

Artigo

Análise Multivariada do Perfil das Concentrações de Elementos Presentes na Erva-mate (*Ilex paraguariensis*) Comercializada no MERCOSUL

Marcelo, M. C. A.;* Pozebon, D.; Ferrão, M. F.

Rev. Virtual Quim., 2015, 7 (6), 2400-2421. Data de publicação na Web: 23 de setembro de 2015

<http://www.uff.br/rvq>

Multivariate Analysis of the Profile of Elements Concentrations in the Yerba Mate (*Ilex paraguariensis*) Marketed in the MERCOSUR

Abstract: The yerba mate (*Ilex paraguariensis*) is commonly used for preparation of stimulating drinks in South America. In this study, 24 elements were determined in different brands of yerba mate commercialized in Brazil, Argentina, Uruguay, and Paraguay. The element concentrations were determined using inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES) and inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). The element concentrations found were submitted to hierarchical cluster analysis (HCA) and principal component analysis (PCA), in order to identify the yerba mate according to the country of origin. The HCA revealed a clustering tendency by country of origin and distinct characteristics of some samples. The HCA also revealed the influence of some element in the yerba mate plant or their absorption by the plant. The results obtained by means of PCA corroborated with those of HCA, indicating that the form of yerba mate processing and the elements absorption by the plant must be responsible for the formation of the observed clusters.

Keywords: Yerba mate; chemometrics; HCA; PCA; exploratory analysis; MERCOSUR.

Resumo

A erva mate (*Ilex paraguariensis*) é uma planta comumente utilizada para o preparo de bebidas estimulantes na América do Sul. No presente estudo foram determinados 24 elementos em erva mate de diferentes marcas comercializadas em diferentes regiões do Brasil, Argentina, Uruguai e Paraguai. As concentrações dos elementos foram determinadas por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) e espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS). Foi realizada análise multivariada das concentrações dos elementos encontrados na erva mate com o objetivo de classificá-la segundo o país de procedência. Os dados obtidos foram submetidos à análise hierárquica por agrupamentos (HCA) e análise por componentes principais (PCA). A HCA mostrou uma tendência de agrupamento por país de origem e pelas características distintas de algumas amostras. A HCA também mostrou a influência do elemento na planta ou absorção do elemento pela mesma. Os resultados obtidos por ambos os métodos de análise multivariada foram concordantes, indicando que a forma de processamento da erva mate, a contribuição do elemento para a planta e respectiva quantidade absorvida devem ser os responsáveis pela formação dos grupos observados.

Palavras-chave: Erva mate; quimiometria; HCA; PCA; análise exploratória; MERCOSUL.

* Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Química, Av. Bento Gonçalves, 9500, CEP 91501-970, Porto Alegre-RS, Brasil.

✉ marcelocamarcelo@gmail.com

DOI: [10.5935/1984-6835.20150143](https://doi.org/10.5935/1984-6835.20150143)

Análise Multivariada do Perfil das Concentrações de Elementos Presentes na Erva-mate (*Ilex paraguariensis*) Comercializada no MERCOSUL

Marcelo Caetano A. Marcelo,^{*,a} Dirce Pozebon,^a Marco F. Ferrão^{a,b}

^a Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Química, Av. Bento Gonçalves, 9500, CEP 91501-970, Porto Alegre-RS, Brasil.

^b Universidade Estadual de Campinas, Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Bioanalítica, CEP 13083-970, Campinas-SP, Brasil.

* marcelocamarcelo@gmail.com

Recebido em 27 de abril de 2015. Aceito para publicação em 15 de setembro de 2015

1. Introdução

2. Materiais e Métodos

- 2.1. Instrumentação
- 2.2. Reagentes e Soluções
- 2.3. Preparo das Amostras
- 2.4. Análise Multivariada

3. Resultados e Discussão

- 3.1. Concentração dos Elementos
- 3.2. Análise Exploratória

4. Conclusão

1. Introdução

A erva mate (*Ilex paraguariensis*) é uma árvore nativa do sul da América do Sul, cuja incidência natural se estende em regiões do Brasil (Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Paraná, Rio Grande do Sul, Rio de Janeiro, Santa Catarina e São Paulo), da Argentina (Corrientes e Misiones), do Paraguai (Alto Parana, Amambay, Caaguazu, Canendiyu, Central, Guaira, Itapua, Misiones e San Pedro)¹. As folhas processadas da planta são

chamadas de erva mate, a qual é utilizada principalmente no preparo de infusões, popularmente chamadas de chimarrão quando se utiliza água quente no preparo da infusão e tererê quando é usada água fria. A erva mate também é utilizada para o preparo de chá de mate, cerveja, cremes e doces.^{2,3} Possui propriedades bioativas benéficas à saúde, prevenindo câncer e doenças cardiovasculares,^{4,5} além de propriedades anti-oxidantes⁶ e diuréticas.⁷ A erva mate tem grande importância econômica para os países produtores, tendo-se em vista que o consumo *per capita* de erva mate no Brasil e

no Uruguai, por exemplo, chegam a 1,2 kg /pessoa /ano e 8 kg /pessoa /ano, respectivamente.^{1,8}

A Análise Hierárquica por Agrupamentos (HCA) é utilizada para dividir um conjunto maior de observações ou amostras em pequenos grupos, cujas características sejam similares, evidenciando não somente as semelhanças, mas também as diferenças entre as amostras ou observações.⁹ Para a formação desses grupos, cada amostra é inicialmente considerada como um grupo e as distâncias, comumente a Euclidiana, entre todos os grupos são calculadas. A HCA é baseada no princípio de que amostras que são espacialmente mais próximas são similares e, portanto, podem ser consideradas pertencentes à mesma classe ou grupo.¹⁰ Desse modo, as amostras que possuem a menor distância entre si são consideradas um novo grupo e o procedimento se repete até que se obtenha apenas um agrupamento com todas as amostras. O resultado da HCA é apresentado na forma de um dendrograma, o qual permite evidenciar o agrupamento das amostras ou observações pela proximidade das ramificações. Sendo assim, as distâncias são apresentadas comumente de forma relativa.¹¹ Para a erva mate, por exemplo, a HCA foi capaz de identificar o produto comercial por país de origem mediante o perfil de reflexão na região do infravermelho próximo (NIR)^{12,13} e diferenciar as plantas da família *Ilex* através do perfil da composição das plantas obtido mediante espectrometria de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN de H^1).¹⁴

A Análise por Componentes Principais (PCA) é a base fundamental da maioria dos métodos de tratamento multivariado de dados. A PCA consiste na transformação da matriz dos dados, com o objetivo de rerepresentar as variações presentes em muitas variáveis. Na nova representação há um menor número de variáveis como consequência da combinação linear do conjunto inicial.¹⁵ Desta forma, ela permite a compressão dos dados de modo que as novas variáveis mais influentes, ou componentes

principais, maximizem a informação. Esta redução de dimensões torna a visualização mais direta e a sua análise subsequente mais acessível. Matematicamente, a PCA consiste na aproximação da matriz de dados ao produto de uma matriz de escores (T), contendo as novas coordenadas do sistema de eixos, e a transposta de uma matriz de pesos (P'), na qual os elementos de cada coluna correspondem aos coeficientes das combinações das variáveis originais, sendo estas duas matrizes ortogonais entre si. Um pressuposto para a escolha das matrizes **T** e **P'** é a maximização da variância explicada nas primeiras componentes.¹⁶ Para a erva mate, a PCA foi capaz de separar o produto comercial por país de origem, mediante o perfil dos espectros obtidos por reflexão na região do infravermelho próximo^{12,13} e também através do perfil da composição de compostos voláteis, obtidos mediante a espectrometria de massa acoplada à cromatografia gasosa.¹

A técnica de espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) é amplamente utilizada para análise elementar, sendo assim reconhecida como uma das mais eficientes para determinação da concentração de elementos químicos. Isto se deve a sua boa precisão e exatidão, sensibilidade, capacidade de análise multielementar e ampla faixa linear dinâmica da curva de calibração. A técnica de espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) também se baseia na utilização do ICP, mas com o intuito em gerar com eficiência íons de carga unitária de espécies elementares. Similarmente ao ICP OES, a técnica de ICP-MS também é multielementar e apresenta boa precisão e exatidão, grande sensibilidade e capacidade de medir isótopos. Como desvantagem da técnica ICP-MS, cita-se o efeito de matriz. Para contornar tal efeito, faz-se necessário a completa mineralização da amostra analisada.^{17,18}

O presente estudo teve como objetivo realizar uma análise exploratória das concentrações de elementos em amostras de erva mate comercializadas em países produtores de erva mate no âmbito do

MERCOSUL.

2. Materiais e Métodos

2.1. Instrumentação

Para a quantificação dos elementos investigados foram utilizados os espectrômetros de ICP-OES Varian/Vista MPX (Austrália) e de ICP MS ELAN DRC II/Perkin Elmer/SCIEX (Canadá) ICP-MS. O espectrômetro de ICP-MS foi operado no seu modo padrão. Na Tabela 1 são resumidos os principais parâmetros instrumentais, as linhas espectrais e os isótopos monitorados.

