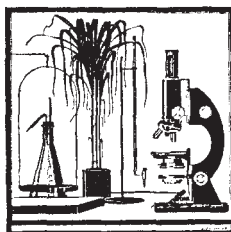


MINISTÉRIO DA AGRICULTURA
CENTRO NACIONAL DE ENSINO E PESQUISAS AGRONÔMICAS

BOLETIM
DO
INSTITUTO DE QUÍMICA AGRÍCOLA
N.º 6

**Nova técnica para estudo das estrias epicuticulares
de variedades do mate e seus adulterantes**

LUIZ GURGEL
QUÍMICO AGRÍCOLA



RIO DE JANEIRO

1 9 4 0

PUBLICAÇÕES DO INSTITUTO DE QUÍMICA AGRÍCOLA

M E M Ó R I A S

- N. 1 — LUIZ FARIA — Acerca da fiscalização e defesa comercial da manteiga.
- N. 2 — LUIZ GURGEL e TAYGOARA FLEURY DE AMORIM — Óleo de pau marfim (*Agonandra Brasiliensis*, Miers)
- DR. MARIO SARAIVA — Matéria gorda do murumurú (*Astrocaryum murumurú*, Mart.)
- LUIZ GURGEL e FERNANDO RAMOS — Óleo de anda-assú (*Johannesia Princeps*, Vell.)
- N. 3 — LUIZ GURGEL — Primeira Contribuição para o Estudo do Mate.
- N. 4 — LUIZ GURGEL — Segunda Contribuição para o Estudo do Mate.
- N. 5 — DRS. MARIO SARAIVA, ADMAR LOPES DA CRUZ e CARLOS DEL NEGRO — Contribuição para o estudo dos métodos de Mitscherlich, Wiessmann e Neubauer.

B O L E T I N S

- N. 1 — CARLOS DEL NEGRO — Instruções para Coleta de Amostras de Solo.
- N. 2 — CARLOS DEL NEGRO — Investigação Mineralógica dos Solos.
- N. 3 — CARLOS DEL NEGRO e LEANDRO VETTORI — Análise Espectrográfica Quantitativa pelo Método da Chama.
- N. 4 — LUIZ GURGEL — Caracteres microscópicos da farinha de “macambira” (*Encholirion spectabile*, Mart.)
- N. 5 — LUIZ GURGEL — Avaliação das porcentagens dos componentes de farinhas mistas.
- N. 6 — Nova técnica para o estudo das estrias epicuticulares de variedades do mate e seus adulterantes.

As observações que se seguem são frutos de antigos labores deste Instituto, por circunstâncias várias interrompidas em meio. Publicando-as agora, julga o Instituto desobrigar-se de mais uma parte de assunto que já fora objeto de vários estudos de seus técnicos e, assim, concorrer, novamente, para melhorar os métodos de controle da crêa mate comercial.

José Hasselmann,
Diretor

NOVA TÉCNICA PARA ESTUDO DAS ESTRIAS EPICUTICULARES DE VARIEDADES DO MATE E SEUS ADULTERANTES

Em monografia anteriormente publicada (1), chamou-se atenção para o inconveniente emprego da mistura de Schulze em estudos especiais da epiderme superior de folhas de *Ilex paraguariensis*, St. Hil., e espécies afins.

Salientou-se, outrossim, a desvantagem do uso de diafanizadores tais como amônia, hidrato de cloral, etc., por isso que estes reagentes modificam exageradamente as estrias epicuticulares, transformando-lhes profundamente o aspecto, espessura e forma. Efetivamente, quando se acompanha ao microscópio a ação do cloral sobre epidermes de *Ilex*, verifica-se que as estrias se vão entumescendo lentamente, acabando por perderem, ao fim de algum tempo, a forma e aspecto que lhes são peculiares; transfiguram-se, mesmo, quando se prolonga a ação do reagente, em aglomerados nos quais é impossível reconhecer verdadeiras estrias.

