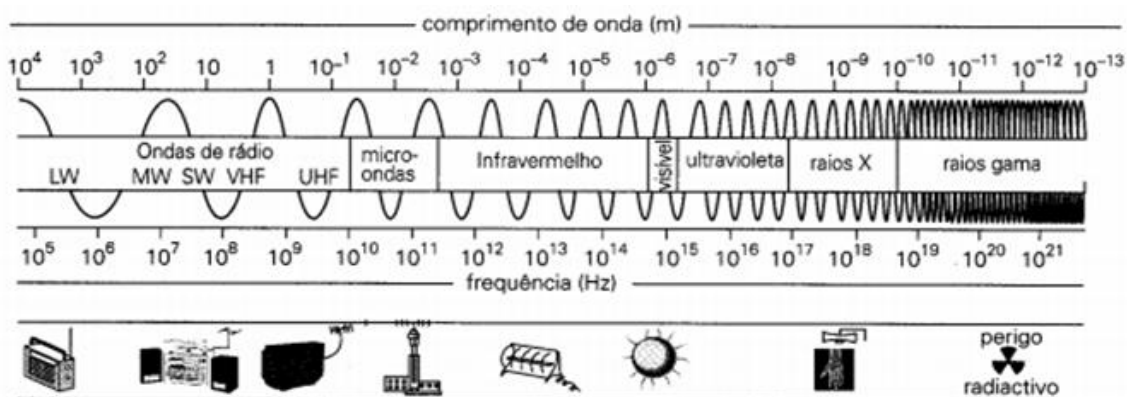


Figura 5. espectro eletromagnético.

Fonte: LEITE; PRADO, 2012.

3. METODOLOGIA

Optou-se pela extração da cafeína presente na erva-mate comercial de cinco diferentes cidades de Santa Catarina, sendo elas Rio das Antas, Canoinhas, Catanduvas, Jaborá e Itaiópolis, as quais foram realizadas em duplicata obtendo ao final o total de dez amostras. Os critérios de escolha das ervas-mates foi feita considerando os aspectos naturais de cada cidade de produção e a disponibilidade das ervas-mate nos supermercados de Jaraguá do Sul.

O método adotado para a extração da cafeína foi o disposto na apostila de química orgânica experimental, da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). Este método consiste em uma extração em meio básico, onde primeiramente é feita uma mistura com 15 g de erva-mate e 7 g de carbonato de cálcio (CaCO_3) em 150 mL de água. Essa mistura é mantida 20 minutos em ebulição e agitação.

Em seguida, a mistura foi filtrada à vácuo para eliminar os resíduos sólidos e o filtrado líquido foi levado a um funil de separação. Nesse funil foi realizada a extração da cafeína acrescentando-se 4 porções de 20 mL de clorofórmio, descartando a fase aquosa ao final.

A cada porção do solvente orgânico acrescentada, realizou-se movimentos circulares permitindo uma maior área de contato entre a cafeína (presente no extrato

aquoso) e o solvente adicionado. Eventualmente, foi utilizado um bastão de vidro e/ou adicionada uma solução saturada de cloreto de sódio para realizar a quebra das emulsões provenientes da agitação anterior.

Feito isso, foi acrescentado sulfato de sódio anidro a amostra, a fim de remover vestígios aquosos ou emulsivos. Na sequência, filtrou-se para retirar o sulfato de sódio, e o filtrado foi levado ao evaporador rotativo, onde foi recuperado o solvente. A amostra obtida foi solubilizada com a mínima quantidade de tolueno possível e foi submetida a aquecimento, em seguida adicionou-se gotas de éter de petróleo, a fim de obter a cafeína pura. O sólido foi então filtrado e pesado.

As dez amostras obtidas e uma amostra de cafeína pura foram analisadas através da espectroscopia na região do infravermelho ($4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$) em um Espectrofotômetro de infravermelho com transformada de Fourier e reflectância total atenuada (FTIR - ATR), modelo Perkin Elmer Spectrum Two, disponibilizado pelo IFSC - Instituto Federal de Santa Catarina, campus Geraldo Werninghaus. O infravermelho foi utilizado de maneira qualitativa através da presença ou ausência de bandas características dos grupos funcionais da cafeína.

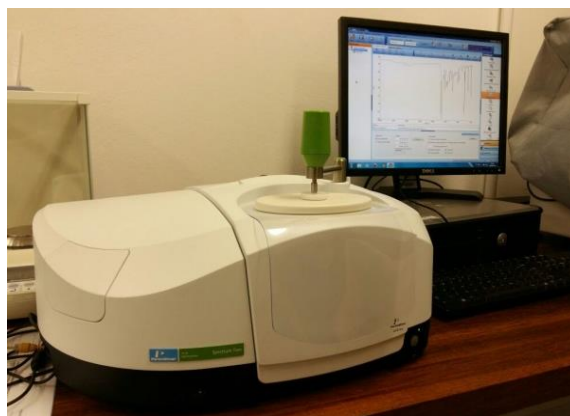


Figura 6. FTIR e ATR, modelo Perkin Elmer Spectrum Two, disponibilizado pelo IFSC - Instituto Federal de Santa Catarina, campus Geraldo Werninghaus.

Fonte: acervo pessoal.

As cafeínas extraídas foram submetidas a cromatografia em camada delgada (TLC), onde pequenas quantidades eram aplicadas em placas preparativas que, quando dispostas verticalmente em um béquer com isopropanol e clorofórmio (1:1). Por ser uma substância incolor, a cafeína necessitou de revelação em uma câmara de revelação com luz ultravioleta (UV) disponível no laboratório do IFSC - campus Jaraguá do Sul. Os resultados obtidos foram comparados com a TLC realizada com a cafeína pura.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 FASE DE TESTES

Seguindo a proposta do projeto de pesquisa realizado, o presente trabalho visava a extração, caracterização e quantificação das metilxantinas presentes nas ervas-mate de diferentes regiões de Santa Catarina, entretanto, alguns imprevistos na fase de testes impediram a realização dessa metodologia.

Para análise das metilxantinas o método mais utilizado é a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), entretanto, foi necessário optar por métodos mais acessíveis para a realização da pesquisa e, até então, uma alternativa viável foi a separação das metilxantinas utilizando a cromatografia líquida clássica. Seguindo a metodologia proposta por Shingler e Carlton (1959) a fase estacionária da coluna foi a sílica (SiO_2) e fase móvel o clorofórmio.

Esperava-se que a coluna não apresentasse nenhum tipo de coloração, no entanto, a coluna ficou transparente, como pode se observar na Figura 7, impossibilitando a visualização da fase estacionária. Dessa forma, houve dificuldade no acompanhamento e identificação do que estava sendo retirado da coluna. Além disso, para o acompanhamento no UV-Vis era necessário os padrões das metilxantinas - ou seja, amostras puras de cafeína, teofilina e teobromina -, o que não fora possível obter todas. Ainda houveram complicações no empacotamento da coluna, pois a sílica utilizada era extremamente fina, dificultando a separação.



Figura 7. coluna de cromatografia líquida clássica com fase estacionária sílica e fase móvel clorofórmio.

Fonte: elaborado pelo grupo

Assim, devido às dificuldades encontradas na fase de testes, optou-se extrair e quantificar apenas uma das metilxantinas, a cafeína, da erva-mate, utilizando a metodologia extração básica.

4.2 EXTRAÇÃO DA CAFEÍNA

Por ser um alcalóide, a cafeína apresenta um caráter básico, no entanto, ela não encontra-se livre, existem outros compostos químicos presentes na erva-mate que dificultam seu isolamento, como os taninos. O termo tanino não se refere a um único composto, mas a um conjunto de compostos com propriedades em comum, como por exemplo seu caráter ácido.

Adotou-se o método da extração básica da cafeína, pois quando adiciona-se água quente à erva-mate o calor proporciona energia para ocorrer o processo de infusão, caracterizado como um tipo de extração para remoção dos compostos que estão dentro das plantas, neste caso a erva-mate. Essa energia, somada à presença de carbonato de cálcio, favorece a hidrólise tanino-cafeína, liberando o ácido gálico. Devido ao grupo fenol dos taninos e aos grupos carboxílicos do ácido gálico (Figura 8), estes compostos se apresentam caráter ácidos. Quando acrescenta-se carbonato de cálcio, que possui caráter básico, o mesmo converte os ácidos em sais e estes são solúveis em água (PAVIA, 2006).

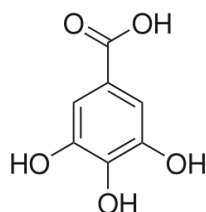


Figura 8. Estrutura química do ácido gálico.

A mistura de erva-mate com carbonato de cálcio foi submetida a um aquecimento de 100 °C, esse aquecimento não apresenta riscos de decomposição da cafeína, pois esta apresenta um ponto de decomposição de 240°C.

Na Figura 9, estão imagens do processo de aquecimento e de resfriamento da erva-mate.