Tabela 1. Parâmetros instrumentais utilizados para a análise elementar mediante ICP OES e ICP-MS, linhas espectrais e isótopos monitorados

Parâmetros	ICP OES	ICP-MS
Potência	1300 W	1300 W
Gás do Plasma	15 L min ⁻¹	15 L min ⁻¹
Gás Auxiliar	2,25 L min ⁻¹	1,2 L min ⁻¹
Gás de Nebulização	230 kPa	1,0 L min ⁻¹
Vazão da Amostra	1,5 a 2,5 mL min ⁻¹	1,2 mL min ⁻¹
Nebulizador	Ultrassônico (CETAC, 5000); Concêntrico (Glass Expansion)	MicroMist MCN-600
Câmara de Nebulização	Sturman-Masters (VARIAN)	Ciclônica
Comprimento de Onda (nm)	Al (396,153), Ba (233,527), Ca (422,673), Cu (324,754), Fe (238,204), K (769,897), Mg (279,553), Mn (257,610), P (213,617), Sr (407,771), Zn (213,857)	-
Isótopo	-	⁷ Li, ⁹ Be, ⁴⁷ Ti, ⁵¹ V, ⁵³ Cr, ⁵⁸ Ni, ⁵⁹ Co, ⁷⁵ As, ⁸² Se, ⁸⁵ Rb, ⁹⁸ Mo, ¹⁰⁷ Ag, ¹¹² Cd, ¹²¹ Sb, ¹³⁹ La, ¹⁴⁰ Ce, ²⁰⁸ Pb, ²⁰⁹ Bi, ²³⁸ U
Vista de observação do Plasma	Radial	-
Calibração	Externa	Externa

2.2. Reagentes e Soluções

Ácido nítrico (Merck), purificado mediante destilação abaixo do ponto de ebulição (em destilador Duopor/Milestone, Itália), foi

utilizado no preparo das soluções e amostras. A água utilizada durante todo o estudo foi purificada mediante um sistema Milli-Q (Millipore, EUA). As soluções de calibração foram preparadas em HNO₃ 5% (v/v), a partir das seguintes soluções estoque: a) 10 mg.L⁻¹

(Plasma Cal SCP33MS Science, Canadá) para Li, Be, Ti, V, Cr, Ni, Co, As, Se, Rb, Mo, Ag, Cd, Sb, La, Ce, Pb, Bi e U; 1000 mg.L⁻¹ (SpecSol, Brasil) para Al, Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Sr e Zn; e c) 1000 mg.L⁻¹ (Titrisol, Merck) para P. As curvas de calibração variaram de 0,05 a 10 µg.L⁻¹, dependendo do elemento a ser determinado mediante ICP-MS. Para os elementos determinados por ICP OES as faixas de concentração das curvas de calibração foram: 10 a 100 µg L⁻¹ de Sr, Zn, Ba e Cu; 50 a 1500 µg L⁻¹ de Fe, Al e Mn; e 1,0 a 8,0 mg L⁻¹ de K, Ca, Mg e P.

2.3. Preparo das Amostras

Cinquenta e quatro amostras de erva mate comercial (19 do Brasil, 14 da Argentina, 14 do Paraguai e 7 do Uruguai) foram obtidas em mercados locais de seus respectivos países. Uma alíquota de cada amostra (cerca de 50 g) foi moída em moinho criogênico (Spex 6750, Freezer Mill, EUA) e digerida segundo o procedimento a seguir: 200 mg da amostra foram pesados e transferidos para um frasco de politetrafluoretileno (PTFE) (Tecnal, Brasil), aos quais foram acrescentados 3 mL de HNO₃. A mistura foi deixada em repouso durante cerca de 16 h. A seguir, o frasco foi fechado e levado a um bloco de aquecimento (Tecnal, Brasil) para a mistura aquecer por 4h a 90 °C. Depois desta etapa, a mistura foi acrescida de 1,5 mL de H₂O₂ e aquecida novamente a 160 °C por 4 h. A solução resultante foi deixada esfriar à temperatura ambiente e, então, transferida quantitativamente para um frasco de polipropileno onde o volume final da solução foi ajustado para 20 mL. Por fim, esta solução foi diluída 10 ou 25 vezes, dependendo do elemento a ser quantificado. Cada amostra foi digerida em triplicata, acompanhada de três réplicas do branco.

2.4. Parâmetros de Mérito e Exatidão

Para avaliar a exatidão do método, foi realizado teste de recuperação do analito,

sendo a análise também realizada em triplicata. Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram calculados seguindo-se os critérios 3s e 10s, respectivamente, ou seja, três e dez vezes o desvio padrão (s) de 10 medições consecutivas do analito no branco (b), somado à intensidade do branco (LD = 3s + b; LQ = 10s + b). A recuperação do analito, o LD e o LQ são resumidos na Tabela 2. Como pode ser observada nesta tabela, a recuperação do analito foi boa, evidenciando que não houve perdas do mesmo na etapa de decomposição e efeitos de matriz na etapa de medição.

2.5. Análise Multivariada

As análises multivariadas (HCA e PCA) e o pré-tratamento dos dados foram realizados mediante o *software* Chemostat.¹⁹ Antes da análise multivariada, os dados foram autoescalados com o intuito de remover a influência da ordem de grandeza das concentrações dos elementos. O perfil de covariância foi obtido utilizando-se a plataforma PLS_toolbox 7.9.3 (Eigenvector Research Inc., EUA).

3. Resultados e Discussão

3.1. Concentração dos Elementos

As concentrações dos elementos investigados na erva mate são apresentadas nas Tabelas 3 e 4. Pode-se observar na Tabela 4 que em algumas amostras de erva mate as concentrações de Pb e Cd estavam acima do valor máximo permitido para As, Pb e Cd. Segundo a legislação vigente,²⁰ as concentrações máximas permitidas para As, Pb e Cd são 0,6 µg g⁻¹; 0,6 µg.g⁻¹ e 0,4 µg.g⁻¹, respectivamente. As amostras com concentrações mais altas de Cd e Pb eram, na sua maioria, de origem brasileira.

Tabela 2. Recuperação do analito adicionado à erva mate antes da sua decomposição, limite de detecção (LD) e quantificação (LQ). Os elementos escritos em *itálico* foram determinados por ICP-MS, enquanto que os demais foram determinados por ICP OES. A análise foi realizada em triplicata (n = 3), sendo o analito determinado na solução da amostra digerida

Analito	Adicionado, ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Encontrado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Desvio Padrão ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Presente na amostra ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperação (%)	LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)
K	2000	7870	53	5489	95	511	1703
Ca	2000	4892	21	2662	111	30,1	100
Mg	2000	3969	11	1631	109	262	873
Al	500	589	4,5	115	95	46,1	153
Fe	500	551	2,3	89	92	30,9	102
Mn	500	731	2,1	272	92	1,64	5,47
Ba	75	131	3,1	63	91	1,86	6,20
Cu	75	83	0,8	12	95	3,18	10,60
Sr	75	123	2,0	54	92	3,39	11,30
Zn	75	191	4,6	113	104	2,32	7,73
P	2000	5897	25	4072	91	166	553
<i>Li</i>	10	10,1	0,01	0,11	100	0,003	0,009
<i>Be</i>	10	10,9	0,34	0,02	109	0,005	0,016
<i>V</i>	10	10,5	0,50	0,22	103	0,189	0,629
<i>Cr</i>	10	10,2	0,07	0,40	98,3	0,026	0,086
<i>Co</i>	10	10,1	0,49	0,16	99,4	0,029	0,096
<i>Ni</i>	10	11,9	0,62	1,95	100	0,001	0,003
<i>As</i>	10	11,8	0,79	0,16	116	0,021	0,069
<i>Rb</i>	10	25,7	2,34	15,2	105	0,025	0,083
<i>Mo</i>	10	9,95	0,57	0,11	98,3	0,006	0,019
<i>Cd</i>	10	11,0	0,52	0,46	106	0,005	0,016
<i>La</i>	10	10,4	0,58	0,26	101	0,026	0,086
<i>Ce</i>	10	10,4	0,46	0,22	102	0,001	0,003
<i>Pb</i>	10	10,5	0,61	0,76	97,3	0,029	0,096
<i>U</i>	10	9,67	0,25	0,01	96,6	0,0006	0,002

Tabela 3. Concentrações ($\mu\text{g g}^{-1}$) dos elementos nas amostras de erva mate analisadas, determinadas por ICP OES. A: Argentina; B: Brasil; P: Paraguai; U: Uruguai. A análise foi realizada em triplicata (n = 3)

	K	Ca	Mg	Al	Fe	Mn	P	Sr	Cu	Ba	Zn
A01	11940	6761	4832	422	231	1502	3223	31,6	11,7	77,0	67,0
A02	11764	7663	5232	384	194	1728	3360	34,9	12,1	85,5	84,2
A03	11171	7390	3531	394	288	1121	3409	34,9	11,5	48,9	78,4
A04	12923	7346	4878	343	173	1380	3486	36,8	11,5	78,7	86,1
A05	12285	8020	5515	303	224	1147	3467	41,7	17,0	89,7	97,2
A06	7600	6956	6627	375	217	1182	2829	49,0	13,3	140	50,7
A07	11455	7738	5328	397	139	1824	3372	41,1	13,3	96,3	91,5
A08	12286	8403	4807	344	178	1265	3856	33,9	11,5	61,3	107
A09	7111	7357	6818	350	178	1501	3339	49,6	11,5	153	52,0
A10	12285	7134	4471	372	198	1334	3495	33,7	9,94	61,1	104
A11	11500	8218	5338	378	179	1671	3593	40,2	10,1	94,1	80,5
A12	10434	6094	3581	339	244	1412	3420	27,2	14,7	52,9	58,0
A13	10393	6513	3626	270	183	1153	3518	24,8	14,4	53,0	77,5
A14	9075	5532	3160	190	128	939	3542	25,9	14,5	53,3	78,0
B01	13040	6064	3772	242	195	582	5043	27,8	12,1	58,0	43,7
B02	16763	5423	3566	352	173	955	4781	25,2	13,5	56,3	49,5
B03	13658	6157	3692	378	213	1676	3184	29,8	13,8	55,0	56,9
B04	13070	5799	3867	310	133	940	3412	30,0	15,4	61,2	44,7
B05	14772	5733	3263	349	211	1131	3664	24,9	13,3	48,3	37,3
B06	14758	6865	3841	256	222	955	3609	36,7	12,8	62,3	69,2
B07	14032	6651	4410	291	96,6	705	3919	39,5	9,45	61,4	37,9
B08	12631	6221	4203	251	82,1	554	3983	36,5	9,26	51,6	36,8
B09	10889	6029	3374	285	96,6	951	3126	34,0	10,9	45,4	36,3
B10	9739	5867	4353	333	219	941	4175	24,7	9,77	55,0	41,5
B11	11005	6283	3938	235	160	1022	3335	30,1	9,39	47,2	36,6
B12	8218	5258	4686	276	95,2	658	3134	39,2	8,71	63,5	27,0
B13	10985	6204	4105	355	208	1405	3044	33,0	10,8	46,6	27,0

Continuação da Tabela 3.