Em se usando o método de Schulze para destacar cutículas, obtem-se resultados que, embora não sejam perfeitos, prestam grandes serviços à caracterização do mate comercial e suas possíveis adulterações. Em apoio do que se acaba de asseverar, basta lembrar que a uniformidade do aspecto epicuticular, permitiu a Scala (2), a Lendner (3) e ao autor (4) deste trabalho, descreverem particularidades capazes de assegurar distinção entre espécies e variedades.

Não obstante, ao encetarem-se de novo estudos acerca da micrografia do *Ilex*, insistiu-se na procura da nova técnica que, permitindo destacar epidermes foliares, não lhes injuriasse demasiadamente a estrutura epicuticular. Tendo-se em vista este objetivo, ensaiaram-se várias substâncias, comparando-se-lhes os resultados obtidos. Após diversas tentativas infrutíferas, ou melhor, resultados iguais ou inferiores aos que se obtem empregando a mistura de Schulze, deparou-se com um método que corresponde sensivelmente às exigências acima estabelecidas.

1) — GURGEL, L. — Primeira contribuição para o estudo do mate — 1931.

2) — SCALA, A. — Contribución al conocimiento histológico de la yerba mate y sus falsificaciones — De la Revista del Museo de La Plata. — Tomo XXVI — 1921.

3) — LENDNER, A. — Contribución al estudio de las falsificaciones de la yerba mate — 1917.

4) — GURGEL, L. — Primeira contribuição para o estudo do mate — 1931.

Wisselingh (5), revendo trabalhos de Mangin acerca de membranas celulares vegetais, constatou que a glicerina, à temperatura de 200° ou pouco mais, destrói a pectina. Partindo-se destas observações, deliberou-se experimentá-la, afim de averiguar se também as estrias epidérmicas do *Ilex* sofrem, sob a ação deste reagente, alterações profundas em sua configuração. Evidentemente, carecem de importância para o problema em estudo, modificações químicas que não acarretem a solubilidade da cutina.

Para isso tomaram-se vários fragmentos de folhas de mate e, após ebulição em água até completa imbibição, fez-se agir durante alguns minutos glicerina a quente. A epiderme destacou-se facilmente e o exame microscópico demonstrou que as estrias nada sofreram. Deparou-se, entretanto, com aspecto inteiramente novo. As estrias, em vez de se apresentarem como pequenos segmentos isolados e mais ou menos ramificados, apareceram em fina rede de longos elementos contínuos.

Fica, portanto, provado que as imagens microscópicas de estrias epicuticulares de epidermes destacadas pelo processo de Schulze, não correspondem à realidade. Ora, como se sabe, vários pesquisadores salientaram, e com razão, a constância de configuração do conjunto de estrias em cada espécie e variedade de *Ilex*, embora tenham trabalhado com mistura de Schulze.

Esses fatos induzem a pensar na existência de pontos de menor resistência, de localização mais ou menos constante. Estudando-se cuidadosamente espessura e largura ao longo das estrias, chegou-se à conclusão que tanto uma como outra sofrem variações bruscas, criando, assim, regiões de menor resistência. Podem facilmente evidenciar-se as oscilações de espessura, empregando-se métodos microfotográficos. Além disso, alterações de índice de refração fazem supor, senão modificações na composição química, diferenças de condensação e, conseqüentemente, menor resistência à ação do reagente de Schulze. Com a própria glicerina, prolongando-se o tempo de aquecimento, fazem-se desaparecer as delgadas ramificações existentes nas extremidades das estrias. Deve notar-se ainda, que as zonas onde se percebem alterações de índice de refração, coincidem normalmente com as regiões de menor espessura.

A marcha adotada para destacar cutículas e preparar lâminas é a seguinte:

a) tomar alguns fragmentos de folha, juntar água destilada e aquecer em tubo de ensaio até completa imbibição;

b) eliminar totalmente a água, juntar glicerina e aquecer, tendo o cuidado de retirar o tubo do fogo toda vez que se atingir o ponto de ebulição;

5) -- WISSELINGH, VAN C. — Die Zellmembran, Handbuch der Pflanzen Anatomie, Lief 11. Band III/2 — 1924.

- c) repetir a operação precedente várias vezes, até notar que a epiderme começa a destacar-se;
- d) retirar os fragmentos de folha, lavá-los várias vezes em água;
- e) com auxílio de fino pincel, eliminar restos de tecidos ainda aderentes à face interna da epiderme;
- f) lavar novamente em água;
- g) montar em glicerina.