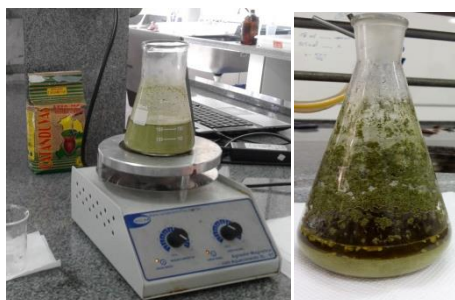


Figura 9. Imagens da etapa de extração básica e posterior e resfriamento da mistura de erva-mate com carbonato de cálcio.

Fonte: acervo pessoal.

Após o resfriamento do extrato, o mesmo foi submetido a uma filtração a vácuo para acelerar o processo de filtração e obter apenas a parte aquosa da mistura, sem os resíduos sólidos de erva-mate e carbonato de cálcio.

Essa fase aquosa contém cafeína e outros compostos indesejáveis, assim, a amostra foi levada à um funil de separação a fim de realizar a separação desses compostos da cafeína. Para isso, realizou-se uma extração líquido-líquido, na qual foi acrescentado na fase aquosa um solvente apolar, o clorofórmio.

A cafeína, por ser um composto apolar, tem maior interação pela fase orgânica, sendo essa a fase que deseja-se obter na separação. Após acrescentar o clorofórmio, o funil é agitado para que a cafeína possa interagir com o solvente orgânico, já que anteriormente ela estava na fase aquosa. Criaram-se duas fases, sendo que a fase orgânica encontrava-se na parte inferior do funil, enquanto a fase aquosa na parte superior, devido a diferença de densidade.

Quando finalizada a agitação, foi possível observar a formação de emulsões, como as presentes na Figura 10, possivelmente, pela presença de bolhas de ar e compostos que são solúveis tanto na fase orgânica como na fase aquosa.



Figura 10. Emulsão formada durante a extração líquido-líquido de um extrato de erva-mate utilizando clorofórmio.

Fonte: acervo pessoal.

Para desfazer as emulsões foram adotados métodos mecânicos e químicos. No mecânico foi utilizado o bastão de vidro a fim de auxiliar na quebra das emulsões, já, no processo químico acrescentou-se uma solução saturada de cloreto de sódio, técnica também conhecida como efeito *salting out*. Acrescentando uma solução saturada de NaCl, ocorre um aumento da força iônica, na qual a fase aquosa tem maior interação com o cloreto de sódio e solvata seus íons, com isso, os compostos orgânicos são liberados e seguem apenas para a fase orgânica, quebrando as emulsões (FARINELLI, s/d).

Finalizando a extração líquido-líquido, a fase orgânica é retirada do funil de

separação e encaminhada para o evaporador rotativo, a fim de recuperar e retirar o solvente sem decompor a amostra. O solvente recuperado foi armazenado e utilizado nas extrações posteriores.

A amostra obtida passou pela recristalização por efeito anti-solvente, a fim de ser purificada. Nessa etapa, adicionou-se tolueno e aqueceu-se a amostra para retirar as possíveis impurezas. O tolueno é um solvente apolar e por isso solubiliza a cafeína, no entanto, também solubiliza outros componentes presentes na amostra que por ventura foram extraídos.

Quando a mistura atinge a temperatura ambiente, inicia-se a recristalização por efeito anti-solvente. Esse processo consiste na adição de um solvente insolúvel, nesse caso o éter de petróleo, na mistura de cafeína e tolueno. Ao adicionar o anti-solvente, a solubilidade da cafeína é reduzida, facilitando a formação e precipitação dos seus cristais (GOMES, 2014). Na figura 12 é possível verificar a ação do anti-solvente.



Figura 12. Amostras de cafeína submetidas a recristalização.

Fonte: acervo pessoal.

Com o intuito de obter apenas a cafeína, uma filtração à vácuo é realizada, para retirar os solventes, entretanto, as cafeínas obtidas apresentavam ainda uma coloração levemente esverdeada, possivelmente, por conter resquícios de clorofila.

O rendimento bruto foi calculado com base na quantidade de cafeína obtida pela quantidade de erva-mate utilizada, de acordo com Equação 1 e os resultados obtidos para todas as extrações estão apresentados na Tabela 1.

$$R\% = (\text{massa de cafeína obtida} / \text{massa de erva - mate inicial}) \times 100$$

(Equação 1)

Tabela 1. Rendimentos da cafeína extraída de erva-mate de diferentes cidades de Santa Catarina, na proporção g/15g

R% médio	R%	Massa (g)	Amostras
0,47	0,36	0,0543	Rio das Antas I
	0,57	0,0857	Rio das Antas II
0,39	0,37	0,0550	Itaiópolis I
	0,41	0,0619	Itaiópolis II
0,29	0,28	0,0425	Jaborá I
	0,30	0,0455	Jaborá II
0,47	0,51	0,0764	Canoinhas I
	0,43	0,0650	Canoinhas II
0,32	0,30	0,0445	Catanduvas I
	0,33	0,0507	Catanduvas II

Fonte: elaborado pelo grupo.

O processo de extração da cafeína com a finalidade de quantificação é notavelmente comum dentre a literatura, no entanto há poucas análises relacionando dados de Santa Catarina.

Segundo Da Croce (2002), a partir do mês de abril há uma queda nos níveis de cafeína em erva-mate, tendo seus ápices entre janeiro e março, e nos meses de junho e julho há uma média de 0,715%, já nas análises realizadas a média¹ é de 0,39%. Essa diferença entre as porcentagens de cafeína entre as análises e os resultados de Da Croce tem uma série de fatores, tanto naturais quanto experimentais, destacando as perdas que acontecem durante o processo, principalmente na purificação. Esses fatores em conjunto, resultam nessa diferença de rendimento.

¹ Já considerando que as amostras realizadas estão dispostas entre esses meses.

Em uma comparação mais ampla, não limitando somente a Santa Catarina, encontra-se na literatura diversos autores que analisaram e quantificaram a cafeína na erva-mate. Pires et al (2016) reuniu diversos resultados de análises desde 1997 até 2016, análises estas, realizadas em diversos estados, predominantemente em Santa Catarina, Rio Grande do Sul, Paraná e Mato Grosso do Sul. Os dados reunidos por Pires et al (2016) estão reunidos para comparação na Tabela 2.

Tabela 2. Rendimentos de cafeína obtidos para extrações em erva-mate realizadas por diversos autores.

Rendimento (%)	Autor e data de análise
0,54	Mazzafera (1997)
0,65	Reginatto <i>et al.</i> (1999)
0,72	Zampier (2001)
1,31	Esmelindro <i>et al.</i> (2002)
0,64	Cardozo Junior <i>et al.</i> (2003)
1,95	Borille, Reissmann, Freitas (2005)
1,66	Rakocevic <i>et al.</i> (2006)
0,705	Streit <i>et al.</i> (2007)
1,503	Santin (2008)
4,679	Meurer (2012)
9,572	Pires <i>et al.</i> (2016)

Fonte: PIRES et AL, 2016 (adaptado).

Levando em consideração as perdas durante o processo e a variedade de métodos utilizados por estes autores, pode-se realizar algumas comparações, principalmente com Mazzafera (1997), Reginatto *et al* (1999) e Cardozo Junior *et al* (2003). Nos resultados desses autores, os rendimentos apresentaram-se próximos aos obtidos nesta pesquisa, no entanto ainda estão ligeiramente maiores.

Já quando a comparação é feita com os outros rendimentos dispostos, percebe-se uma variação significativa, destacando-se as análises mais recentes como Meurer (2012) e Pires *et al* (2016). Atribui-se essa variação de rendimento a alguns fatores, além dos naturais, a melhoria dos equipamentos e métodos utilizados, sendo que estes autores

desenvolveram a pesquisa a partir de espectrofotometria no UV, método este que apresenta maior precisão e menor perda durante o processo, já que não é necessário obter a cafeína pura para quantificá-la.

Em relação a outras bebidas, consideradas estimulantes, o nível de cafeína apresenta-se abaixo dos dispostos em literatura. A Tabela 3 relaciona os rendimentos médios de cafeína em diversas bebidas estimulantes.

Tabela 3. Porcentagem de cafeína em diferentes bebidas estimulantes.

Cafeína (%)	Amostra
3,99	Café solúvel
2,99	Chá preto
0,76	Energético
1,82	Bebida de cola
1,0	Extrato de guaraná concentrado

Fonte: BORTOLINI *et al.*, 2010 (Adaptado).

Nas análises realizadas, o teor médio de cafeína na erva-mate aproxima-se de 0,39%, com isso, pode-se visualizar a grande diferença entre as pedidas consideradas estimulantes. Quando comparado com o café, que possui o maior teor de cafeína, a diferença com a cafeína da erva-mate ultrapassa 1000%, já em relação ao energético, que possui o menor teor, essa diferença cai para 195%.