	K	Ca	Mg	Al	Fe	Mn	P	Sr	Cu	Ba	Zn
B14	10911	5891	4467	280	132	717	3335	34,2	9,08	50,2	27,6
B15	11396	6477	3638	195	96,5	1831	2827	33,6	12,8	53,6	77,5
B16	10363	6215	4452	260	125	1044	3383	28,9	9,99	50,4	32,6
B17	12264	6183	4365	360	157	934	3590	33,4	9,42	52,8	38,3
B18	10845	6212	3778	192	160	560	4222	31,4	15,0	61,3	68,5
B19	8845	7037	5016	323	151	1194	3273	32,9	12,0	53,2	51,4
P01	12430	6268	4281	293	149	588	3235	34,9	8,63	48,4	88,9
P02	11222	6651	3965	434	383	753	3214	35,9	8,99	49,8	76,7
P03	12492	6493	4156	210	101	533	2925	35,9	7,70	50,4	118
P04	11141	6325	3855	379	361	794	3063	36,6	14,2	54,1	86,3
P05	11678	7132	3589	284	273	631	2953	40,5	11,7	40,8	72,2
P06	12888	6770	5078	402	294	726	3080	31,6	11,3	40,0	55,5
P07	13290	7070	4667	388	170	826	2878	34,5	12,0	57,0	49,7
P08	14229	6967	4937	693	270	986	3144	29,8	11,7	48,9	74,4
P09	14960	7085	4832	341	121	461	3090	40,2	11,5	56,5	68,1
P10	14918	7470	4963	423	207	859	2989	33,3	11,2	55,1	71,7
P11	15851	7366	4726	367	220	811	2984	33,4	11,8	62,1	69,2
P12	15757	7971	5583	504	343	1014	2958	30,3	12,1	48,9	76,6
P13	14523	6735	4779	393	177	533	2129	35,8	11,0	44,6	41,8
P14	15692	6958	4953	267	94,4	708	2876	34,2	12,1	71,1	133
U01	14685	8821	5742	658	555	1501	4725	38,6	12,9	67,5	97,9
U02	12755	7235	5815	575	203	1291	2383	41,4	11,0	56,3	35,5
U03	13537	8496	5865	506	353	1560	4244	33,2	13,7	61,4	84,5
U04	13550	7557	5324	471	361	1252	4247	32,4	12,9	64,8	63,1
U05	14067	7123	5466	494	226	1368	3290	41,3	13,1	56,3	37,0
U06	12723	7371	5715	524	225	1669	3065	41,6	12,5	51,7	38,5
U07	12352	7012	5095	533	305	1478	3644	39,4	17,3	55,2	43,2

Tabela 4. Concentrações ($\mu\text{g g}^{-1}$) dos elementos nas amostras de erva mate analisadas, determinadas por ICP- MS. A: Argentina; B: Brasil; P: Paraguai; U: Uruguai. A análise foi realizada em triplicata (n = 3)

Amostra	Li	Be	Ti	V	Cr	Ni	Co	As	Rb	Mo	Cd	La	Ce	Pb	U
A01	80,6	56,2	9655	474	1165	4049	319	42,0	25689	53,5	251	784	315	183	10,1
A02	72,6	31,1	5818	281	712	2465	202	29,3	17207	32,5	234	303	205	186	3,67
A03	76,5	15,3	9020	394	687	2054	119	46,5	13773	89,6	304	263	278	294	4,03
A04	112	< LD	5198	212	620	2536	160	35,2	19813	47,6	250	300	213	341	1,62
A05	41,4	15,3	5272	242	636	2166	145	32,2	15456	44,8	254	284	215	133	1,82
A06	46,4	19,7	4673	279	912	2148	270	29,5	16546	32,0	315	258	252	257	1,78
A07	90,5	26,8	4387	169	645	2644	208	39,0	13975	56,3	453	279	197	131	0,63
A08	57,6	27,7	5271	261	472	1975	89,5	31,4	11071	39,6	309	195	189	99,6	1,69
A09	50,0	19,7	4192	181	555	2651	335	31,4	20109	19,6	143	238	216	173	2,12
A10	39,1	24,1	4988	242	776	2735	140	44,3	13654	41,5	482	316	201	95,4	1,55
A11	59,1	17,5	4327	223	611	2354	202	53,5	13350	89,3	792	267	204	450	18,5
A12	81,0	24,8	25486	252	679	4428	222	68,6	40457	71,9	464	475	395	359	5,50
A13	88,9	23,4	9739	376	559	2788	247	49,7	21668	53,4	530	410	276	149	2,01
A14	41,3	13,6	8394	248	559	3095	269	49,3	23050	47,4	446	361	225	256	1,27
B01	494	13,9	8908	166	696	1275	49,0	49,5	27673	128	703	106	201	656	1,75
B02	74,7	18,5	9819	219	861	1374	75,5	52,5	57451	156	669	144	237	405	3,11
B03	< LD	< LD	6163	295	389	2219	69,8	15,0	24143	35,3	286	71,0	172	397	2,79
B04	< LD	< LD	5014	95,0	132	995	14,3	14,8	22421	41,2	230	73,7	126	123	2,08
B05	29,1	< LD	3693	141	173	961	18,4	18,3	27906	51,7	306	57,0	113	85	2,45
B06	31,6	< LD	4991	278	214	1239	47,2	14,0	22658	35,2	491	116	125	122	2,16
B07	< LD	42,3	6824	147	269	556	76,0	40,9	54492	143	944	95,4	125	336	3,29
B08	< LD	< LD	10060	175	376	1095	91,6	55,7	38983	104	678	109	319	453	3,62
B09	11,0	< LD	10845	201	289	4018	93,9	53,4	26131	38,6	389	127	218	873	1,96
B10	42,7	12,5	19325	763	430	3359	417	121	26945	58,0	695	314	363	248	1,00
B11	22,6	< LD	12507	379	362	3207	197	86,6	35215	56,6	677	132	185	899	2,75
B12	< LD	28,2	8574	229	250	3437	90,3	58,4	26870	77,2	295	101	182	312	2,21
B13	22,9	< LD	17722	625	258	4042	201	81,6	27866	23,5	242	176	310	565	3,59

Continuação da Tabela 4.

Amostra	Li	Be	Ti	V	Cr	Ni	Co	As	Rb	Mo	Cd	La	Ce	Pb	U
B14	23,1	12,5	8776	269	460	3000	132	75,1	31270	81,3	225	104	214	354	2,78
B15	< LD	< LD	8938	142	130	3246	182	49,5	33506	14,1	414	94,5	130	180	1,58
B16	28,9	< LD	11568	352	233	3301	164	34,9	33493	41,0	312	158	226	278	2,87
B17	84,3	< LD	13455	331	567	2892	192	75,4	39864	77,2	518	218	151	461	6,84
B18	29,4	< LD	9715	252	575	2117	158	25,4	23635	31,7	869	319	202	555	1,38
B19	< LD	< LD	11542	302	363	2922	31,5	37,3	20870	71,3	393	195	238	428	1,94
P01	63,0	16,7	11962	490	691	3733	319	75,1	27643	90,8	618	683	367	198	4,54
P02	115	15,7	30072	1297	876	1552	361	98,4	21640	104	442	677	666	329	12,6
P03	108	32,9	8490	345	566	3534	149	62,0	21710	96,8	553	516	312	187	4,13
P04	131	17,7	17835	839	788	4706	281	88,3	27585	88,3	184	627	419	354	6,89
P05	128	21,9	11668	598	823	3803	254	87,6	23483	77,6	336	1279	632	258	4,86
P06	148	31,3	18334	792	821	4368	182	87,4	24559	95,2	354	605	387	227	5,67
P07	24,1	30,2	9853	426	371	2547	200	46,2	26242	43,2	385	230	339	399	4,45
P08	270	27,7	11841	509	416	2859	254	52,0	15820	29,3	279	398	585	178	3,20
P09	193	23,6	6131	231	216	2935	142	33,4	19737	97,2	442	218	327	219	3,00
P10	154	28,8	9176	451	322	3547	238	39,7	22379	70,3	426	339	335	342	1,49
P11	110	27,3	10235	489	214	2507	196	33,1	24773	32,5	491	263	343	250	0,42
P12	34,9	18,8	15722	786	509	3087	208	63,5	18124	51,2	368	300	384	302	2,87
P13	124	25,9	6425	242	307	2518	115	53,3	20894	48,3	259	155	351	537	3,22
P14	138	23,8	5254	127	129	3023	279	20,0	16113	23,9	387	230	234	119	0,42
U01	67,0	13,6	12873	1160	846	2287	264	129	20766	82,1	367	434	564	229	9,67
U02	67,8	10,9	5646	292	851	3549	33,7	64,3	20730	96,6	173	174	354	669	6,47
U03	47,5	< LD	9180	564	759	2638	146	42,3	13803	66,7	330	276	295	133	7,12
U04	38,1	9,5	9035	408	569	2008	80,1	38,8	14228	86,2	267	185	254	182	3,10
U05	30,7	< LD	6461	240	584	2246	28,6	44,3	20160	66,4	208	103	202	267	6,23
U06	35,9	< LD	7956	334	694	3057	41,8	43,0	20718	91,6	329	138	316	379	1,81
U07	127	11,0	14071	557	564	3923	114	72,1	26402	134	394	199	378	344	5,75

