

Universidade Federal do Rio Grande
Instituto de Matemática, Estatística e Física
Programa de Pós-Graduação em Física

**PROCEDÊNCIA E AUTENTICIDADE DA ERVA-
MATE (*Ilex paraguariensis*) ATRAVÉS DE
MARCADORES GEOQUÍMICOS DETERMINADOS
POR PIXE**

Dissertação de Mestrado

Diego Adalberto Amarillo Caniza

Rio Grande, Outubro de 2017

Diego Adalberto Amarillo Caniza

PROCEDÊNCIA E AUTENTICIDADE DA ERVA-
MATE (*Ilex paraguariensis*) ATRAVÉS DE
MARCADORES GEOQUÍMICOS DETERMINADOS
POR PIXE*

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Física pelo Programa de Pós-Graduação em Física do Instituto de Matemática, Estatística e Física da Universidade Federal do Rio Grande.

Orientadora: Prof. Dra. Carla Eliete Iochims dos Santos

Co-orientadora: Prof. Dra. Agueda Maria Turatti

Rio Grande, Outubro de 2017

* Trabalho parcialmente financiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)

Dedico este trabalho a minha família.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente eu gostaria de manifestar a minha gratidão a Deus, pois é Dele que vem a força para que eu nunca desista daquilo que torna meus sonhos realidade, e de que ainda há esperança. Não cabe em palavras o sentimento de gratidão a todas as pessoas que de alguma forma me apoiaram nos momentos mais difíceis. Mesmo entre sorrisos e choros, todas essas pessoas de alguma forma contribuíram para que eu finalizasse o Mestrado.

Agradeço a minha mãe, Maria Ester, por nunca falhar na sensibilidade de mãe querida e atenciosa. Obrigado, mãe, por ser minha companheira da Ciência também, pois de casa já brotava o meu encanto pela Ciência, quando sempre falavas de Pitágoras e fazias as experiências de Química na escola, dentre tantas coisas. Minha mãe, minha professora e minha amiga.

Obrigado Ulisses Rocha, por ser aquele Paizão, aquele amigão que adora escutar uma boa música, gosta de carros e motos e está sempre arrumando as coisas. Agradeço também pelo teu apoio juntamente com a minha mãe, pois sei que juntos os dois nunca deixaram de se preocupar comigo, e minhas vontades e desvantades. Obrigado a toda família Rocha também.

Obrigado Bianca Molon, meu amor, minha noiva. Meu amor obrigado por ser sempre paciente com meus estudos, mesmo quando eu tinha que ser paciente contigo dizendo “E ai já acabaste?”, e eu respondia, “Não! Só falta menos que antes”. Obrigado pela caminhada de fé e de amor que realizamos juntos. Obrigado pelas conversas que às vezes se vão noite adentro. Só obrigado.

São tantos amigos e amigas que nem sei por onde começar. Obrigado a todos e todas amo tanto e que sempre me apoiaram. Se fosse falar de cada um ou cada uma teríamos história pra contar. Obrigado por serem meus irmãos e irmãs de fé e de caminhada de Igreja.

Obrigado Emaús, Enjo, Pastoral Universitária (PU), grupos São Francisco e Santa Rita e Cristifique pelas amizades e orações. Obrigado Lázarus pela boa música e cantos de louvor.

Sou muito grato a Família Molon que sempre me acolheu com carinho e amor de família. Tito, Márcia, Bruna, Bianca, Felipe, Fabrício, dona Olga e seu Orlando, amo muito todos vocês. Obrigado por tudo.

Obrigado família Pizarro e Amarillo, a todos que sempre me apoiaram e me acolheram e acima de tudo sempre com carinho. Mano e Teteca, muito obrigado por todas as vezes que abriram as portas para mim em Porto Alegre, onde eu tinha um cantinho para estudar e dormir. Obrigado.

Sou muito grato à equipe do CEME-SUL da FURG, principalmente ao técnico Rudmar.

Muito obrigado a toda equipe do LII da UFRGS (amigos que fiz, professores e técnicos) e a equipe da FURG de Santo Antônio da Patrulha. Obrigado pela contribuição para que eu pudesse realizar esta dissertação.

Agradeço muito aos colegas de mestrado pelo companheirismo e amizade que perdurou desde a Graduação. Daner, Rafael, Dener, Rafael Palota, Becker, Léo e Juilson.

Meus agradecimentos à Universidade Federal do Rio Grande – FURG, ao Instituto de Matemática, Estatística e Física – IMEF, ao Programa de Pós-Graduação em Física – PPGFIS pela estrutura acadêmica, e a CAPES pelo apoio financeiro.

Agradeço a todos os professores que pelos seus conhecimentos contribuíram na minha formação.

Obrigado, Juliana e Mariana da FURG de Santo Antônio da Patrulha, e Laís da UFRGS, pela contribuição no meu Mestrado.

Obrigado Prof. Juliano Marangoni pelo ensinamento de Estatística.

Muito obrigado Profas. Agueda e Carla pela excelente orientação, paciência e dedicação. Por acreditarem em mim e por me fazerem nunca desistir. Por estarem dispostas a me orientar a qualquer momento e a qualquer hora. Obrigado por participarem do meu crescimento profissional.

“Tudo aquilo que o homem ignora, não existe para ele. Por isso o universo de cada um se resume no tamanho de seu saber.”