Ao relacionar de uma forma geral, a erva-mate mostra-se pouco eficiente como bebida estimulante, sendo facilmente substituída por outras bebidas (dez xícaras de chá mate para cada uma de café). No entanto, é difícil realizar uma relação precisa entre possíveis níveis de potencial estimulantes e de teor de cafeína encontrados nas diferentes bebidas, pela falta da padronização metodológica nas análises. É difícil fazer uma comparação precisa com a literatura, pois existem diversas metodologias descritas e cada uma resulta numa determinada quantidade de cafeína.

Como o objetivo dessa pesquisa é a comparação das quantidades de cafeína presente na erva-mate de diferentes cidades, foram escolhidas cinco cidades para análise. As extrações da cafeína foram realizadas em duplicatas para melhor confiabilidade dos resultados. Na Figura 13 estão presentes as médias dos rendimentos de cafeína extraídas

das ervas-mate de diferentes cidades.

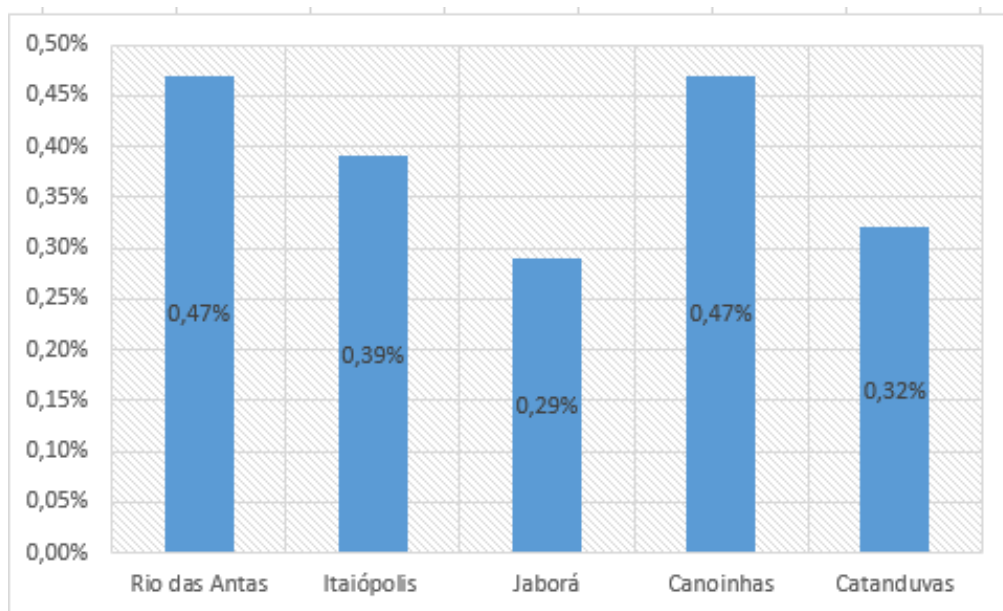


Figura 13. Quantidades de cafeína obtidas por extração básica de diferentes ervas-mate das cidades de Santa Catarina analisadas.

Fonte: Elaborado pelo grupo.

Com os rendimentos obtidos observa-se duas situações: a primeira em que duplicatas de uma mesma cidade apresentam diferença e a segunda na qual amostras de cidades diferentes apresentam variação.

A primeira situação é visível na Tabela 1, já apresentada, na qual as duplicatas de Rio das Antas e Itaiópolis sofreram variações significativas, no entanto, o método de extração foi o mesmo para todas as amostras, assim, todas deveriam ter as mesmas perdas durante o processo, e isso pode ser vinculado a erros experimentais.

Pode-se observar que a segunda situação é vista na Figura 13, como por exemplo, as ervas-mate da cidade de Rio das Antas e Canoinhas apresentaram os maiores rendimentos de cafeína, enquanto Jaborá foi a que menos apresentou. Existem diferentes fatores que podem ter influenciado a variação das quantidades de cafeína, assim, para a comparação do rendimento devemos considerar a data de fabricação, fatores climáticos das cidades, idade da folha utilizada para a fabricação da erva-mate, entre outros.

As ervas-mate compradas foram fabricadas no período entre junho e julho, no entanto, para a comercialização, geralmente, são utilizadas ervas-mate com folhas velhas. De acordo com a literatura, folhas velhas apresentam quantidades inferiores de componentes químicos, quando comparado com as folhas novas (ESMELINDRO, 2002).

Além disso, durante a produção e comercialização da erva-mate ocorre alteração

significativa na quantidade de cafeína. Segundo Esmelindro (2002) o processamento da erva-mate acaba degradando a cafeína por ser submetida a altas temperaturas, principalmente nos processo de sapeco e secagem onde ocorrem alterações físico-químicas na erva-mate. A Tabela 4, está presente os níveis de redução da cafeína durante sua produção, o que representa diferença de 5% no teor de cafeína em relação a folha seca.

Tabela 4. Teores de cafeína durante o processamento.

TEOR DE CAFEÍNA (% em base seca)	AMOSTRA
Linha de processamento 01	
1,31	Folha seca
1,18	Sapegador 01
1,07	Secador 01
1,08	Cancheada de 5 dias
1,09	Cancheada de 21 dias
Linha de processamento 02	
1,31	Folha seca
0,94	Sapegador 01
0,91	Secador 01
0,96	Cancheada de 5 dias
1,02	Cancheada de 21 dias

Fonte: ESMELINDRO, 2002.

Portanto, o teor de cafeína obtido está relacionado a um conjunto de aspectos que alteram sua quantidade final, como o solo, clima, época de colheita e cultivo, produção, comercialização, e os métodos de análise. Dessa forma, não é possível atribuir uma causa específica para variação das quantidades de cafeína entre as cidades, embora tenha sido notada uma diferença significativa. Assim, com base na literatura e com os dados experimentais corroborou-se a hipótese proposta de que haveria diferença nos valores de cafeína entre as ervas das cidades comparadas.

Atualmente, diversas pesquisas vêm sendo desenvolvidas com a finalidade de padronizar os teores de cafeína e das demais metilxantinas (REGINATTO et al., 1999 apud MAZUR, 2012).

4.3 CARACTERIZAÇÃO DA CAFEÍNA

Para a caracterização, utilizou-se a cromatografia de camada delgada (TLC) e o infravermelho.

4.3.1 Caracterização por Infravermelho

Primeiramente, foi realizada uma análise da cafeína pura 99% a fim de obter-se um padrão para a comparação dos demais materiais extraídos quanto a presença de cafeína e o grau de pureza dos mesmos. Na Figura 14, está o espectro da cafeína pura 99%.

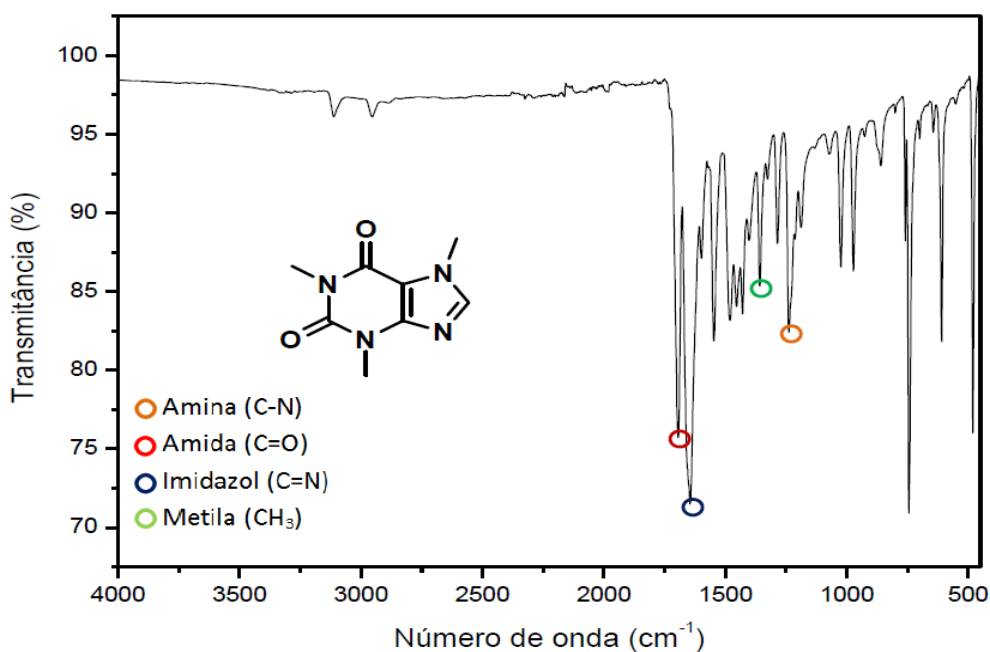


Figura 14. espectro da cafeína pura 99%.

Em seguida, analisou-se as dez amostras de cafeína obtidas a partir da extração da erva-mate. Na Figura 15 é apresentado os espectros da amostra de cafeína pura 99% e das amostras extraídas.