3.2. Análise Exploratória

3.2.1. Análise Hierárquica por Agrupamentos (HCA)

Para análise multivariada, o conjunto de dados foi dividido em dois grupos: (a) concentrações dos elementos determinados por ICP OES (matriz 54 x 11) e (b) concentrações dos elementos determinados por ambas as técnicas (matriz 54 x 24). Os dois conjuntos de dados foram submetidos à

HCA com o intuito de verificar a similaridade entre as amostras. A Figura 1 apresenta o dendrograma para as concentrações dos elementos determinados mediante ICP OES (a) e para as concentrações dos elementos determinados mediante as duas técnicas (b). Para verificar a relação entre cada variável na HCA e as correlações entre as variáveis, foi realizada a HCA da matriz transposta autoescalada para cada conjunto de dados (matrizes 11 x 54 e 24 x 54) cujos dendrogramas são mostrados nas Figuras 2 e 3.

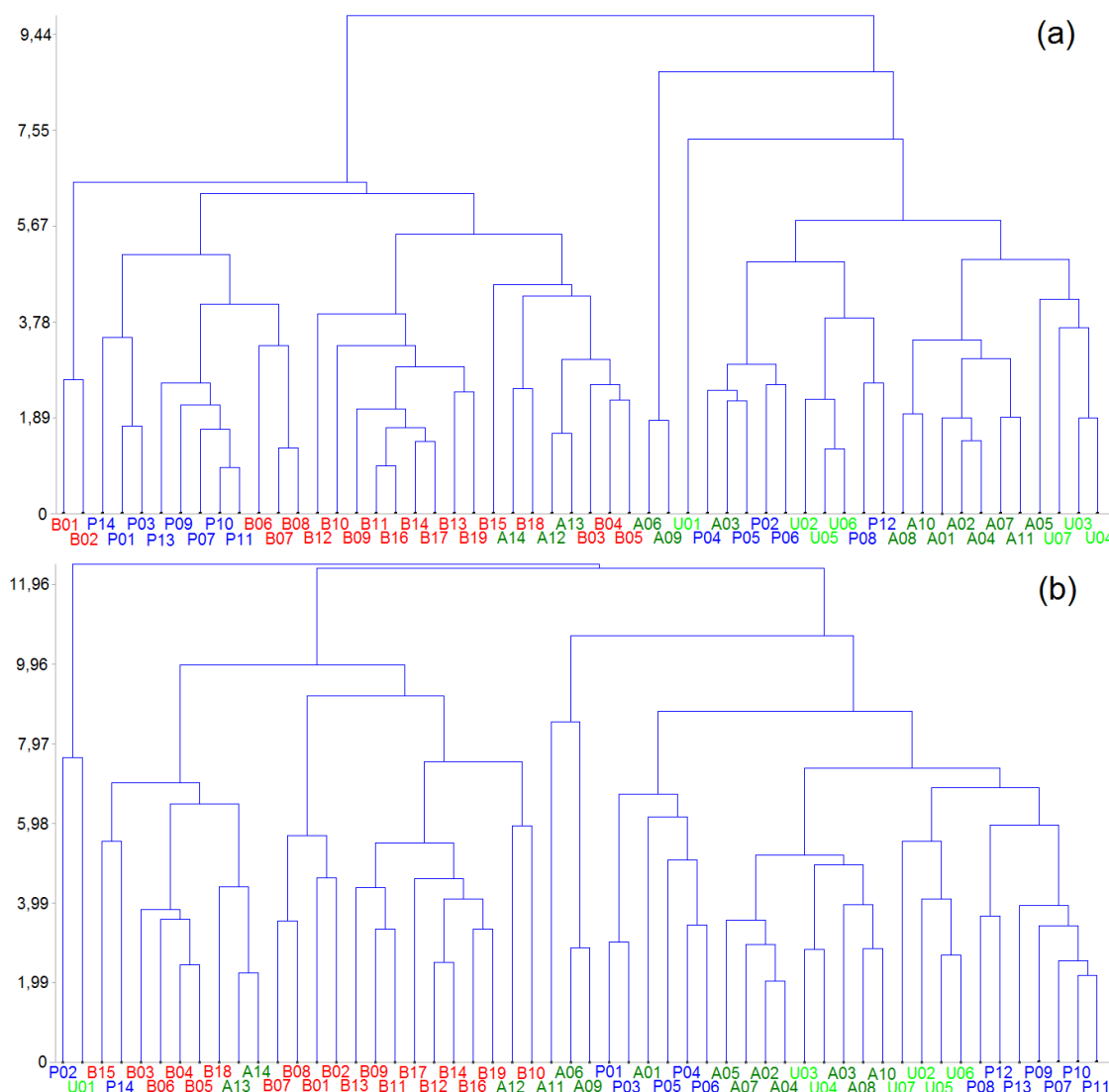


Figura 1. Dendrograma das amostras de erva mate segundo a concentração dos elementos determinados mediante ICP OES (a) e por ambas as técnicas (b). A = Argentina, B = Brasil, P = Paraguai e U = Uruguai

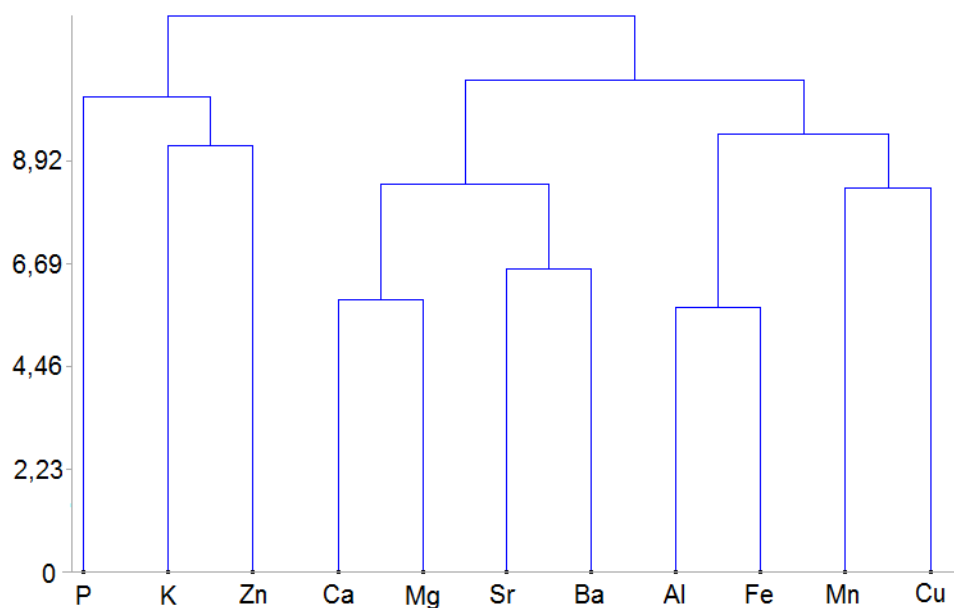


Figura 2. Dendrograma da matriz transposta das concentrações dos elementos (variáveis) determinados por ICP OES

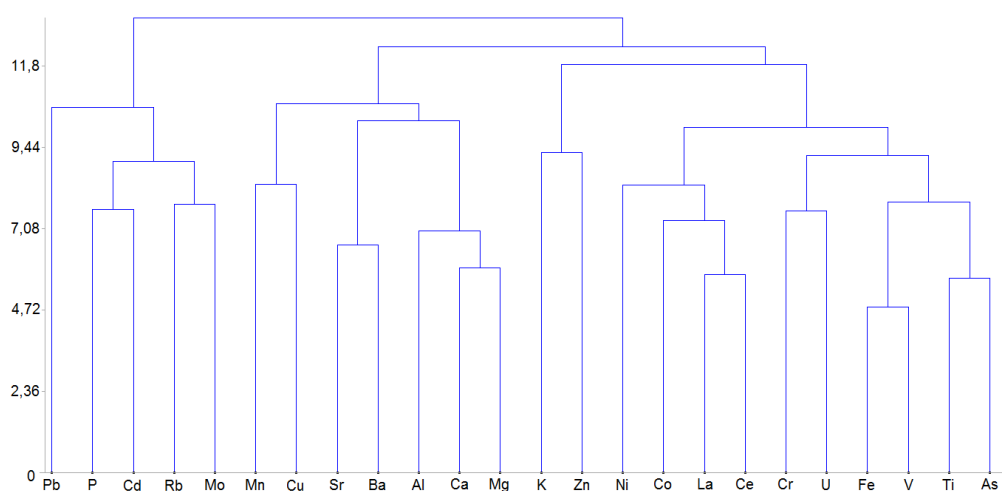


Figura 3. Dendrograma da matriz transposta das concentrações dos elementos (variáveis) determinados por ICP OES e ICP-MS