Montando-se as epidermes em glicerina, notou-se que certas regiões médias das estrias e, especialmente as últimas ramificações, desaparecem, ou, pelo menos se tornam pouco visíveis, indicando, portanto, que seus índices de refração são iguais ou muito próximo ao da glicerina. Por outro lado, este meio de montagem, tornando o preparado transparente, concorre para que se percebam, ao mesmo tempo, membranas anticlíneas de células epidérmicas e estrias epicuticulares. Nessas condições, certos detalhes da epicutícula apresentam-se confusos.

Para poder atingir-se as condições supra indicadas, procede-se da seguinte maneira: toma-se um fragmento de epiderme já limpo, coloca-se sobre lâmina e com papel de filtro, seca-se a face superior; noutra lâmina, perfeitamente desengordurada, deposita-se pequena gota de glicerina; com pínça de ponta fina retira-se cuidadosamente o fragmento de epiderme da primeira lâmina e estende-se sobre a glicerina, tendo-se cuidado de evitar contacto de líquido com a superfície superior do preparado; elimina-se o excesso de glicerina tocando com papel de filtro nos bordos do preparado; finalmente, cobre-se com lamínula.

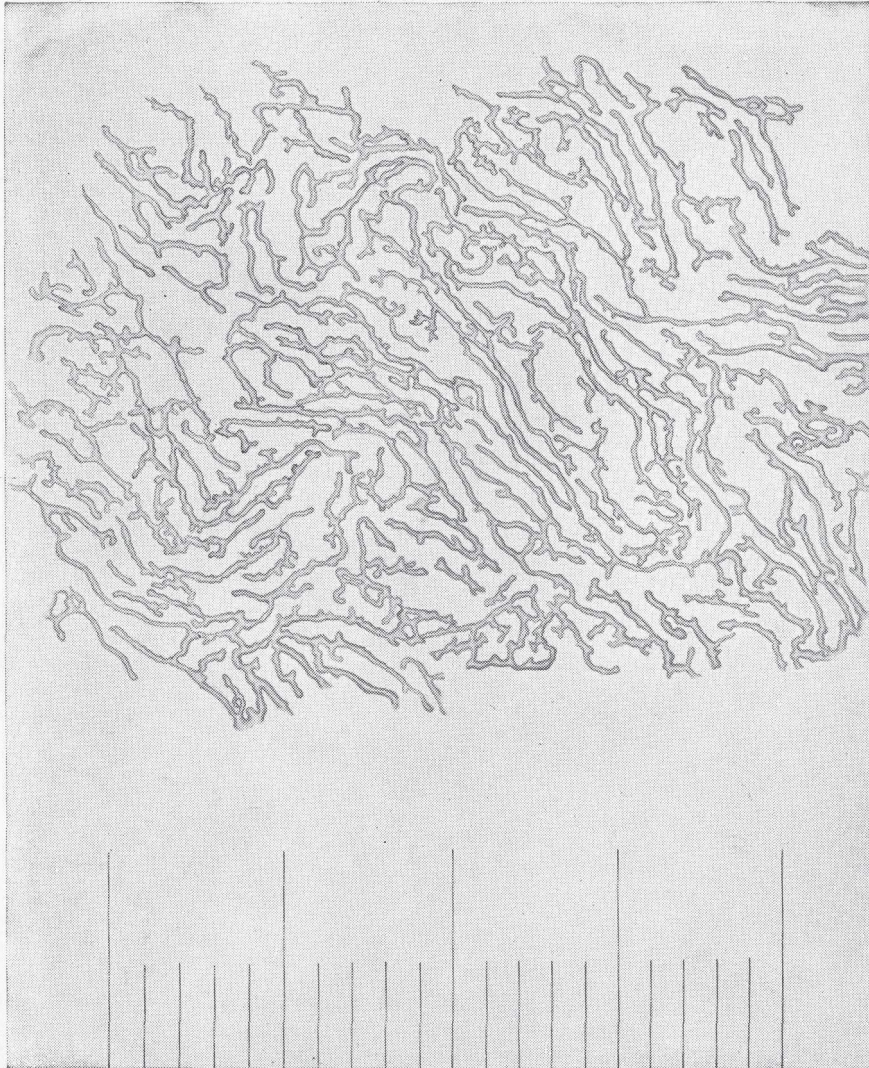
Assim procedendo, a face inferior do preparado fica imersa em glicerina que, como se sabe, tem índice de refração igual a 1,45; as estrias epicuticulares em contacto com o ar.