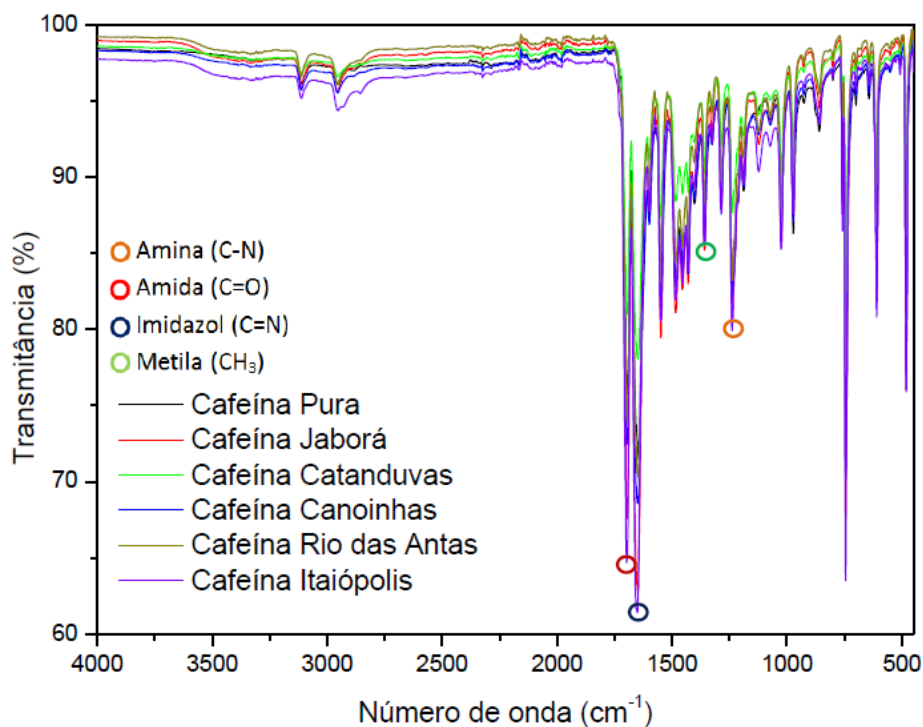


Figura 15. espectros das amostras de cafeína.

Cada tipo de ligação tem sua própria frequência natural de vibração, assim, duas ligações idênticas de diferentes compostos terão padrões de absorção diferente, isso porque as condições nas quais as ligações estão sendo submetidas não são as mesmas. Pela análise dos espectros obtidos, é possível notar que se trata do mesmo composto, assim, pode-se afirmar que o composto extraído nas dez extrações de erva-mate é a cafeína (PAVIA et al., 2012).

Observa-se em todos os espectros uma banda forte entre 1630 cm^{-1} e 1680 cm^{-1} , relativa ao estiramento $\text{C}=\text{O}$, indicando a presença do grupo amida. Enquanto na região de 1590 cm^{-1} e 1650 cm^{-1} , nota-se a presença de imidazol ($\text{C}=\text{N}$) característico da cafeína. Vale salientar que a ligação $\text{C}=\text{N}$ absorve na mesma faixa que a ligação $\text{C}=\text{C}$, mas geralmente, a ligação de $\text{C}=\text{N}$ é mais intensa que a ligação $\text{C}=\text{C}$ (PAVIA et al., 2012).

Caso não houvesse um padrão de espectro da cafeína pura para comparação, a banda de 1250 cm^{-1} poderia indicar que as amostras eram cafeína de fato. Esta banda ocorre, pois há uma absorção forte de deformação axial devido a presença de aminas aromáticas ($\text{C}-\text{N}$), característico da cafeína. Contudo, vale ressaltar que não apenas esta banda, mas o conjunto de todas as bandas permitiram a caracterização da cafeína.

Essa análise dos espectros de identificação das bandas de acordo com os grupos funcionais característicos das moléculas é realizada por dados já tabulados na literatura,

onde é necessário identificar as funções orgânicas da moléculas e atribuir ao seu número de onda. A Tabela 5 expressa as principais bandas identificadas e suas atribuições.

Tabela 5. Atribuição de função orgânica ao número de onda.

Número de onda (cm ⁻¹)	Função Orgânica
1630- 1680	Amida (C=O)
1200 – 1250	Amina (C-N)
1250 – 1400	Metila (CH ₃)
1590 – 1650	Imidazol (C=N)

Fonte: ESMELINDRO, 2002 (Adaptado).

Nota-se, ao comparar os espectros, que não houve variação significativa do espectro infravermelho de uma amostra para outra, isso demonstra que a metodologia aplicada para a extração da cafeína presente na erva-mate foi eficiente e as amostras apresentaram um alto grau de pureza por apresentarem espectros bem semelhantes ao da cafeína pura.

4.3.2 Caracterização por cromatografia de camada delgada (TLC)

Um dos métodos mais simples para caracterizar a cafeína é a cromatografia em camada delgada (TLC), nessa caracterização é possível visualizar impurezas presentes na amostra. Além disso, pode-se comparar a TLC de cada amostra com a TLC da cafeína pura (99% de pureza). A comparação é feita a partir do R_f de cada placa, sendo o R_f a razão entre deslocamento da amostra pelo deslocamento do solvente.

Para a corrida cromatográfica foi utilizado como solvente clorofórmio com isopropanol (1:1), solvente este já descrito como eficiente na cromatografia clássica realizada por Shingler e Carlton (1959).

Na Tabela 6, é possível comparar os R_f's, da cafeína pura e de cada amostra, elaborados pelo grupo.

Tabela 6. Rf de cada amostra.

Rf	Amostra	Rf	Amostra
0,69	Itaiópolis I	0,60	Rio das antas II
0,69	Itaiópolis II	0,66	Canoinhas I
0,66	Jaborá I	0,66	Canoinhas II
0,66	Jaborá II	0,7	Catanduvas I
0,61	Cafeína Pura	0,67	Catanduvas II

O TLC foi adotado para ilustrar os dados já dispostos pelo infravermelho, pois apesar dessa última técnica ser mais precisa, esta é mais abstrata. Visualmente, o deslocamento das amostras de cafeína, quando comparadas com a cafeína pura, são muito próximas (Figura 16).

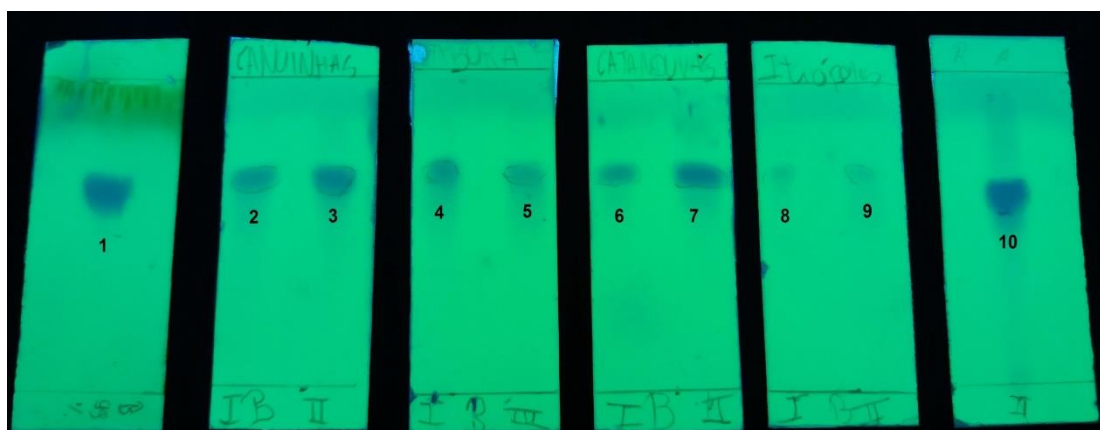


Figura 16. TLC das amostras de cafeína Cafeína pura (1), Canoinhas I (2), Canoinhas II (3), Jaborá I (4), Jaborá II (5), Catanduvas I (6), Catanduvas II (7), Itaiópolis I (8), Itaiópolis II (9) e Rio das Antas II (10).

Fonte: Acervo pessoal.

A cafeína possui a característica de ser incolor, assim, para visualizarmos o deslocamento da amostra na placa foi necessário uma câmara de revelação UV. Em seguida, realizou-se a sublimação do iodo para revelar as placas, no entanto, não houve nenhuma diferença significativa

As amostras de Itaiópolis não mostraram-se muito destacadas devido a

concentração primária da solução de cafeína preparada para os testes. Já a amostra de Rio das Antas I não tornou-se viável aplicá-la por conta de sua baixa quantidade bruta disponível nesta etapa da pesquisa.

4.4 TRATAMENTO DE REJEITOS

Os resíduos gerados durante o processo de extração e purificação foram tratados de acordo com as normas laboratoriais. A maior parte desses resíduos foram gerados na etapa de separação da fase orgânica e aquosa, onde utilizando somente a fase orgânica para a próxima etapa gerava em média 100 mL de resíduo aquoso, por extração. Filtrou-se o resíduo aquoso, onde possíveis componentes sólidos, como emulsão, foram separados. Descartou-se assim estes resíduos separadamente, como resíduos sólidos e resíduos aquosos.