É possível observar na Figura 1(a) a formação de dois grandes grupos, um deles composto majoritariamente por amostras brasileiras. Além disso, algumas amostras argentinas têm um perfil de concentração similar ao das amostras brasileiras. Inclusive, a distância relativa é menor do que 25% da distância total em relação a estas amostras

argentinas, o que demonstra uma grande similaridade com as amostras brasileiras. O outro grupo que pode ser identificado na Figura 1(a) é composto por amostras de origem uruguaia, argentina e paraguaia. Apenas um agrupamento com distância relativa menor do que 40% é inteiramente de um único país (Argentina). Em ambos os

grupos algumas amostras tem características distintas, ou seja, apresentam uma grande dissimilaridade em relação às demais, indicando que essas amostras possuem singularidades com respeito ao perfil das concentrações dos elementos investigados. Estas amostras distintas formam três subgrupos separados de seu agrupamento; B01 e B02 formam um subgrupo, A06 e A09 outro subgrupo e a U01, outro. Na Figura 1(b) observam-se três grupos principais. O primeiro é formado pelas amostras U01 e P02, revelando a singularidade dessas duas amostras, conforme discutido para a Figura 1(a), para a amostra U01. O segundo grupo é composto majoritariamente por amostras brasileiras, uma paraguaia e três argentinas (as mesmas três amostras argentinas que mostraram similaridade com as brasileiras segundo a Figura 1(a)). Por fim, o terceiro grupo é composto pelas demais amostras argentinas, uruguaias e paraguaias. Três agrupamentos com quatro ou mais amostras de um único país são observados. Embora exista tendência à formação de agrupamentos por país,²¹ em algumas amostras os perfis das concentrações dos elementos estudados são significativamente diferentes da média para o respectivo país. Quando são considerados todos os elementos investigados (Figura 1 (b)), observa-se que as amostras brasileiras apresentam uma maior similaridade entre si em relação às amostras dos demais países.

Com respeito à HCA da matriz transposta, na Figura 2 observa-se a formação de três agrupamentos principais. O primeiro agrupamento é formado por três variáveis (P, K e Zn). O P é um macronutriente para plantas e, de acordo com a Figura 2, possui a maior dissimilaridade entre os outros elementos estudados, o que pode ser devido a sua concentração na erva estar diretamente relacionada com a utilização de fertilizantes. A maior parte do P naturalmente presente no solo está indisponível para a planta, mas a absorção do mesmo está relacionada com as formas de cultivo e fertilização do solo. O Zn e K, apesar de suas concentrações estarem em ordem de grandeza diferentes, ambos são elementos

essenciais para as plantas, possuindo maior correlação entre si do que com o P e demais elementos.^{22,23} Em outro grupo estão os elementos Ca, Mg, Sr e Ba. O Ca e o Mg também possuem maior correlação entre si do que com o Sr e Ba. Isto pode ser devido ao uso de corretivos da acidez do solo e ao fato do Ca e Mg serem mais facilmente lixiviados do solo do que os demais elementos, além de serem naturalmente mais abundantes e absorvidos pela planta.²⁴ O Sr e Ba, elementos também com boa mobilidade no solo, não são essências como o Ca e Mg, porém são absorvidos pela planta pela mesma rota do Ca e, portanto, pode ser este o motivo do agrupamento do Ba com o Ca e Mg.^{24,25} O terceiro grupo é formado por elementos considerados micronutrientes (Fe, Mn e Cu) e o Al (este elemento benéfico para as plantas). Na Figura 2, observa-se que o Fe e Al possuem maior similaridade e isto pode ser devido às propriedades do solo; estes dois elementos são encontrados na forma de óxidos em solos mais ácidos.

Em relação ao processo de produção da erva mate, este pode ocasionar aumento da concentração da maioria dos elementos, seja pela diminuição da massa através da queima das folhas ou pela contaminação através do contato com a fumaça ou vapor resultante da queima de material vegetal utilizado como combustível.²⁶ Portanto, o processo de produção da erva mate pode favorecer o agrupamento por local de processamento da erva mate, tendo-se em vista que o processamento pode variar de uma região para outra.

Para o conjunto de dados em que todas as variáveis (concentrações dos elementos) foram consideradas na construção do dendrograma (Figura 3), houve a formação de somente dois agrupamentos. O primeiro deles é subdividido em dois subgrupos: o Pb num grupo e o P, Cd, Rb e Mo no outro. Para a planta, Pb e Cd são tóxicos e absorvidos pela planta por rotas metabólicas distintas daquelas de outros elementos, mediante ligação preferenciais com o N ou S no caso chumbo e oxigênio no caso do Cd.^{27,28} As fontes de Cd e Pb podem ser emissão de

partículas provenientes de automóveis em estradas movimentadas ou fábricas localizadas nas proximidades da região do plantio da erva mate e, principalmente, o uso de fertilizantes.²⁹ O Mo é um micronutriente para planta, favorecendo a assimilação do N.²⁹ O Rb é assimilado pela mesma rota do K, quando este está deficiente no solo.³⁰ Estes elementos estão agrupados não somente devido as suas características de absorção ou funcionalidade metabólica, mas também por estarem presentes em concentração mais alta nas amostras brasileiras, conforme observado adiante pela PCA (seção 3.2.2). Já o segundo agrupamento é subdividido em três subgrupos: (a) Mn, Cu, Sr, Ba, Al, Ca e Mg (b) K, Zn e (c) Ni, Co, La, Ce, Cr, U, Fe, V, Ti, As. Neste caso, os elementos parecem não se agrupar segundo a essencialidade ou toxicidade para a planta, mas como consequência da forma de cultivo e processamento da erva mate. Embora as distâncias relativas sejam grandes, indicando

que há pouca ou nenhuma correlação, alguns elementos revelaram similaridades: As e Ti, V e Fe, Ce e La, Ca e Mg, Ba e Sr, provavelmente por causa da similar função ou absorção pela planta.

A Figura 4 mostra as correlações de todas as variáveis entre si. Observa-se que a maioria das concentrações dos elementos possui pouca ou nenhuma correlação. No entanto, aqueles elementos que mostraram similaridade através da Figura 3 apresentam correlação positiva, o que corrobora com os resultados apresentados pela HCA. Outras correlações são evidenciadas, como a do Fe e Al, também observada na Figura 2. Por outro lado, a correlação negativa entre Ca e Rb não foi evidenciada pela HCA. O Ca está relacionado com a correção da acidez do solo e a disponibilidade de K e Rb no solo tem relação com o pH do mesmo, podendo este favorecer a absorção dos elementos pela planta.²⁹

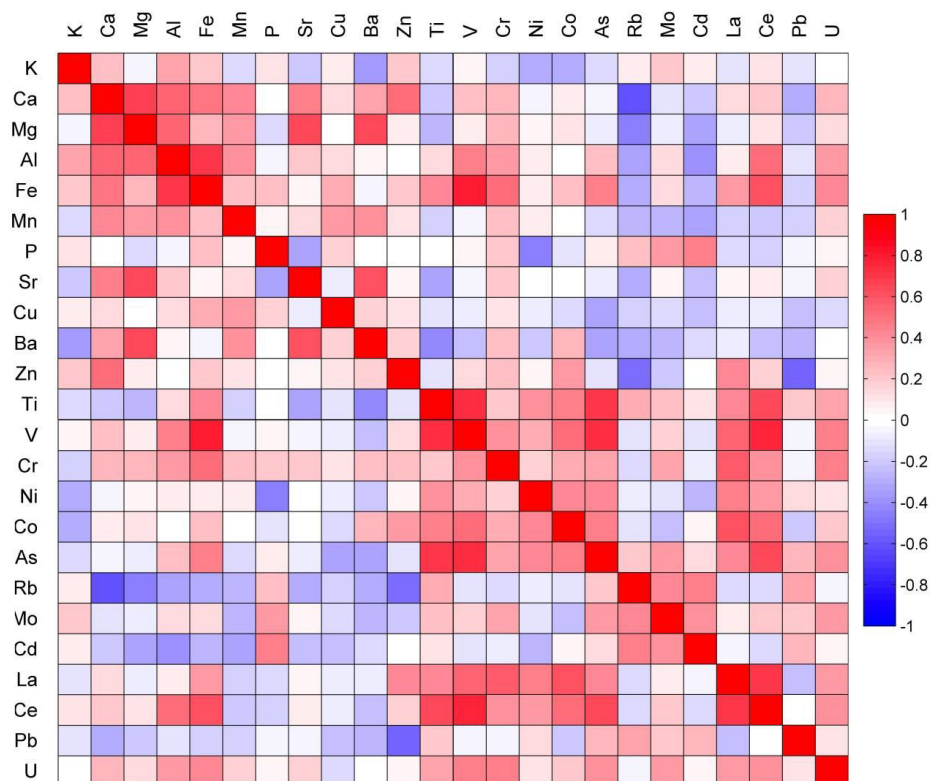


Figura 4. Correlação das concentrações dos elementos encontrados na erva mate determinados por ICP OES e ICP-MS. A escala de cores à direita indica correlação positiva (+1, vermelho) ou negativa (-1, azul)