Albert Einstein

RESUMO

O conhecimento sobre a origem de um produto alimentício confere segurança ao consumidor, uma vez que a qualidade de tal produto está associada às características específicas do local de cultivo e método de produção. Uma maneira de identificar a origem geográfica, cientificamente, é determinar a composição química do produto, pois a mesma está relacionada com tais características e, portanto, com a região de cultivo da matéria prima. Neste contexto, o produto comercial de erva-mate (*Ilex paraguariensis*), procedente de diferentes locais de produção, foi analisado através da técnica de feixes de íons de *Emissão de Raios X Induzidos por Partículas* (PIXE) e, de forma complementar, através da técnica de *Espectroscopia de Retroespalhamento Rutherford* (RBS), com o objetivo de determinar a composição elementar da erva-mate. A partir dos dados de concentração elementar e de testes estatísticos, verificar a existência de elementos químicos que possam ser usados como marcadores geoquímicos do produto. Para tanto, foram adquiridos três lotes distintos para cada uma das nove marcas de erva-mate escolhidas, de forma a representarem as diferentes regiões produtoras do estado do RS e SC, bem como uma região de produção do Uruguai e uma da Argentina. Os resultados de RBS demonstraram que a matriz da erva-mate consiste em 63,85% de C, 19,5% de B, 9,45% de O, de 6,65% N e 0,55% de F. Mg, Al, Si, P, S, Cl, K, Ca, Ti, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Br, Rb, Sr e Ba foram determinados por PIXE no produto comercializado da erva-mate. Os dados de concentração destes elementos foram submetidos à análise de variância *ANOVA FATOR ÚNICO* e teste Tukey ($p = 0,05$). Resultados de comparação entre lotes procedentes de cada região demonstraram que existe diferença na concentração dos elementos entre alguns lotes, que podem ser decorrentes da absorção destes elementos pela planta em diferentes proporções de acordo com o período de colheita. Com base na realização de testes estatísticos multivariados como Análise Hierárquica de Agrupamentos (HCA) e Análise de Componentes Principais (PCA), foi verificado que o comportamento de variabilidade entre os elementos químicos presentes na erva-mate, caracterizou a análise de procedência do produto. Dessa forma, alguns elementos puderam ser agrupados em três conjuntos, de acordo com as correlações obtidas entre eles, que pode ser aplicada para diferenciação das regiões de procedência.

Palavras-chave: PIXE, composição elementar, erva-mate, procedência, marcadores geoquímicos.

ABSTRACT

The knowledge about the geographical origin of food products provides confidence to the consumer, since the quality of the product is associated with the specific characteristics of the soil and production chain. One way to identify the geographical origins is through the determination of the chemical composition of the product. In this context, the packaged tea leaves of *Ilex paraguariensis* (*yerba mate*) from different South America regions were analyzed by *Particle-Induced X-Ray Emission* (PIXE) and *Rutherford Backscattering Spectrometry* (RBS), both ion beams based techniques. The aim of this work was to determine the elemental concentration of the tea leaves and to verify the presence of geochemical markers through statistical tests. To this end, three packages from different lots were purchased for each of the nine brands at the local market. The RBS results showed that the tea leaves matrix consists of C (63,85%), B (19,5%), O (9,45%), N (6,65%) and F (0,55%). PIXE results showed that Mg, Al, Si, P, S, Cl, K, Ca, Ti, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Br, Rb, Sr and Ba are present in the commercial product of *yerba mate*. The concentration data of these elements were submitted to the Analysis of Variance (ONE-WAY ANOVA) followed by Tukey test ($p = 0.05$). The comparison between the different packages, from each studied region, showed that they have some differences, caused by the production in different conditions. However, considering the elemental average concentration for each region, it was possible to observe statistical differences between the regions, for almost all quantified chemical elements, except for S, which did not differ among the studied regions. Based on the multivariate statistical tests, such as *Hierarchical Clusters Analysis* (HCA) and *Principal Component Analysis* (PCA), it was verified that the variability of the elements, considering different packages and regions, may be used to characterize the provenance of the commercial product of *Ilex paraguariensis*. Some elements, such as Mg, Cu, Sr, Mn, Ni, and S, are correlated, which could be used for differentiation of the geographical origin of this product.

Keywords: PIXE, elemental composition, *Ilex paraguariensis*, geographical origin, geochemical markers.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mapa demonstrativo da distribuição natural da erva-mate na América do Sul.	21
Figura 2. Árvore de erva-mate	22
Figura 3. Mudanças de erva-mate.....	22
Figura 4. Equipamentos de secagem. Secador rotativo e secador de esteira.....	26
Figura 5. Equipamento de moagem.....	27
Figura 6. Diagrama esquemático da configuração experimental de PIXE.....	33
Figura 7. Níveis de energia e transições eletrônicas possíveis para determinado elemento	34
Figura 8. Exemplo de um espectro de PIXE, de contagens de raios X em função da energia dos elementos, para uma amostra de erva-mate.	36
Figura 9. Representação do processo de interação íon-matéria	40
Figura 10. Mapa indicativo das diferentes regiões de produção das ervas-mate analisadas.....	43
Figura 11. Processo de preparação de amostras de erva-mate	44
Figura 12. Esquema do acelerador de partículas Tandatron do LII do IF-UFRGS.....	46
Figura 13. Desenho esquemático ilustrando a posição dos detectores de HPGe e Si(Li)	47
Figura 14. Espectro de RBS de erva-mate para um dos pontos irradiados.	50
Figura 15. Concentrações elementares médias (mg/kg) e respectiva incerteza (desvio padrão da média (mg/kg)) de Mg, S, Mn e Zn para três lotes distintos procedentes de Ilópolis – RS.	54
Figura 16. Concentrações elementares médias (mg/kg) e respectiva incerteza (desvio padrão da média (mg/kg)) para três lotes distintos procedentes de Bento Gonçalves – RS	54
Figura 17. Concentrações elementares médias (mg/kg) e respectiva incerteza (desvio padrão da média (mg/kg)) de Mn, Cu, Br, Sr e Ba da erva-mate de Montevideu – URU para dois lotes distintos	55
Figura 18. Concentrações elementares médias (mg/kg) e respectiva incerteza (desvio padrão da média (mg/kg)) de Mn, Cu, Br, Sr e Ba da erva-mate de Montevideu – URU para dois lotes distintos	55