Resíduos provenientes da purificação da cafeína foram, exclusivamente, descartados em local próprio para resíduos orgânicos não halogenados. Já os solventes utilizados para a TLC (Clorofórmio e isopropanol) foram descartados em local próprio para resíduos orgânicos halogenados.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com a execução desta pesquisa foi possível corroborar ou refutar algumas hipóteses propostas no projeto da mesma, as quais eram relacionadas à extração das três metilxantinas presentes na erva-mate (cafeína, teobromina e teofilina), porém, como abordado nas discussões, não foi possível realizar esta separação, devido a dificuldades experimentais intrínsecas as técnicas propostas.

Sendo assim, a primeira hipótese que dizia respeito a possibilidade de extração, separação e caracterização das três metilxantinas presentes nas ervas-mate, foi parcialmente refutada, pois não houve sucesso na realização da metodologia proposta no projeto. Apesar disso, com a aplicação de outra metodologia, a de extração sólido-líquido e líquido-líquido, foi possível extrair a cafeína, uma das metilxantinas desejadas.

Em relação a segunda hipótese que previa uma diferença nos valores de metilxantinas entre as ervas-mate produzidas nas cidades escolhidas, pode ser considerada parcialmente válida, pois foi possível comparar os valores de uma das metilxantinas, a cafeína.. Não é possível apontar o principal fator para que a ocorrência da variação encontrada, pois isto é a consequência de diversos fatores, já relatados no texto. Além dessas variáveis, a diferença pode ser justificada por perdas que ocorrem naturalmente ao

longo do processo de extração.

Por fim, a terceira hipótese que apontava os valores de teofilina extraída sendo inferiores ao da cafeína e teobromina, não pode ser corroborada ou refutada, tendo em vista que não foi possível obter a teobromina, como consequência da refutação da primeira hipótese.

A partir disso, identifica-se a necessidade da realização de futuras pesquisas nesta área, com o intuito de aprimorar as técnicas para sua realização, como a extração e purificação. Algumas adaptações foram necessárias para a realização da pesquisa, alterando o principal objetivo para a extração e quantificação da cafeína de diferentes cidades de Santa Catarina, comparando os valores obtidos.

A partir dos resultados gerados nesta pesquisa, é possível constatar que as ervas-mate utilizadas no processo de extração da cafeína, diferem na quantidade que foi apresentada dessa substância, porém não são valores consideravelmente grandes, variando cerca de 0,02 g em cada amostra.

De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, as ervas-mate devem apresentar, no mínimo, 0,5 g de cafeína a cada 100 g de erva. Das dez amostras obtidas, apenas duas delas estão de acordo com esta norma, as das cidades de Canoinhas e de Rio das Antas, sendo estas I e II, respectivamente. Isso se deve ao fato de ambas terem apresentado quantidades de cafeína superiores a 0,075 g, ou 0,50%, da quantidade total de erva extraída.

Durante a realização da pesquisa, verificou-se uma quantidade considerável de solvente utilizado para o processo de extração, o clorofórmio. Usou-se cerca de 80 mL para cada amostra de erva-mate que era extraída. Com a utilização do evaporador rotativo, recuperou-se a maior parte do solvente utilizado em cada extração, utilizando novamente o clorofórmio recuperado para as próprias extrações. Com isso, corrobora-se parcialmente a hipótese de seria possível recuperar os solventes utilizados nas extrações, considerando que houve perdas durante o processo e alguns descartes realizados, mas tendo em contrapartida uma boa recuperação do clorofórmio utilizado.

Percebeu-se que os conhecimentos adquiridos durante a execução da pesquisa são de grande valor para o crescimento acadêmico, intelectual e profissional. O uso de técnicas laboratoriais realizadas, a grande maioria até então inéditas para o grupo, contribuem para a formação de indivíduos competentes na produção de pesquisas científicas, evidenciando a importância de estudos de variados temas, a fim da maior conscientização da população, além de agregar novos valores à comunidade científica.

REFERÊNCIAS

Apostila de química orgânica experimental A. Disponível em: <<http://www.qmc.ufsc.br/organica/>>

BASSANI, Valquiria L. et al. **Influência do método de extração nos teores de metilxantinas em erva-mate (*Ilex paraguariensis* a. St.-Hil., aquifoliaceae).** 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422007000200012>. Acesso em: 15 jun. 2016.

BECK, Desliane Glonverzynski dos Santos; LUNKES, Daniele Sausen; SAMPEDRO, Renan Maximiliano Fernandes. O efeito da cafeína na degeneração óssea de ratas wistar ovariectomizadas e intactas. **Saúde Integrada: Revista da saúde do Instituto Cenecista**, [s. L.], v. 1, n. 1, p.7-23, s/d.

BORTOLINI, Karla; SICKA, Patricia; FOPPA, Talize. Determinação do teor da cafeína em bebidas estimulantes. **Revista Saúde-UnG**, v. 4, n. 2, p. 23-27, 2010.

CARVALHO, Joelia Marques de; MAIA, Geraldo Arraes; SOUSA, Paulo H.M. de e RODRIGUES, Sueli. **Perfil dos principais componentes em bebidas energéticas: cafeína, taurina, guaraná e glucoronolactona.** *Rev. Inst. Adolfo Lutz (Impr.)* [online]. 2006, vol.65, n.2, pp. 78-85. ISSN 0073-9855

DA CROCE, D.M. **A pesquisa em erva-mate.** Agropecuária Catarinense, Florianópolis, v.5, n.4, p.28, 1992 (Reportagem de FRANCO, H.M. Erva-mate: o Mercosul dispõe dessa exclusividade, 1992. p.24-30).

_____. Características físico-químicas de extratos de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil) no estado de Santa Catarina. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 12, n. 2, p.107-113, 18 out. 2002.

DANIEL, Omar. **Erva-mate: sistema de produção e processamento industrial.** Dourados, MS: UFGD; UEMS, 2009. 288p.

ENCARNAÇÃO, Ronaldo de Oliveira; LIMA, Darcy Roberto. **Café & Saúde Humana.** Brasília, DF: Embrapa, 2003. 66 p.

ESMELINDRO, Maria Carolina. **Caracterização físico-química da erva-mate: Influência das etapas do processamento industrial.** Campinas, 2002.

FARINELLI, Flávia et al. **Extração da cafeína do chá preto e purificação por sublimação.** São Paulo: Universidade Estadual Paulista, s/d.

FERREIRA, Gardênia Maria Holanda; GUERRA, Gerlane Coelho Bernardo; GUERRA, Ricardo Oliveira. **Efeitos da cafeína na percepção do esforço, temperatura, peso corporal e frequência cardíaca de ciclistas sob condições de stress térmico.** *Rev. bras. ciênc. mov*, v. 14, n. 2, p. 33-40, 2006.

FIGUEIREDO, Lígia; LOPES, Gustavo. **Obtenção de cafeína por extração das folhas de Chá.** Disponível em: <<https://nebm.ist.utl.pt/repositorio/download/22/0>>. Acesso em: 20/10/2016.

GIRARDI, Jonathan dos Santos. **Avaliação da influência das condições de cultivo sobre os teores de compostos de interesse presentes nos extratos de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) obtidos por CO₂ a altas pressões**. Florianópolis: SC, 2010. 125p

GOMES, Antonio Taylon Aguiar. **Recristalização por efeito anti-solvente de uma nova molécula com potencial efeito cardiotônico utilizando o glicofurol como solvente**. 2014. 78 f. Monografia (Especialização) - Curso de Farmácia, Universidade Federal do Pará, Belém, 2014.

LEITE, Diego de Oliveira; PRADO, Rogério Junqueira. Espectroscopia no infravermelho: uma apresentação para o Ensino Médio. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, Cuiabá, v. 34, n. 2, p.1-9, jun. 2012.

MAZUR, Larize. **Aplicação de metodologia por Nir para determinação de metilxantinas presentes na erva-mate (*Ilex Paraguariensis*)**. 2012. 80 f. Setor de Tecnologia, Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2012.

PAVIA, Donald L. et al. **Introdução à espectroscopia**. São Paulo: Cengage Learning, 2012.

PAVIA, Donald L., Gary M. LAMPMAN, George S. KRITZ, Randall G. Engel (2006). **Introduction to Organic Laboratory Techniques** (4th Ed.) Thomson Brooks/Cole [S.l.] pp. 797–817.

PIRES, Damaris Aparecida de Cassia Krul et al. A Erva-Mate no Planalto Norte Catarinense: os compostos bioativos como variável na determinação das especificidades necessárias ao reconhecimento como Indicação Geográfica. **DRd-Desenvolvimento Regional em debate**, v. 6, n. 2, p. 207-227, 2016.