3.2.2. Análise por Componentes Principais (PCA)

A Figura 5 ilustra os escores da PCA das concentrações dos elementos determinados por ICP OES, para PC1 x PC2 (a), PC1 x PC3 (b) e PC2 x PC3 (c). Na Figura 6 são apresentados os pesos de cada variável em cada componente principal para o mesmo conjunto de dados. As amostras argentinas e paraguaias distribuem-se em ambos os lados da primeira componente principal (PC1), com 32,13% da variância. Enquanto isso, as amostras brasileiras apresentam-se apenas no lado negativo e as uruguaias, no lado positivo. Em comparação com os resultados obtidos mediante a HCA do mesmo conjunto de dados, em que as amostras A12, A13 e A14 mostraram maior similaridade com as amostras brasileiras, o mesmo comportamento é observado na PCA, de acordo com a Figura 5(a), sendo as únicas amostras argentinas com escores negativos para a PC1. A maioria das amostras argentinas, destacando-se as amostras A12, A13 e A14, era proveniente da região nordeste do país (das províncias Corrientes e Misiones), que faz fronteira com o Brasil. Porém, somente o local de cultivo não é suficiente para classificação, tendo-se em vista que as diferentes etapas do processo de produção da erva mate (secagem, sapeco e envelhecimento) também influenciam na concentração dos elementos no produto final. Salienta-se que em alguns rótulos da erva mate não havia informações sobre o

local de cultivo, mas somente da indústria onde a erva mate foi processada. As amostras U01, A06 e A09 foram aquelas com o maior escore positivo para a PC1. De acordo com a Figura 5(a), nas amostras brasileiras as concentrações médias de elementos nutrientes e/ou minoritários eram menores do que as encontradas nas amostras dos demais países. Desse modo, as amostras argentinas e paraguaias possuem um perfil bastante heterogêneo em relação a PC1, enquanto que as amostras uruguaias possuem uma baixa concentração de P e concentrações mais altas dos demais elementos, os quais mostram escores positivos em relação a PC1. A segunda componente principal (PC2), com 19,00% da variância, não realça nenhuma distinção entre os países, todavia evidencia algumas particularidades, como as amostras A06 e a A09, conforme já evidenciado pela HCA. As amostras B12 e U01 também são destacadas quando observamos apenas a PC2. Os elementos Ba e Sr são responsáveis pela distinção das amostras A06, A09 e B12, os quais possuem escores positivos na PC2. A maior concentração de K e as baixas concentrações de Ba e Sr são responsáveis pela separação da amostra U01. Por fim, a terceira componente principal (PC3), com 12,59% da variância, distingue as amostras paraguaias daquelas dos demais países, com exceção da amostra P04. Essa separação é provavelmente devida a uma maior concentração de K, Mg, Al, Sr e Ca e uma menor concentração de P, Cu, Mn e Ba (Figuras 5 e 6).

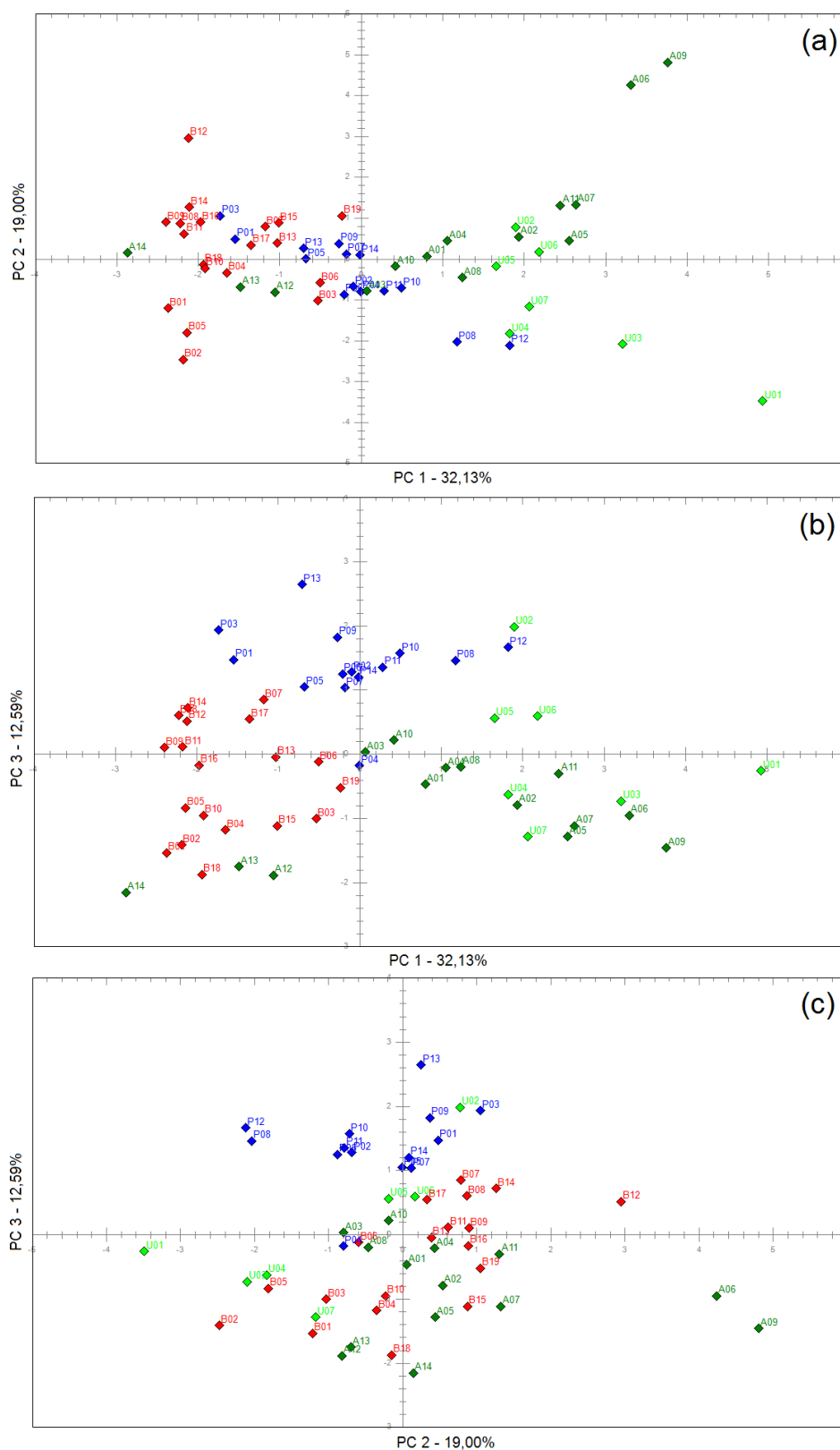


Figura 5. Escores no espaço da (a) PC1 x PC2, (b) PC1 x PC3 e (c) PC2 x PC3 das concentrações dos elementos em amostras de erva-mate determinados por ICP OES. A = Argentina, B = Brasil, P = Paraguai e U = Uruguai

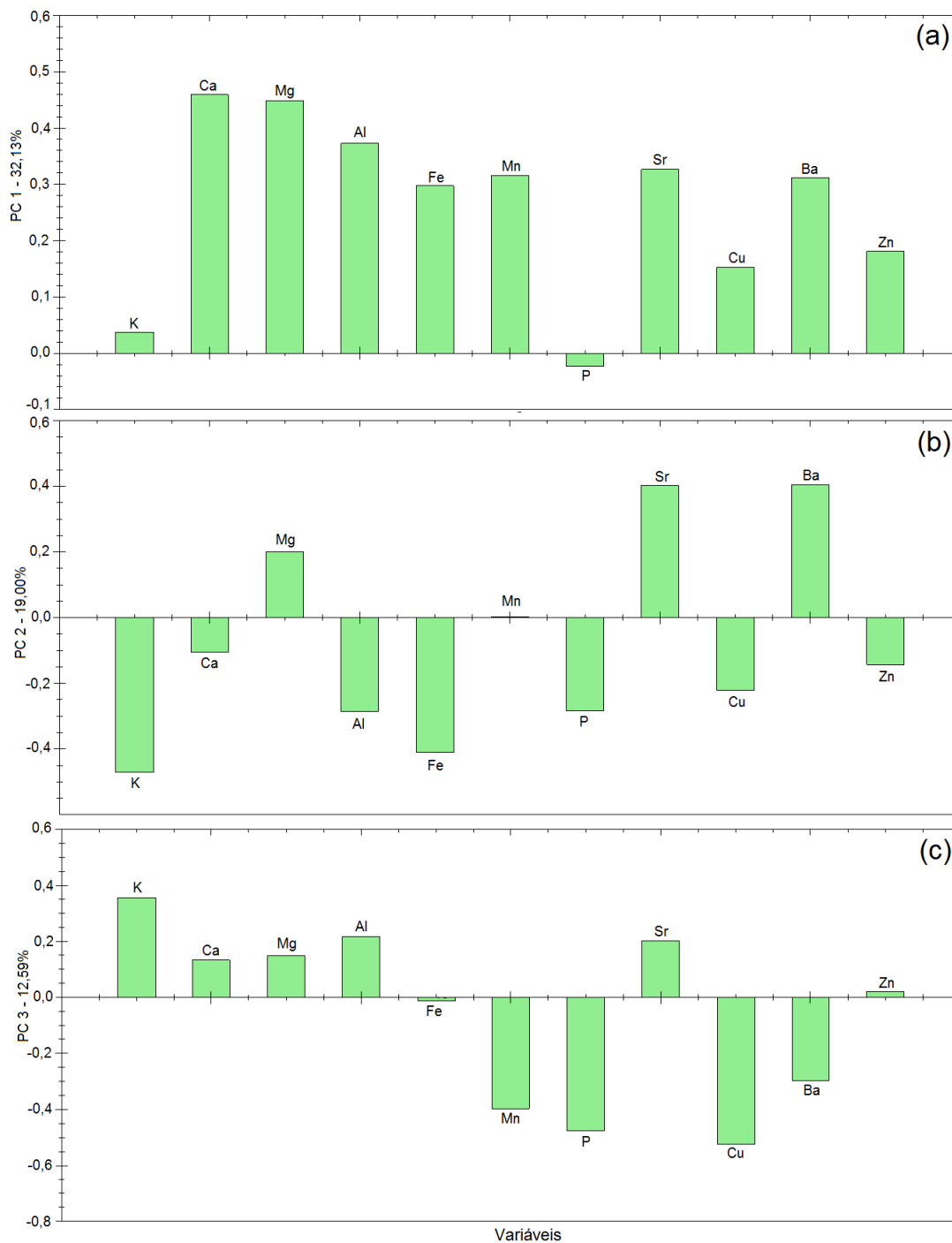


Figura 6. Pesos das concentrações dos elementos (variáveis) determinadas por ICP OES para (a) PC1, (b) PC2 e (c) PC3