Figura 19. Gráfico de dispersão dos lotes procedentes de cada região produtora da erva-mate para as duas (02) primeiras componentes principais	58
Figura 20. Dendograma obtido de uma análise de agrupamentos entre os lotes das nove (09) regiões de estudo deste trabalho, demonstrando a semelhança na variabilidade entre as concentrações elementares médias dos lotes.....	59
Figura 21. Gráfico de dispersão dos lotes procedentes das regiões de produção da erva-mate para as duas primeiras componentes principais.....	60
Figura 22. Espectro PIXE, de contagens de raios X em função da energia (keV), da erva-mate de cada região estudada	62
Figura 23. Concentração elementar (mg/kg) de Mg, Al, Si, P, S e Cl para as nove regiões de estudo.	68
Figura 24. Concentração elementar (mg/kg) de K, Ca, Ti, Mn, Fe e Ni para as nove regiões de estudo	71
Figura 25. Concentração elementar (mg/kg) de Cu, Zn, Br, Rb, Sr e Ba para as nove regiões de estudo	73
Figura 26. Gráfico de dispersão das regiões de produção da erva-mate para as duas primeiras componentes principais	76
Figura 27. Dendograma obtido de uma análise de agrupamentos entre as nove regiões de estudo deste trabalho demonstrando a semelhança na variabilidade entre as concentrações elementares médias das regiões.	78
Figura 28. Exemplos de diagrama de dispersão	79
Figura 29. Gráfico de dispersão das nove regiões de produção da erva-mate analisadas para as duas primeiras componentes principais.....	81
Figura 30. Gráfico de dispersão das sete regiões de produção da erva-mate, excluindo CA e BG, para as duas primeiras componentes principais.....	84
Figura 31. Gráfico da calibração de energia (E) dos raios X característicos em função do canal (X_c), e sua respectiva equação de calibração para uma amostra de padrão de folhas de maçã.	88
Figura 32. Gráfico da largura a meia altura (W/2) em função da energia (E) dos raios X do espectro de PIXE obtido para o padrão de folhas de maçã. A equação de calibração de largura está apresentada no gráfico.....	89
Figura 33. Ajuste do espectro de RBS de uma amostra de padrão de Au, obtido pela incidência de um feixe de hélio de energia de 1500 keV.	90
Figura 34. Gráfico da energia dos íons retroespalhados (E_f) em função do canal (X_c). 91	

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Nomenclatura utilizada e número de amostras de erva-mate analisadas pela técnica PIXE, por lote e por região.....	43
Tabela 2. Valores de H (adimensional), para diferentes linhas de emissão dos raios X, e do respectivo <i>recovery</i> para cada data de realização de medições de PIXE da erva-mate, obtidos utilizando-se uma amostra do padrão de folhas de maçã.....	49
Tabela 3. Parâmetros das medições realizadas com RBS e PIXE.....	51
Tabela 4a. Diferenças significativas observadas entre os lotes procedentes das regiões BC, IL, BG e DR, para cada elemento quantificado, e respectivos valores de significância estatística (<i>p</i>).	56
Tabela 4b. Diferenças significativas observadas entre os lotes procedentes das regiões VA, CA, MO e CO, para cada elemento quantificado, e respectivos valores de significância estatística (<i>p</i>).	57
Tabela 5a. Média e desvio padrão da média (n=15, exceto para CH (n=5)), da concentração (mg/kg) de Mg, Al, Si, P e S, da erva-mate procedente das nove regiões estudadas.....	62
Tabela 5b. Média e desvio padrão da média (n=15, exceto para CH (n=5)), da concentração (mg/kg) de Cl, K, Ca, Ti e Mn, da erva-mate procedente das nove regiões estudadas.....	63
Tabela 5c. Média e desvio padrão da média (n=15, exceto para CH (n=5)), da concentração (mg/kg) de Fe, Ni, Cu e Zn, da erva-mate procedente das nove regiões estudadas.....	63
Tabela 5d. Média e desvio padrão da média (n=15, exceto para CH (n=5)), da concentração (mg/kg) de Br, Rb, Sr e Ba, da erva-mate procedente das nove regiões estudadas.....	64
Tabela 6a. Valores mínimos e máximos de concentração elementar (mg/kg), e valores médios, com respectivo desvio padrão da média, do limite de detecção (LOD, em mg/kg) para as regiões de Barão de Cotegipe – RS, Ilópolis – RS e Bento Gonçalves – RS.	65
Tabela 6b. Valores mínimos e máximos de concentração elementar (mg/kg), e valores médios, com respectivo desvio padrão da média, do limite de detecção (LOD, em mg/kg) para as regiões de Doutor Ricardo – RS, Venâncio Aires – RS e Canoinhas – SC.	66

Tabela 6c. Valores mínimos e máximos de concentração elementar (mg/kg), e valores médios, com respectivo desvio padrão da média, do limite de detecção (LOD, em mg/kg) para as regiões de Chapecó – RS, Montevideu – URU e Corrientes – ARG.....	67
Tabela 7. Concentração elementar (mg/kg) da erva-mate comercial, determinada por diferentes autores.....	74
Tabela 8. Matriz de correlações de Pearson entre os dezoito elementos encontrados nas ervas-mate das nove regiões, a partir das concentrações elementares médias.....	80
Tabela 9. Distâncias euclidianas entre as nove regiões de produção de erva-mate.....	88
Tabela 10. Resultados de autovalores e respectiva porcentagem da variância para as oito (08) componentes nas quais juntas explicam a variação na concentração dos dezoito elementos encontrados nas regiões de estudo deste trabalho.	92
Tabela 11. Valores dos pontos das duas primeiras componentes principais para as nove (09) regiões de estudo deste trabalho, obtidos a partir das concentrações elementares médias padronizadas.....	92

LISTA DE ABREVIACÕES

AAS	<i>Atomic Absorption Spectroscopy</i> (Espectrometria de Absorção Atômica)
ADC	<i>Analog Digital Converter</i> (Conversor Analógico Digital)
ANOVA	<i>Analysis of Variance</i> (Análise de Variância)
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APREMAVI	Associação de Preservação do Meio Ambiente e da Vida
ARG	Argentina
BC	Barão de Cotegipe
BG	Bento Gonçalves
BR	Brasil
CA	Canoinhas
CH	Chapecó
CO	Corrientes
DDA	Departamento de Defesa Agropecuária
ddp	diferença de potencial
DO	Denominação de Origem
DR	Doutor Ricardo
eV	elétron Volt
GFAAS	<i>Graphite Furnace Atomic Absorption Spectroscopy</i> (Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite)
HCA	<i>Hierarchical Analysis of Clusters</i> (Análise Hierárquica de Agrupamentos)
HVEE	<i>High Voltage Engineering Europa</i>
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ICC	<i>Incomplete Charge Collection</i> (Coleção Incompleta de Carga)
ICP-MS	<i>Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry</i> (Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado)
ICP-OES	<i>Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry</i> (Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado)
IF-UFRGS	Instituto de Física da Universidade Federal do Rio Grande do Sul
IG	Indicação Geográfica