Os desenhos ns. 1, 2, 3 e 4 e os dos trabalhos acima indicados, permitem constatar a diferença entre as estrias de epidermes destacadas por um e outro processo.

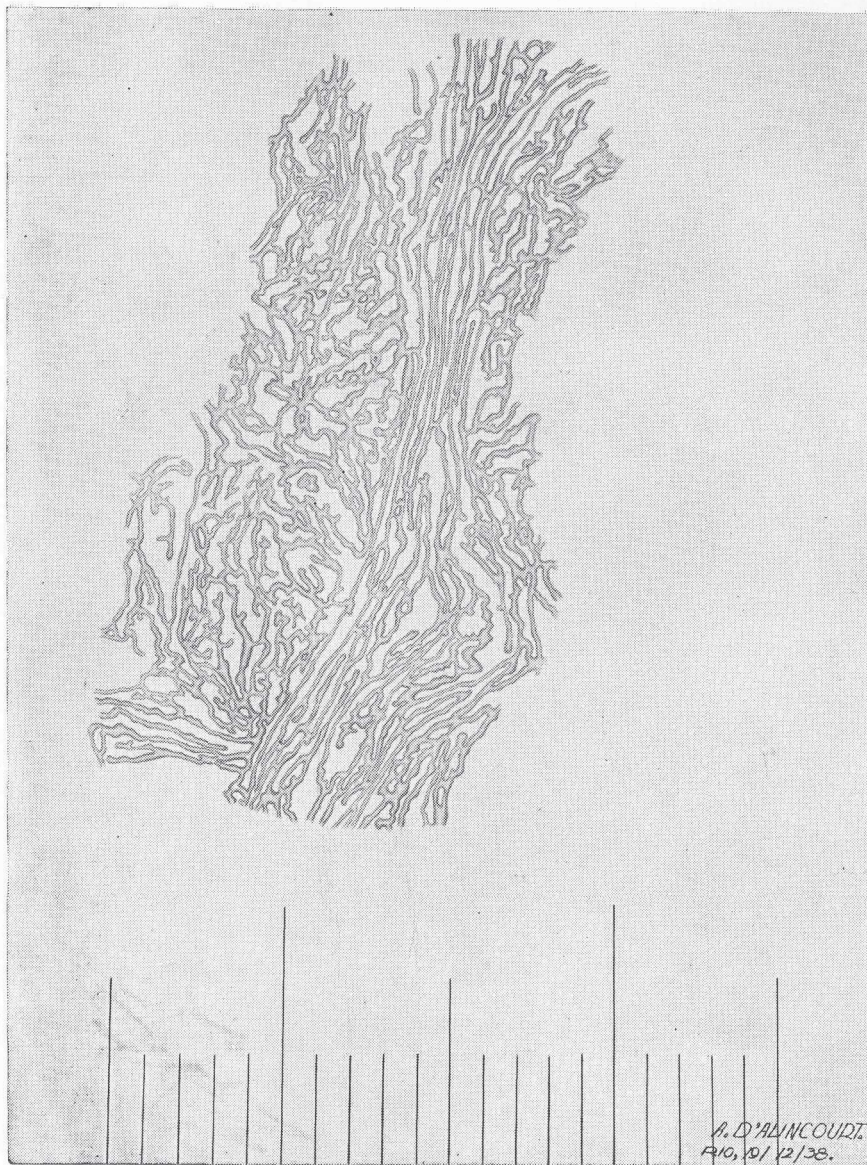
Possivelmente, em publicação futura, far-se-á estudo comparativo de estrias de diferentes espécies e variedades, usando o método que acaba de indicar-se.