Os escores da PCA das concentrações dos dois grupos de elementos são mostrados na Figura 7, enquanto que os pesos são mostrados na Figura 8. De acordo com a Figura 7, a primeira componente principal, com 23,69% da variância, destaca as amostras U01 e P02, com o elevado escore negativo, o mesmo observado na HCA (Figura 3). As amostras uruguaias com, exceção da amostra U05, apresentam escores negativos na PC1, enquanto que as amostras brasileiras, com exceção das amostras B13 e B10, apresentam escores positivos. Novamente é observado que as amostras paraguaias e argentinas distribuem-se mais homoganeamente em relação à PC1. Em relação à PC2, com 18,99% da variância, as amostras uruguaias juntamente com as argentinas apresentam escores positivos, exceto as amostras A12, A13 e A14, confirmando os resultados obtidos pela HCA. As amostras paraguaias também se distribuem mais homoganeamente na PC2. A maioria das amostras brasileiras, por outro lado, mostram escores negativos. A PC3, com 10,56% da variância, apresenta uma

tendência de separação das amostras uruguaias das paraguaias. A maioria das amostras argentinas apresentam escores negativos, com exceção das amostras A06 e A09. As amostras brasileiras se distribuem tanto positivamente quanto negativamente ao longo do eixo da PC3. Em relação aos pesos, as concentrações de Pb, Cd e Rb tem um peso maior na PC1, ou seja, as amostras brasileiras são aquelas em que as concentrações destes elementos é maior do que nas amostras dos demais países. Em relação à PC2, as concentrações mais altas de Ca, Mg, Al, Fe, Mn, Sr, Cu, Ba, Zn e Cr caracterizam as amostras uruguaias e a maioria das argentinas, com escores positivos, enquanto que as concentrações dos demais elementos caracterizam as amostras com escores negativos. A PC3 está relacionada com a baixa concentração de La, Co e Ni nas amostras paraguaias, argentinas e em algumas amostras brasileiras, que apresentam escores negativos. Por outro lado, as concentrações de P, Mo, K, Al e Fe caracterizam as demais amostras que apresentam escores positivos.

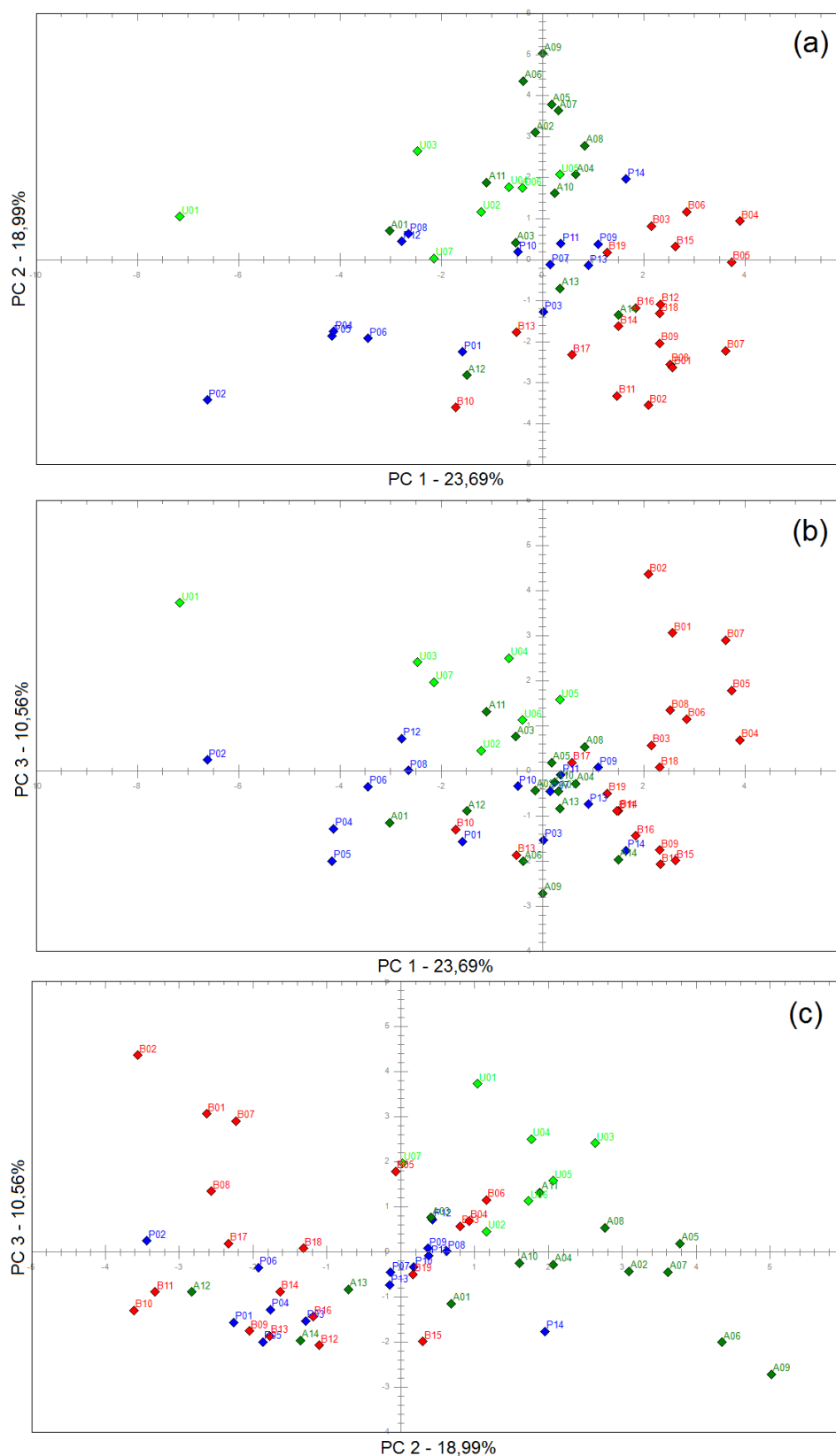


Figura 7. Escores no espaço para as concentrações dos elementos determinados por ICP OES e ICP-MS para (a) PC1 x PC2, (b) PC1 x PC3 e (c) PC2 x PC3. A = Argentina, B = Brasil, P = Paraguai e U = Uruguai

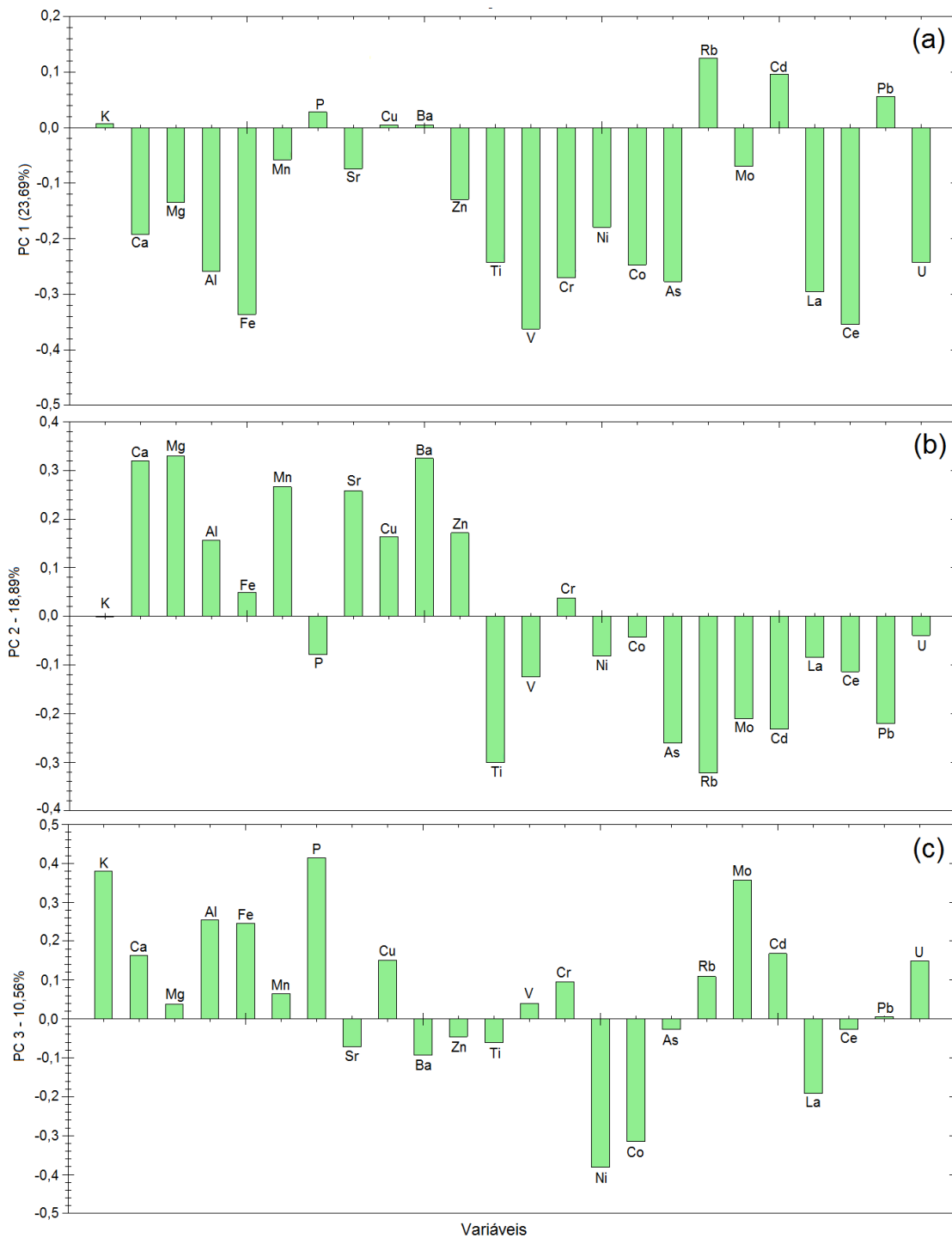


Figura 8. Pesos das concentrações dos elementos (variáveis) determinadas por ICP OES para (a) PC1, (b) PC2 e (c) PC3