IL	Ilópolis
INPI	Instituto Nacional de Propriedade Industrial
INTA	Instituto Nacional de Tecnologia Agropecuária
INYM	<i>Instituto Nacional de la Yerba Mate</i>
IP	Indicação de Procedência
IrCl₃	Cloreto de Irídio
keV	quilo elétron Volt
LII	Laboratório de Implantação Iônica
LOD	<i>Limit of Detection</i> (Limite de Detecção)
LTDA	LIMITADA
MeV	Mega elétron Volt
mbar	milibar
mm²	milímetro quadrado
MO	Montevideu
MV	Mega Volt
N₂	Nitrogênio gasoso
nA	nano Ampère
NIST	<i>National Institute of Standards and Technology</i> (Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia)
PAM	Pesquisa Agrícola Municipal
PCA	<i>Principal Component Analysis</i> (Análise de Componentes Principais)
PdCl₂	Cloreto de Paládio
PEVS	Produção da Extração Vegetal e da Silvicultura
PIXE	<i>Particle-Induced X-ray Emission</i> (Emissão de Raios X Induzidos por Partículas)
ppm	partes por milhão. Unidade de concentração elementar igual a miligramas por quilograma (ppm = mg/kg)
RBS	<i>Rutherford Backscattering Spectrometry</i> (Espectrometria de Retroespalhamento Rutherford)
RS	Rio Grande do Sul
s	segundo
SC	Santa Catarina

SEAB	Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento
SEAPA	Secretaria Estadual da Agricultura, Pecuária e Agronegócio
SES	Secretaria Estadual de Saúde
SINDIMATE	Sindicato da Indústria do Mate
SNICS	<i>Source of Negative Ions by Cesium Sputtering</i>
SPSS	<i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
TiH₂	Hidreto de Titânio
μm	micrômetro
URU	Uruguai
VA	Venâncio Aires
XRF	<i>X-ray Fluorescence</i> (Fluorescência de Raios X)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
2 REFERENCIAL TEÓRICO	20
2.1 Erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i>)	20
2.1.1 Produção e industrialização.....	24
2.1.2 Composição elementar e orgânica.....	28
2.2 Técnicas de Análise	30
2.2.1 Emissão de Raios X Induzidos por Partículas (PIXE)	32
2.2.1.1 Breve histórico	32
2.2.1.2 Princípios físicos	33
2.2.1.3 Seção de choque, perda de energia e classificação dos alvos	34
2.2.1.4 Padronização e quantificação	35
2.2.2 Espectrometria de Retroespalhamento Rutherford (RBS)	39
3 METODOLOGIA.....	42
3.1 Amostras	42
3.1.1 Descrição das amostras	42
3.1.2 Preparação das amostras.....	44
3.2 Técnicas de análise por feixe de íons.....	45
3.2.1 Acelerador de partículas do LII (IF-UFRGS)	45
3.2.2 Sistema de PIXE.....	46
3.2.3 Sistema de RBS	49
3.2.4 Parâmetros das medidas com RBS e PIXE	51
3.3 Análise dos dados	51
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES	53
4.1 Comparação da concentração elementar da erva-mate entre os lotes de cada região	53
4.2 Comparação da concentração elementar da erva-mate entre as regiões	61
4.2.1 Análise de procedência através de marcadores geoquímicos.....	75
5 CONCLUSÕES.....	86
ANEXO 1 – Calibração e padronização do sistema de PIXE	88
ANEXO 2 – Calibração do sistema de RBS.....	90
ANEXO 3 – Tabelas dos resultados de HCA e PCA	92
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	93

1 INTRODUÇÃO

A produção florestal é a atividade de transformação de matéria-prima em bens de consumo. A transformação da matéria-prima florestal resulta em produtos madeireiros e não madeireiros. Os produtos madeireiros são todos os materiais lenhosos capazes de serem aproveitados para serraria, estacas, lenha, poste, moirão, entre outros. Os produtos não madeireiros são de origem vegetal, tais como resina, cipó, óleo, sementes, plantas ornamentais e medicinais, entre outros, bem como serviços sociais e ambientais, como reservas extrativistas e outros serviços que dão origem a manutenção da floresta ¹.

Dentre as atividades não madeireiras que compõe o mercado agroflorestal brasileiro, destaca-se a produção da erva-mate, que é obtida através da planta cientificamente classificada como *Ilex paraguariensis* St. Hill.. Através da sua infusão com água quente, obtém-se uma bebida própria para o consumo humano, conhecida como ‘chimarrão’. O chimarrão é consumido no sul do Brasil, principalmente nos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná, outros países, como Uruguai, Bolívia e Argentina também apreciam o chimarrão. O hábito de beber chimarrão se tornou muito popular, de forma que cerca de 16% da produção brasileira de erva-mate seja exportada para, pelo menos, trinta países ². Segundo Medrado et. al. ³, o impacto do setor florestal na economia brasileira seria ainda maior nas estatísticas nacionais, se fossem creditados a ele os benefícios das atividades de produtos não madeireiros como castanha-do-Brasil, borracha, erva-mate, dentre outras.

No Brasil, o Instituto Nacional de Propriedade Industrial – INPI – é o órgão responsável por conceder um registro do produto alimentício em relação ao seu local de origem, denominado Indicação Geográfica (IG). Esse tipo de registro é utilizado no Brasil desde 1996 quando o termo IG foi introduzido pela Lei da Propriedade Industrial 9.279. Em países com grande tradição na produção de vinhos, queijos, presuntos e azeite de oliva como França, Portugal, Itália e Espanha, a IG também é utilizada ⁴. Outros países da União Européia e da América também possuem IG, como a Argentina, que possui para a erva-mate ^{5 6}.

Existem duas modalidades de registro de Indicação Geográfica: a Indicação de Procedência (IP) e a Denominação de Origem (DO). A IP está relacionada ao nome do local que se tornou conhecido por produzir, extrair ou fabricar determinado produto ou prestar determinado serviço. A DO refere-se ao nome do local, que passou a designar

produtos ou serviços, cujas qualidades ou características podem ser atribuídas a sua origem geográfica⁴.

Conhecer a procedência de um produto alimentício ou bebida confere segurança ao consumidor e está relacionado à autenticidade. Em geral, a qualidade de tais produtos está associada às características próprias, advindas de sua composição química⁷. Tendo em vista que produtos comercializados podem conter algum tipo de alteração, isto pode prejudicar a qualidade e a autenticidade dos mesmos e atribuir-lhes características diferentes das originais⁸.

Atualmente, há um projeto de IG da erva-mate que está sendo desenvolvido no Paraná. Uma Indicação de Procedência foi concedida para sementes de erva-mate, mudas de erva-mate, erva-mate cancheada, erva-mate para chimarrão e erva-mate para tererê e chá verde. Notoriamente, este é um dos avanços em busca do conhecimento e controle da procedência da erva-mate no Brasil, oferecendo competitividade entre os produtores, e favorecendo o surgimento de novas propostas para a realização de trabalhos no âmbito de fatores de qualidade e autenticidade do produto⁹.