SHINGLER, A. J.; CARLTON, J. K.. Method for Separation and Determination of Theophyllin, Theobromine, and Caffeine. **Analytical Chemistry**, [s.l.], v. 31, n. 10, p.1679- 1680, out. 1959. American Chemical Society (ACS). Disponível em: <<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ac60154a040>>. Acesso em: 15 jun. 2016.

SILVA, Renata Moreira de. **Avaliação do efeito da erva mate (*Ilex paraguariensis*) no processo de neurovascularização em camundongos**. UCDB, Campo Grande: MS, 2015.

APÊNDICE

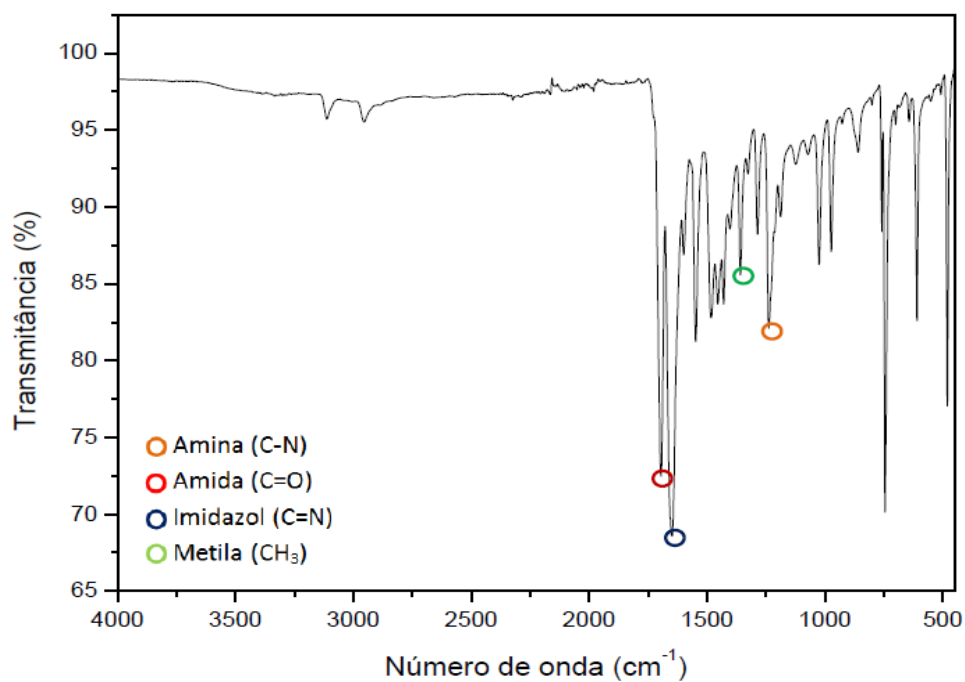


Figura 17: espectro de infravermelho da cafeína obtida da erva-mate de Canoinhas (amostra I)

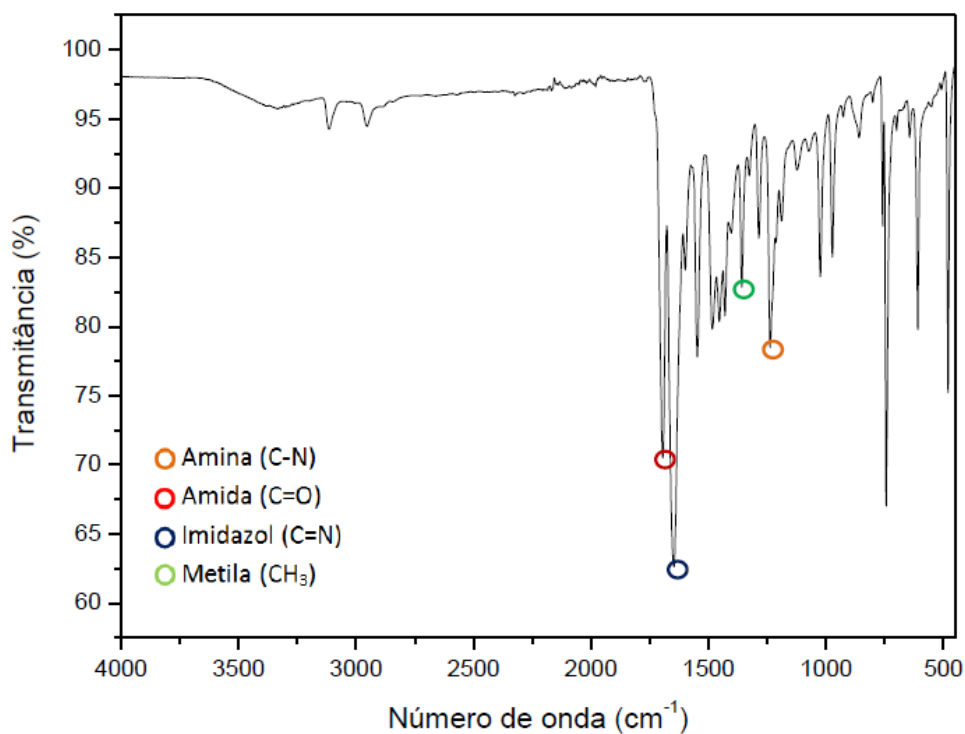


Figura 18: espectro de infravermelho da cafeína obtida da erva-mate de Canoinhas (amostra II)

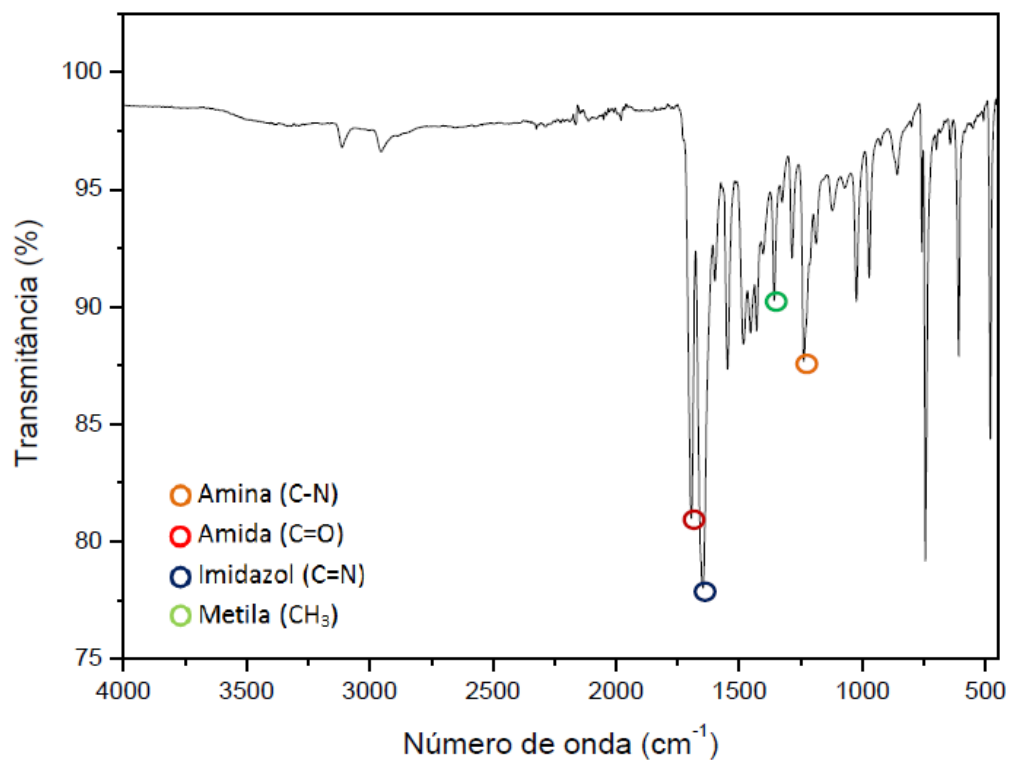


Figura 19: espectro de infravermelho da cafeína obtida da erva-mate de Catanduvras (amostra I)