BIBLIOGRAFIA

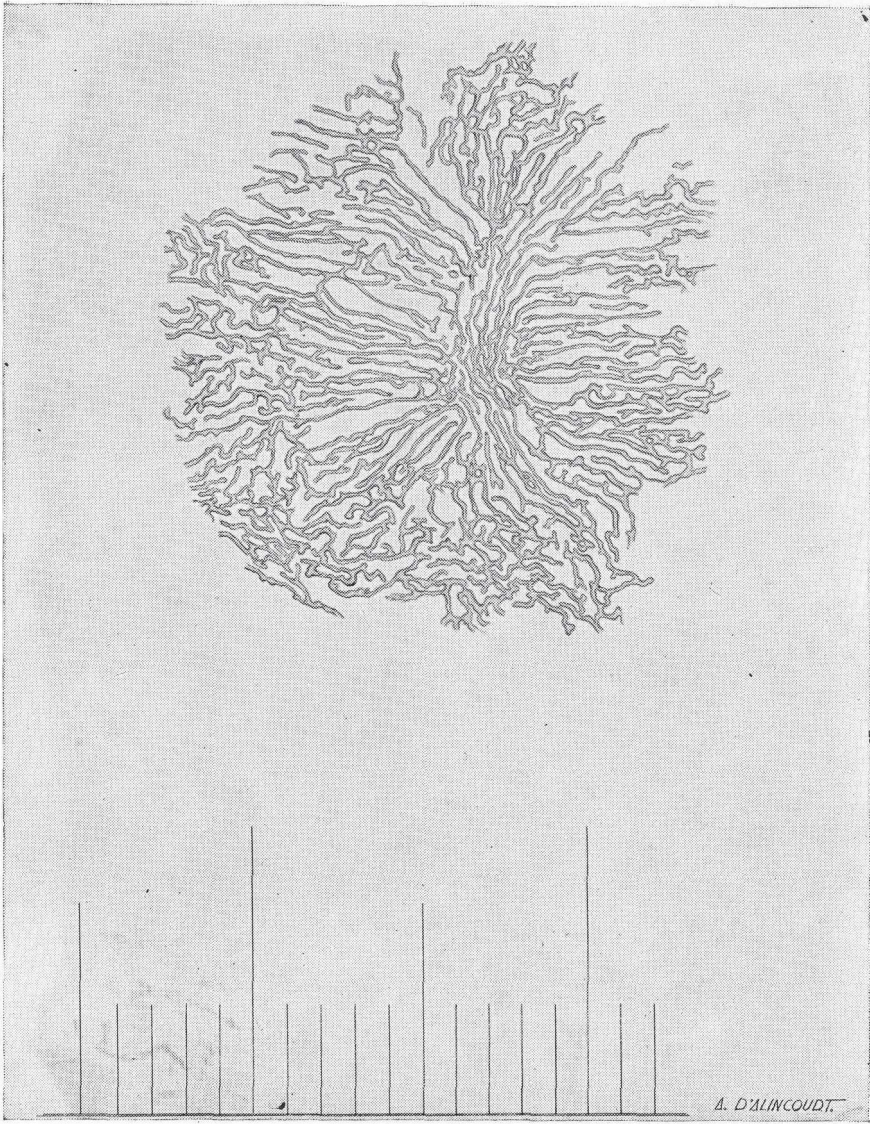
- GURGEL, L. — “Primeira contribuição para o estudo do mate” — 1931.
- LENDNER, A. — “Contribución al estudio de las falsificaciones de la yerba mate” — 1917.
- MOLISCH, H. — “Mikrochemie der Pflanze” — 1923.
- SCALA, A. — “Contribución al conocimiento histológico de la yerba mate y sus falsificaciones” — De la Revista del Museo de La Plata. — Tomo XXVI — 1921.
- STADE, G. und STANDE, H. — “Mikrophotographie” — 1939.
- WISSELINGH, VAN C. — Die Zellmembran, Handbuch der Pflanzenanatomie Lief 11, Band III/2 — 1924.



N.º 1



N.º 2



A. D'ALINCOUDT

N.º 3



N.º 4