Conforme a legislação brasileira, estabelecida pelo Governo Federal, órgãos fiscalizadores são responsáveis pelo padrão de qualidade de alimentos e bebidas. Dentre eles, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, que controlam e fiscalizam padrões sobre limites de contaminantes, resíduos tóxicos, desinfetantes, metais pesados e outros. Além disso, a Secretaria Estadual da Saúde do Rio Grande do Sul (SES) tem um programa estadual de qualidade para fiscalizar produtos¹⁰. Dentre esses produtos encontra-se, a erva-mate, que é considerada um alimento não perecível, pois quando mantida à temperatura ambiente não existem alterações significativas de origem microbiológica¹¹. Neste sentido uma série de características seja microbiológica, molecular ou elementar, podem ser utilizadas na busca de autenticidade ao produto.

A procedência e a autenticidade de produtos vegetais processados, bem como sua matéria prima, podem ser verificadas com o auxílio de métodos científicos de análise, através dos quais é possível determinar marcadores geoquímicos. Estes marcadores são elementos químicos, com concentrações diferentes, quando comparados entre marcas distintas de erva-mate provenientes de diferentes regiões geográficas. Eles podem ser obtidos através da determinação da composição elementar do solo e do produto final e da relação entre ambos, ou pela comparação entre a composição elementar de produtos rotulados como procedentes de diferentes regiões. Dessa forma,

um determinado conjunto de elementos químicos pode ser usado como uma assinatura geoquímica do produto ⁷.

Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi determinar a composição elementar da erva-mate (*Ilex paraguariensis*), processada em diferentes regiões do Brasil, Argentina e Uruguai, utilizando as técnicas analíticas baseadas em feixes de íons *Emissão de Raios X Induzidos por Partículas (PIXE)* e *Espectrometria de Retroespalhamento Rutherford (RBS)*. A partir dos resultados de composição elementar obtidos, verificar, por métodos estatísticos, a existência de possíveis marcadores geoquímicos estabelecendo, dessa forma, uma assinatura elementar da erva-mate de acordo com sua região de produção.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

Neste capítulo é apresentada uma descrição da erva-mate, sua produção e industrialização, bem como uma revisão da literatura sobre sua composição elementar e orgânica. Além disso, são descritas as técnicas analíticas de feixes de íons PIXE e *Espectrometria de Retroespalhamento Rutherford* (RBS), utilizadas neste trabalho.

2.1 Erva-mate (*Ilex paraguariensis*)

A erva-mate (*Ilex paraguariensis*) começou a ser explorada e usada pelos índios Guaranis, que viviam em torno das bacias dos rios Paraná, Paraguai e Uruguai. Existem relatos de que eles já possuíam o hábito de beber uma infusão de folhas de erva-mate picotadas dentro de um recipiente, com ajuda de um canudo de taquara, em cuja base havia um trançado de fibras para impedir que as folhas fossem ingeridas, antes mesmo de a erva-mate ser descoberta oficialmente pelos espanhóis em 1554 ¹².

O termo “mate” provém do quéchuá, o idioma inca, através do vocábulo *mati*, que significa “cuiá”, designando o recipiente no qual o chimarrão é preparado e bebido. O consumo da bebida era também apreciado em outras tribos indígenas, o que favorecia relações comerciais destas tribos com os guaranis, tornando a extração da erva-mate a atividade econômica mais importante entre os séculos XVI e XVII ¹³.

Em 1822, o botânico e naturalista francês August de Saint Hillaire, realizou a classificação taxonômica da erva-mate e publicou nas memórias do Museu de História Natural de Paris a denominação *Ilex paraguariensis* St. Hill., incluindo as iniciais de seu nome pela descoberta. A planta pertence à subdivisão *Angiospermae*, classe das *Dicotiledôneas*, subclasse *Archichlamydes*, ordem *Celastales* e família *Aquifoliaceae* ¹⁴.

Originalmente, a erva-mate era coletada em ervais nativos, ou seja, que já se encontravam na natureza e cresciam em meio às densas matas. Estes ervais ainda existem em algumas regiões, especialmente no Sul da América, como pode ser visto na Figura 1. A extração da erva-mate também é feita a partir de ervais cultivados, onde o solo é preparado para aquele tipo de cultivo.

Atualmente, a ocorrência natural da erva-mate abrange aproximadamente 540.000 km² de área na América do Sul, incluindo o Brasil, o nordeste da Argentina e o leste do Paraguai. No Brasil, sua área de ocorrência é 450.000 km², ou seja, 5% do território nacional. As regiões brasileiras que compõem esse percentual são: sul do Mato

Grosso do Sul; sul, centro, oeste e noroeste do Paraná; centro-norte e sul do Rio Grande do Sul e oeste de Santa Catarina ¹⁴.