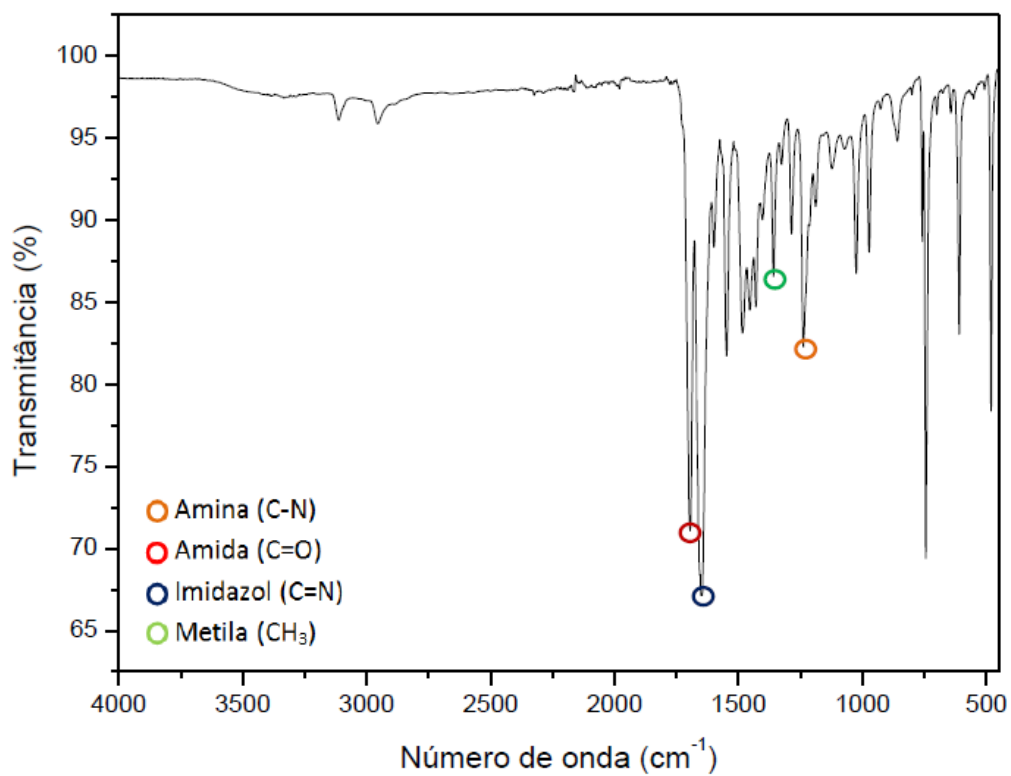


Figura 20: espectro de infravermelho da cafeína obtida da erva-mate de Catanduvras (amostra II)

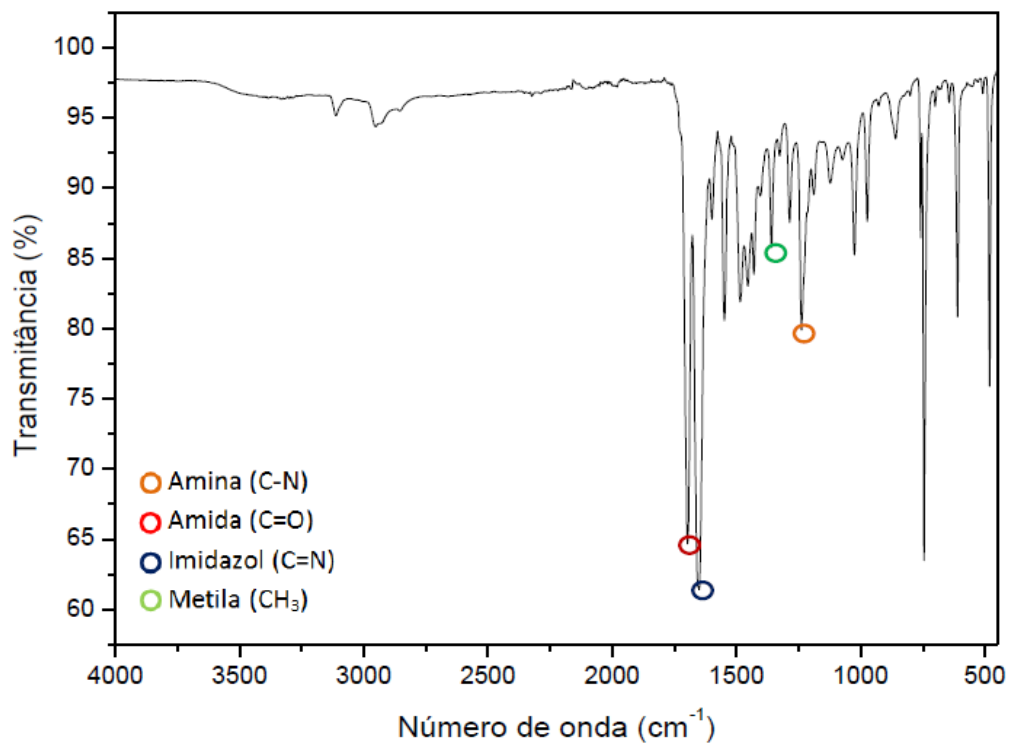


Figura 21: espectro de infravermelho da cafeína obtida da erva-mate de Itaiópolis (amostra I)

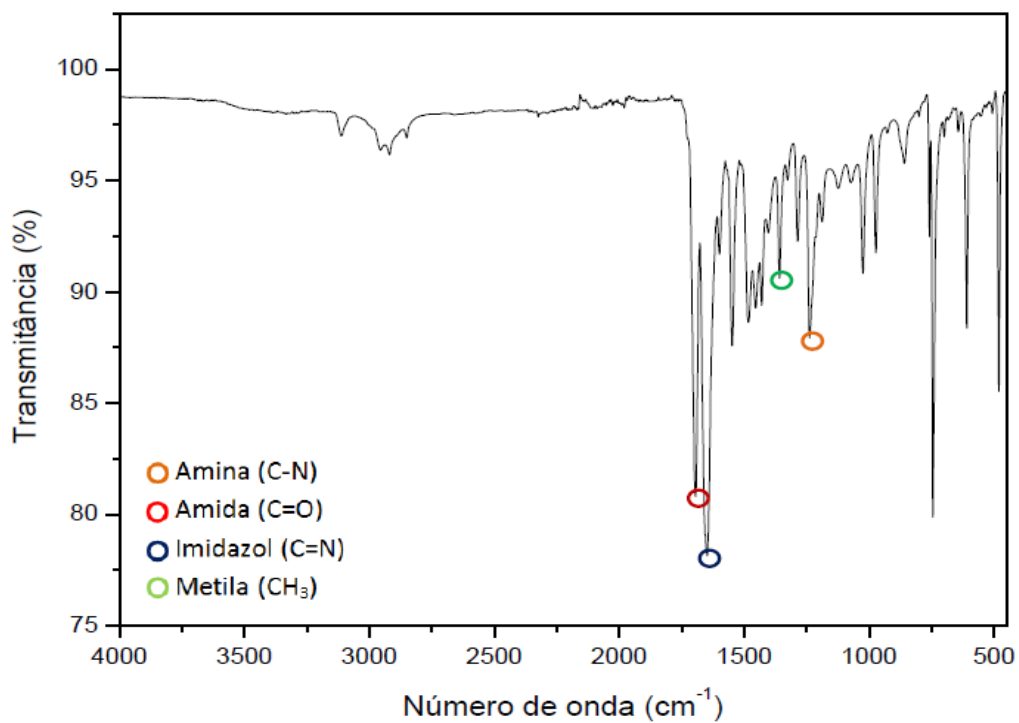


Figura 22: espectro de infravermelho da cafeína obtida da erva-mate de Itaiópolis (amostra II)

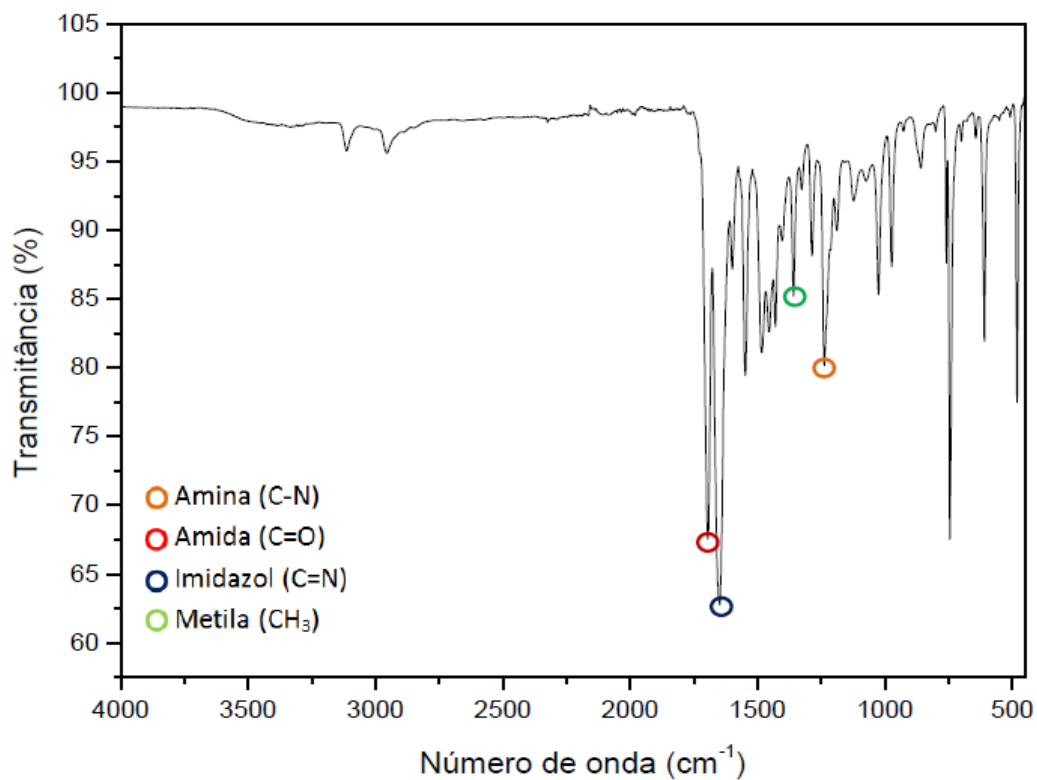


Figura 23: espectro de infravermelho da cafeína obtida da erva-mate de Jaborá (amostra I)