4. Conclusão

A HCA e PCA das concentrações de 24 elementos em 54 amostras de diferentes

marcas de erva mate comercializadas no âmbito do MERCOSUL, provenientes de quatro países diferentes, permitiu a visualização de características distintas da erva mate produzida nos respectivos países, evidenciando ainda características singulares

de algumas amostras. A distinção por país de origem deve-se, principalmente, à forma de cultivo e o processamento da erva mate até a obtenção do produto comercial, os quais podem contribuir decisivamente para os perfis das concentrações dos elementos na erva mate. A função de certos elementos e a forma de absorção dos mesmos pela planta de erva mate também exerce alguma influência, conforme observado pela formação de subgrupos tanto na HCA quanto na PCA.

Referências Bibliográficas

- ¹ Márquez, V.; Martínez, N.; Guerra, M.; Fariña, L.; Boido, E.; Dellacassa, E. Characterization of aroma-impact compounds in yerba mate (*Ilex paraguariensis*) using GC-olfactometry and GC-MS. *Food Research International* **2013**, *53*, 808. [[CrossRef](#)]
- ² Bracesco, N.; Sanchez, A. G.; Contreras, V.; Menini, T.; Gugliucci, A. Recent advances on *Ilex paraguariensis* research: Minireview. *Journal Ethnopharmacology* **2011**, *136*, 378. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³ Vieira, M. A.; Rovaris, A. A.; Maraschin, M.; de Simas, K. N.; Pagliosa, C. M.; Podestá, R.; Amboni, R. D. M. C.; Barreto, P. L. M.; Amante, E. R. Chemical Characterization of Candy Made of Erva-Mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.) Residue. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2008**, *56*, 4637. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁴ Menini, T.; Heck, C.; Schulze, J.; de Mejia, E.; Gugliucci, A. Protective Action of *Ilex paraguariensis* Extract against Free Radical Inactivation of Paraoxonase-1 in High-Density Lipoprotein. *Planta Medica* **2007**, *73*, 1141. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁵ Schinella, G.; Fantinelli, J. C.; Mosca, S. M. Cardioprotective effects of *Ilex paraguariensis* extract: evidence for a nitric oxide-dependent mechanism. *Clinical Nutrition* **2005**, *24*, 360. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁶ Filip, R.; Lotito, S. B.; Ferraro, G.; Fraga, C. G. Antioxidant activity of *Ilex paraguariensis* and related species. *Nutrition Research* **2000**, *20*, 1437. [[CrossRef](#)]
- ⁷ Andersen, T.; Fogh, J. Weight loss and delayed gastric emptying following a South American herbal preparation in overweight patients. *Journal Human Nutrition Dietetics* **2001**, *14*, 243. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ⁸ Mazur, L.; Peralta-Zamora, P. G.; Demczuk Jr, B.; Hoffmann-Ribani, R. Application of multivariate calibration and NIR spectroscopy for the quantification of methylxanthines in yerba mate (*Ilex paraguariensis*). *Journal of Food Composition Analysis* **2014**, *35*, 55. [[CrossRef](#)]
- ⁹ Morgano, M. A.; Queiroz, S. C. N.; Ferreira, M. M. C. Aplicação da Análise Exploratória na Diferenciação de Vegetais. *Brazilian Journal of Food Technology* **1999**, *2*, 73. [[Link](#)]
- ¹⁰ Melquiades, F. L.; González-Borrero, P. P.; dos Santos, F. R.; de Deus, W. E. D.; Kalwa, M.; Quináia, S. P. Método para Caracterização de Textura de Sedimentos Usando Técnicas Espectroscópicas e Análise Multivariada. *Revista Virtual de Química* **2014**, *6*, 1687. [[CrossRef](#)]
- ¹¹ Brereton, R. G.; *Chemometrics*. John Wiley & Sons Ltd: West Sussex, 2003.
- ¹² Marcelo, M. C. A.; Martins, C. A.; Pozebon, D.; Ferrao, M. F. Methods of multivariate analysis of NIR reflectance spectra for classification of yerba mate. *Analytical Methods* **2014**, *6*, 7621. [[CrossRef](#)]
- ¹³ Cozzolino, D.; Restaino, E.; Fassio, A. Discrimination of yerba mate (*Ilex paraguayensis* St. Hil.) samples according to their geographical origin by means of near infrared spectroscopy and multivariate analysis. *Sensing and Instrumentation for Food Quality and Safety* **2010**, *4*, 67. [[CrossRef](#)]
- ¹⁴ Kim, H. K.; Saifullah, K. S.; Wilson, E. G.; Kricun, S. D. P.; Meissner, A.; Goral, S.; Deelder, A. M.; Choi, Y. C.; Verpoorte, R. Metabolic classification of South American *Ilex* species by NMR-based metabolomics. *Phytochemistry* **2010**, *71*, 773. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁵ Bro, R.; Smilde, A. K. Principal component analysis. *Analytical Methods* **2014**, *6*, 2812. [[CrossRef](#)]

- ¹⁶ Wold, S.; Esbensen, K.; Geladi, P. Principal component analysis. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* **1987**, *2*, 37. [CrossRef]
- ¹⁷ Jones, B. T.; Hou, X. *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*. John Wiley: Chichester, 2000.
- ¹⁸ Hill, S. J. *Inductively Coupled Plasma Spectrometry and its Applications*. Blackwell Publishing: Oxford, 2007.
- ¹⁹ Helfer, G. A.; Bock, F.; Marder, L.; Furtado, J. C.; Costa, A. B.; Ferrão, M. F. CHEMOSTAT, Um Software Gratuito Para Análise Exploratória de Dados Multivariados. *Química Nova* **2015**, *38*, 575. [CrossRef]
- ²⁰ ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). 2013. Regulamento Técnico MERCOSUL sobre Limites Máximos de Contaminantes Inorgânicos em Alimentos. *Resolução - RDC No 42*. 2013. [Link] Acesso em: 20 de fevereiro de 2015.
- ²¹ Marcelo, M. C. A.; Martins, C. A.; Pozebon, D.; Dressler, V. L.; Ferrão, M. F. Classification of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) according to the country of origin based on element concentrations. *Microchemical Journal* **2014**, *117*, 164. [CrossRef]
- ²² Maathuis, F. J. M. Physiological functions of mineral macronutrients. *Current Opinion in Plant Biology* **2009**, *12*, 250. [CrossRef] [PubMed]
- ²³ Broadley, M. R.; White, P. J.; Hammond, J. P.; Zelko, I.; Lux, A. Zinc in plants. *New Phytologist* **2007**, *173*, 677. [CrossRef] [PubMed]
- ²⁴ WHO. Barium: environmental health criteria, 1990. Disponível em: <<http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc107.htm>>. Acesso em: 20 fevereiro 2015.
- ²⁵ WHO. Strontium and Strontium Compounds, 2001. Disponível em: <<http://www.inchem.org/documents/cicads/cicads/cicad77.pdf>>. Acesso em: 20 fevereiro 2015.
- ²⁶ Giulian, R.; Santos, C. E. I.; Shubeita, S. M.; Silva, L. M.; Yoneama, M. L.; Dias, J. F. The study of the influence of industrial processing on the elemental composition of mate tealeaves (*Ilex paraguariensis*) using the PIXE technique. *Food Science and Technology* **2009**, *42*, 74. [CrossRef] [PubMed]
- ²⁷ Patra, M.; Bhowmik, N.; Bandopadhyay, B.; Sharma, A. Comparison of mercury, lead and arsenic with respect to genotoxic effects on plant systems and the development of genetic tolerance. *Environmental and Experimental Botany* **2004**, *52*, 199. [CrossRef]
- ²⁸ Harrison, R. M.; Chirgawi, M. B. The assessment of air and soil as contributors of some trace-metals to vegetable plants, use of a filtered air growth cabinet. *Science of the Total Environment*. **1989**, *83*, 13. [CrossRef] [PubMed]
- ²⁹ Hansch, R.; Mendel, R. R. Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl). *Current Opinion in Plant Biology* **2009**, *12*, 259. [CrossRef] [PubMed]
- ³⁰ Tyler, G. Ionic charge, radius, and potential control root/soil concentration ratios of fifty cationic elements in the organic horizon of a beech (*Fagus sylvatica*) forest podzol. *The Science of Total Environment* **2004**, *329*, 231. [CrossRef] [PubMed]