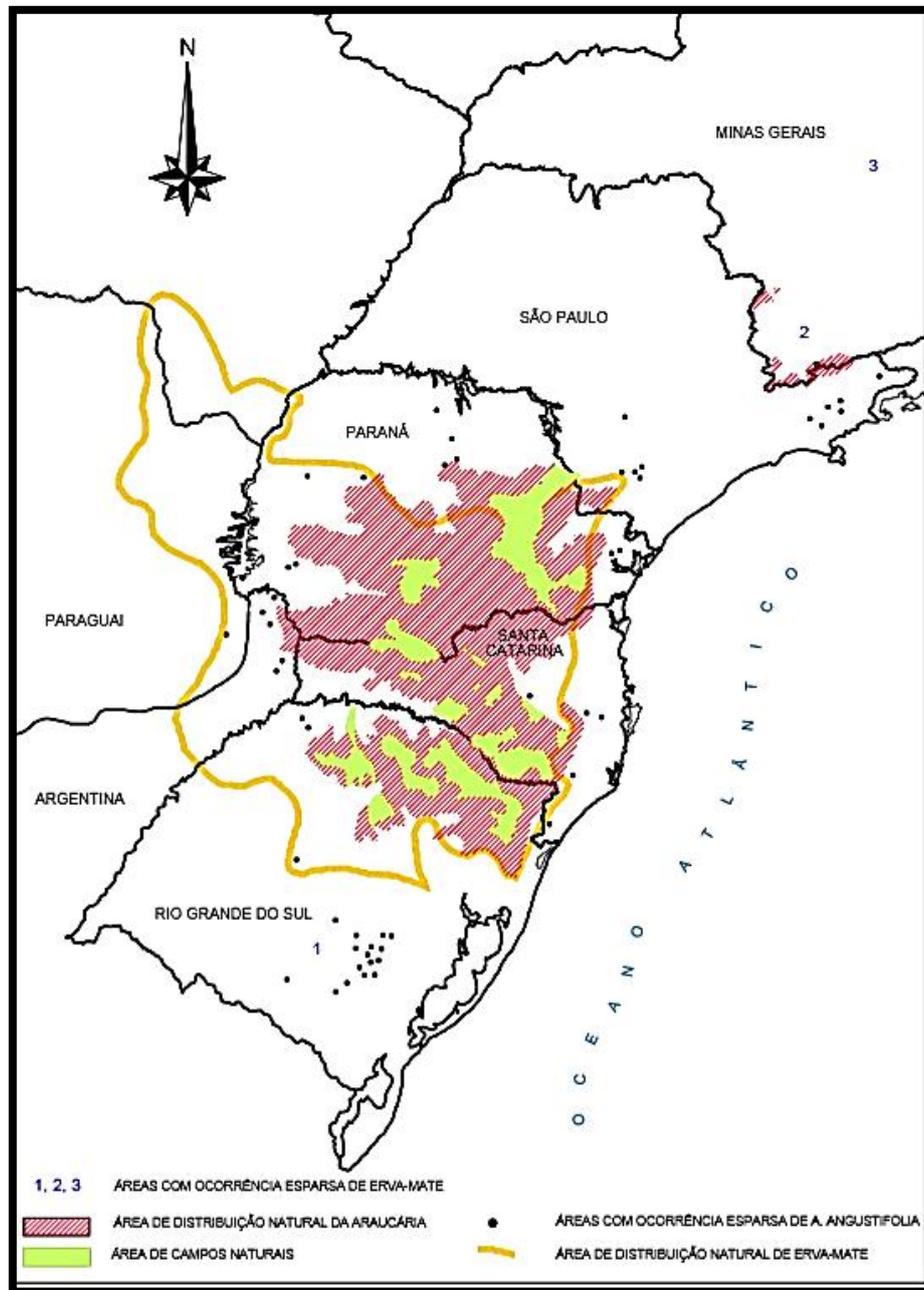


Figura 1. Mapa demonstrativo da distribuição natural da erva-mate na América do Sul, de acordo com OLIVEIRA & ROTTA, 1985 ¹⁴.

A árvore da erva-mate (Figura 2) tem altura variável. Quando cultivada varia de 3 a 5 m de altura, porém, quando nativa, pode alcançar 25 m de altura ¹⁴. A Figura 3 exemplifica como são as mudas de erva-mate e, de forma mais detalhada, as folhas da mesma ¹⁵.



Figura 2. Árvore de erva-mate ¹⁶.



Figura 3. Mudanças de erva-mate ¹⁷.

Fossati L. C. ¹⁸ cita que é possível que as toxinas produzidas por alguns insetos causem variações nos teores foliares de nutrientes. Além disso, variações de suprimento mineral nas folhas de erva-mate influenciam na morfologia da copa da árvore. Outras características importantes para o desenvolvimento da planta de erva-mate são o tamanho das folhas, que é afetado pela deficiência de nitrogênio (N) e boro (B), a altura total da planta, que diminui pela deficiência de potássio (K) ou excesso de cobre (Cu)

fazendo com que o crescimento e a ramificação da planta sejam comprometidos. Além das características morfológicas da planta, estudos demonstram relação entre o estado nutricional de árvores de erva-mate com ataque ou infecções por insetos e fungos.

Mutinelli A.¹⁹ comparou as dimensões foliares de erva-mate provinda da Argentina e do Paraguai. Ele observou maior área foliar, provavelmente devido aos maiores teores de N. Também foram comparadas duas categorias distintas de solo, denominadas de solo solto (para cultivo) e solo de campo (nativo), mantendo a mesma relação largura/comprimento da folha. O solo solto apresentou maior teor de N que o solo de campo. Portanto, o autor sugere que o processo de crescimento da erva-mate esteja intrinsecamente relacionado ao estado nutricional da planta, dependendo da biodisponibilidade dos elementos no solo e de fatores climáticos, conferindo características peculiares ao produto final tanto em composição elementar quanto em sabor, de acordo com a região de crescimento do erval e processamento da matéria prima.

É conhecido que a forma majoritária de utilização da erva-mate ocorre pelo consumo do chimarrão. No entanto, a erva-mate também é usada na indústria farmacêutica, cosmética e alimentícia para o desenvolvimento de novas formulações de produtos como, medicamentos, desodorantes, maquiagens, sabonetes, cerveja, refrigerante, gelatinas, balas, massas alimentícias, pães, dentre outros^{20 21}.

A cultura de beber o chimarrão está enraizada no sul da América do Sul. Sendo que consumidores desta região usufruem de forma mais intensa os benefícios da erva-mate, por beberem diariamente o chimarrão. O consumo do chimarrão pode complementar algumas funções metabólicas do corpo humano, potencializando a inibição de absorção de colesterol pelo organismo, por exemplo²². O chimarrão também contém propriedades antioxidantes, favorecendo a diminuição de riscos de algumas doenças, como a diabetes²³. A maioria dos minerais presentes no produto final da erva-mate como, cálcio (Ca), fósforo (P), ferro (Fe), potássio (K), manganês (Mn), silício (Si), cobre (Cu) e zinco (Zn) são também encontrados em alguns alimentos vegetais, porém somente a fração solúvel é ingerida na infusão da erva-mate como, magnésio (Mg), cloro (Cl), P, K, Mn e Zn. Os elementos ingeridos na infusão de erva-mate, não trazem perigo para a saúde, a não ser que exista algum elemento que atue como contaminante, como cádmio (Cd) e chumbo (Pb), os quais foram sugeridos em algumas citações²⁴, ou que alguns elementos ultrapassem os limites mínimos de concentração

permitidos no produto. No entanto, se torna necessário entender os processos de fabricação da erva-mate, visando analisar alterações elementares nas etapas destes processos ²⁵.