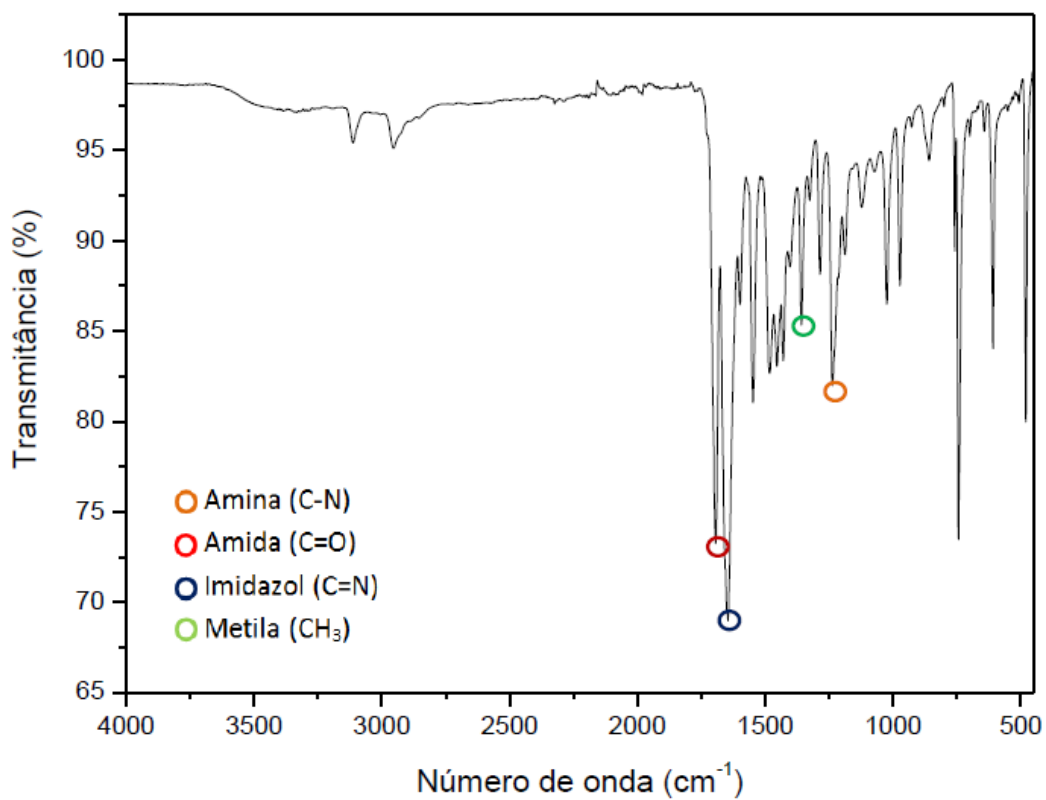


Figura 24: espectro de infravermelho da cafeína obtida da erva-mate de Jaborá (amostra II)

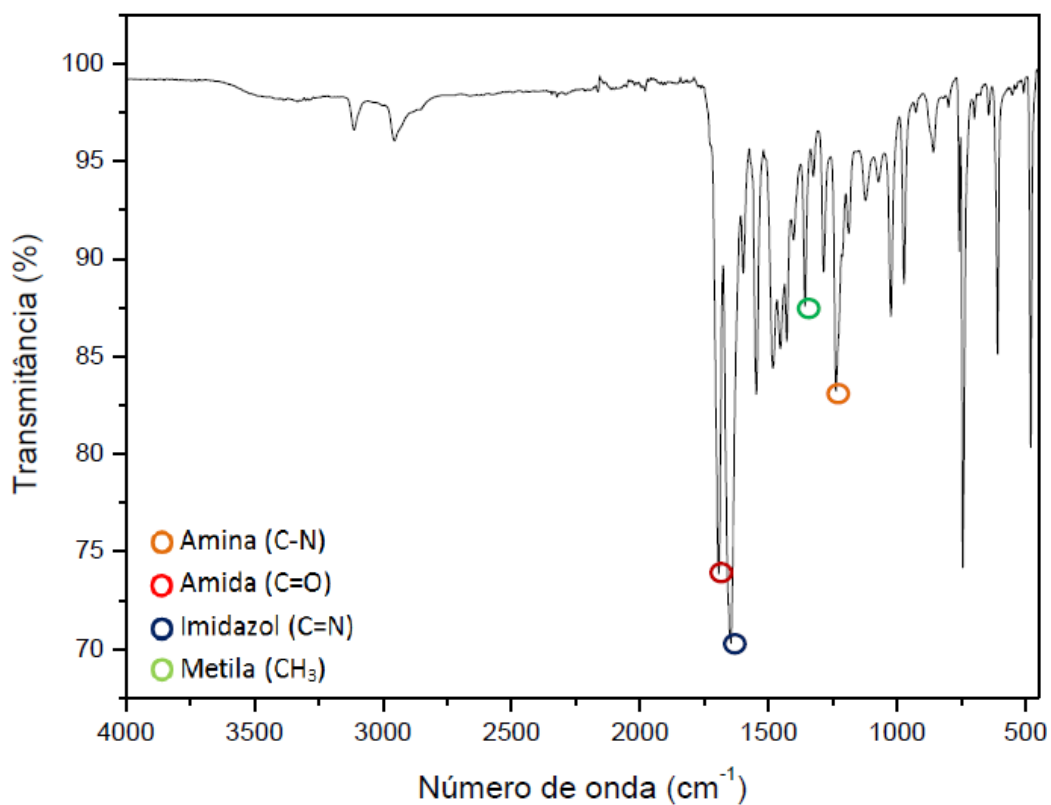


Figura 25: espectro de infravermelho da cafeína obtida da erva-mate de Rio das Antas (amostra I)

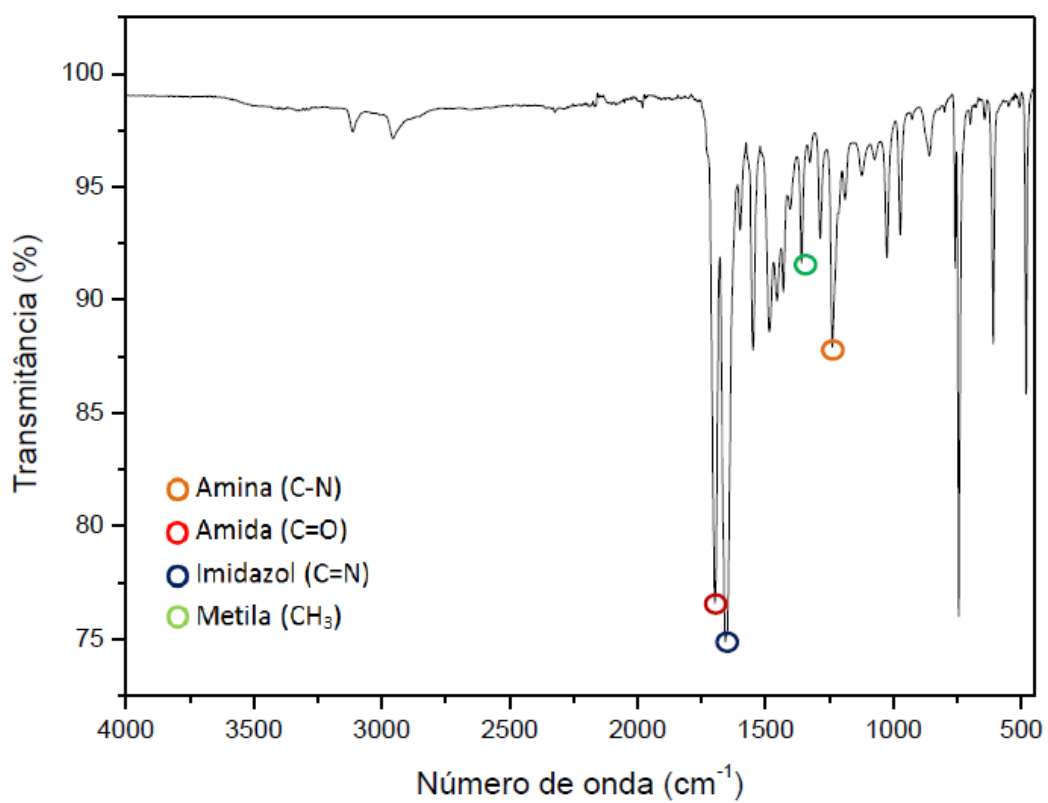


Figura 26: espectro de infravermelho da cafeína obtida da erva-mate de Rio das Antas (amostra II)