2.1.1 Produção e industrialização

No Brasil, o IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística) realizou duas pesquisas referentes à Pesquisa Agrícola Municipal (PAM) e a Produção da Extração Vegetal e da Silvicultura (PEVS). Dados de PEVS, em 2011, mostraram que a extração dos ervais nativos foi de 229 mil toneladas de erva-mate no Brasil, sendo o Paraná o maior fornecedor de erva-mate de ervais nativos do país com aproximadamente 74% do total. Em 2012, a PAM revelou que o Brasil produziu 513 mil toneladas de erva-mate, sendo o Rio Grande do Sul o principal responsável pela produção de ervais cultivados, com 260 mil toneladas ou 51% do total, seguido pelo Paraná com 180 mil toneladas ou 35% ²⁶.

O consumidor ao adquirir o produto final da erva-mate se depara com uma diversidade enorme de marcas, procedentes de diferentes regiões. Os processos de industrialização podem ser distintos para cada região de produção, porém as formas de extração são as mesmas. A erva-mate é obtida basicamente através de duas formas: a nativa e a cultivada. A erva-mate nativa é extraída de ervais/plantas que cresceram naturalmente em meio às densas matas, o que limita a incidência de luz, deixando suas folhas mais escuras. Parte dessas matas integra hoje uma seleta reserva da mata Atlântica e em algumas regiões ainda é predominante o crescimento da planta de erva-mate (Figura 1). A produção da erva-mate nativa é isenta de agrotóxicos, adubos químicos ou semelhantes ²⁷.

No caso da erva-mate cultivada, a matéria prima é extraída de plantas cultivadas em solo propício previamente preparado, com maior incidência de luz e, na maioria das vezes, utilizando-se adubos químicos e agrotóxicos para o combate às pragas. As folhas da erva-mate do tipo cultivada são mais claras que a do tipo nativa. A diferença na coloração das folhas e das características do solo conferem sabor peculiar na bebida com cada um desses tipos de extração ²⁸. A cor verde da erva-mate está associada a presença de clorofila na composição da planta. Processos de fabricação e armazenagem alteram as características da erva-mate, o que pode refletir no sabor do chimarrão, devido a alteração nos teores de clorofila da erva-mate ²⁹.

O aroma e a cor da erva-mate são fatores que o consumidor comumente aprecia. A cor, como característica sensorial, varia de verde e suas tonalidades a amarelo pardo, sendo o primeiro critério de aceitabilidade do produto pelo consumidor, uma vez que está associada à qualidade. Uma maneira de manter intactas as propriedades do aroma e da cor do produto final da erva-mate é conservar a mesma em embalagens de plástico laminado metalizado, ao invés de embalagens de papel³⁰. Outra diferença observada é que embalagens de papel absorvem menos umidade que embalagens laminadas³¹.

A cadeia produtiva da erva-mate consiste em duas fases. A primeira fase é caracterizada pelo processo de cultivo, incluindo a semeadura, a aplicação de fertilizantes e os equipamentos usados para o manejo da matéria prima. Esta fase é finalizada com a coleta da matéria prima, até ser transportada à unidade fabril. A segunda fase é caracterizada pelo processamento da matéria prima na indústria, que inicia com o recebimento dos ramos (galhos e folhas) da erva-mate extraídos da árvore. Nessa fase de industrialização, destacam-se os processos de sapeco, secagem, cancheamento, trituração, moagem, empacotamento e distribuição, alguns dos quais estão descritos a seguir³².

O processo de sapeco consiste em passar os ramos com as folhas sobre as chamas de um sapecador de maneira rápida para que elas não queimem. Basicamente, o equipamento é um cilindro metálico, perfurado e inclinado no qual a erva-mate passa entre as chamas. A função desta etapa é retirar a umidade superficial e causar a inativação de enzimas (peroxidase e polifenoloxidase) para que não ocorra a oxidação do produto²⁸.

Após o sapeco a erva-mate é conduzida a secagem. No século passado dois tipos de secagem eram empregados: o carijó e o barbaquá. O carijó é definido como um estendal construído com varas de madeira verde, sobre os quais se colocavam as folhas de erva-mate, que deveriam secar durante dez dias sobre um braseiro. Atualmente, este método não é mais utilizado. Por outro lado, o sistema barbaquá é um método ainda, porém pouco, utilizado e consiste em um secador, no qual um túnel subterrâneo transporta o calor provindo de uma fomalha, até o secador³³. O calor é levado até as folhas de erva-mate através deste túnel, e parte da fumaça é desviada por uma chaminé, impedindo que a fumaça dê gosto e cheiro à folha. A secagem pelo método barbaquá pode demorar de 10 a 20 horas^{34 35}.

Para facilitar o processo, a secagem é realizada em aperfeiçoados secadores mecânicos. Existem dois processos diferentes, de acordo com o equipamento utilizado, que pode ser um secador mecânico rotativo ou uma esteira. A principal diferença entre estes processos está relacionada ao contato da matéria prima com a fumaça. No secador rotativo, a fumaça tem um contato direto com a matéria prima, enquanto no secador de esteira, o contato é indireto, diminuindo os danos ao produto ²⁸. A Figura 4, cujas imagens foram cedidas pela ervateira Barão Comércio e Indústria de Erva-Mate LTDA, mostra estes dois secadores. Após a operação de secagem, a umidade das folhas permanece em torno de 5%, o que representa a porcentagem de água em relação à massa total de erva-mate seca ²⁷.



Figura 4. Equipamentos de secagem. a) secador rotativo; b) secador de esteira. Fotos como cortesia da ervateira Barão Comércio e Indústria de Erva-Mate LTDA. Barão de Cotegipe – RS.

Posteriormente, ocorre o cancheamento, que consiste na trituração da matéria prima que logo equivale à erva-mate cancheada não padronizada, constituindo a matéria prima para o chimarrão. Quando a erva-mate cancheada não padronizada é submetida ao processo de peneiramento há uma separação de folhas e partes dos ramos, tornando a

erva-mate cancheada padronizada, a qual também constitui matéria prima para o chimarrão ³⁶. No sistema barbaquá, a qualidade do produto final é conferida pelo processo de descanso, no qual a erva-mate cancheada permanece de 18 a 24 meses em um local com ambiente controlado ³⁴.

Ambos os tipos de erva-mate cancheada podem ser usados para a produção de chás ou, se passar pelo processo da moagem ou soque, podem ser empacotados e distribuídos ao comércio, como produto final próprio para o preparo do chimarrão ²⁸. A imagem da Figura 5, cedida por Barão Comércio e Indústria de Erva-Mate LTDA, ilustra o equipamento utilizado no processo de moagem.



Figura 5. Equipamento de moagem (Cortesia da empresa Barão Comércio e Indústria de Erva-Mate LTDA. Barão de Cotegipe – RS).

A classificação da erva-mate é feita em função da separação mencionada no processo de cancheamento, seguido de diferentes proporções entre folhas e ramos da erva-mate cancheada não padronizada e da padronizada, incluindo ou não a adição de açúcar e/ou a mistura com outras plantas (em geral, chás medicinais). Isso confere as seguintes apresentações da erva-mate comercializada: erva-mate pura folha (baixa concentração de ramos), moída grossa (granulometria maior), erva-mate para tererê, erva-mate composta (com chás) e erva-mate com açúcar, todas elas de origem nativa ou

cultivada. A origem da matéria prima também inclui apresentações comerciais do tipo tradicional e nativa²⁷.

Tais apresentações se tornam disponíveis no mercado, instigando a escolha do produto mais agradável ao gosto do consumidor. Características quanto à cor, odor e sabor da erva-mate obviamente são aspectos importantes ao consumidor³⁷. Entretanto, a erva-mate é um produto alimentar no qual se exclui a obrigatoriedade da rotulagem nutricional pela ANVISA³⁸. Diversas pesquisas já informaram a composição físico-química, elementar e orgânica da erva-mate comercializada. Contudo, produtos comerciais originados de distintas regiões podem apresentar diferentes concentrações elementares e orgânicas, as quais poderiam ser utilizadas como informação nutricional.

2.1.2 Composição elementar e orgânica

Diversos estudos já foram realizados, visando a análise da composição elementar da erva-mate em diferentes estágios de seu processamento industrial, bem como das folhas e dos ramos da árvore *Ilex paraguariensis*. Estudos da década de 80 vislumbravam suprir a carência de informações que possibilitassem a maximização da exploração econômica da erva-mate, porém a literatura científica ainda é bastante escassa. Além disso, os resultados encontrados nos estudos publicados dependem da amostragem utilizada, ou seja, do tipo (nativa ou cultivada), da forma de processamento e principalmente das características do solo da região de procedência da erva-mate.

Em 1983, Reissmann et. al.³⁹ selecionaram vinte e oito (28) árvores da espécie *Ilex paraguariensis* no município de Mandirituba no Paraná. As árvores foram separadas em quatro grupos, cada grupo simulando um bloco de sete (07) árvores. Foram coletadas amostras de folhas, hastes e solo, que foram analisadas por colorimetria e absorção atômica, para determinação da composição elementar. Como resultados, a análise foliar mostrou a presença de N, P, K, Ca, Mg, Fe, Mn, Cu, Zn, B e Al, enquanto a análise do solo apresentou elementos como P, K, Ca, Mg, Fe e Mn.

Em 2001, Heinrichs et. al.²⁵ utilizaram a técnica de espectrometria de emissão atômica com plasma de argônio (ICP-AES) para determinar os elementos químicos da erva-mate antes e após a infusão. Três amostras de erva-mate do produto disponível comercialmente foram analisadas. Antes da infusão Mg e Mn apresentaram maior concentração, enquanto que após a infusão da erva-mate os resultados revelaram altas concentrações de K, Mg e Mn; concentrações intermediárias de S, Ca e P; baixa de Al e

nula de Cd e Pb. O autor também discute a biodisponibilidade dos elementos da erva-mate. Segundo ele, os mesmos não são totalmente disponibilizados na infusão, devido à forma como estão ligados com compostos orgânicos, o que ainda não é bem conhecido.

A composição elementar do produto comercializado da erva-mate do tipo sem açúcar e sem adição de outras ervas, antes e após sua infusão com água quente (chimarrão) foi investigada através da técnica de emissão de raios X induzidos por partículas (PIXE) ²⁷. Pela análise de vinte amostras de erva-mate de diferentes municípios do Rio Grande do Sul (Venâncio Aires, Barão de Cotegipe, Ilópolis, Arvorezinha, dentre outros), foram encontrados os elementos Mg, Al, Si, P, S, Cl, K, Ca, Ti, Mn, Fe, Cu, Zn e Rb, para ambas as regiões. Quantitativamente houve diferença na concentração elementar de K, Cl e Si nas amostras de erva-mate após a infusão com água quente ²⁷.

Nesse mesmo contexto, mas com o objetivo de identificar a origem da erva-mate através de elementos químicos, Marcelo et. al. ⁷ determinaram a concentração de elementos presentes na erva-mate processada e procedente do Brasil, da Argentina, do Uruguai e do Paraguai. Através da composição elementar e de métodos de análise multivariada supervisionada e não supervisionada, foi possível classificar a erva-mate por país de origem. Neste caso, foram usadas as técnicas de espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES) e espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) para determinar os elementos químicos. Os elementos Ca, K, Mg, Al, Fe, Mn, Ba, Cu, P, Sr e Zn foram determinados por ICP-OES, enquanto que Li, Be, Ti, V, Cr, Ni, Co, As, Se, Rb, Mo, Ag, Cd, Sb, La, Ce, Pb, Bi e U foram determinados por ICP-MS.

Pesquisando sobre a erva-mate e outros tipos de chás, o conteúdo de Al, Cr, Cu, Fe, Mn e Ni foi determinado em amostras de erva-mate, hibiscos, chá verde, chá preto e as infusões para cada tipo de amostra, através da técnica de espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS). Após as análises, conclui-se que a infusão da erva-mate atua como uma importante fonte de Mn ⁴⁰.

Com relação à composição orgânica, estudos fitoquímicos da erva-mate indicaram a presença de diferentes grupos químicos, como saponinas, alcaloides e compostos fenólicos. As folhas no seu estado natural apresentaram as vitaminas A, B1, B2, B6 e C. Com isso, ressalta-se o efeito da erva-mate como estimulante do sistema

nervoso central e de suas propriedades antioxidantes, uma vez que tais propriedades são preservadas na bebida do chimarrão. Além destes compostos, a cafeína, a teobromina e a teofilina foram encontradas na erva-mate e exercem importante papel no organismo por serem substâncias bioativas ²⁰.

A caracterização físico-química da erva-mate em função das etapas do processamento industrial (sapeco, secagem e tempo de cancheamento) foi investigada, verificando como estas etapas interferiram nos teores de cinzas, fibras, gorduras, proteínas, glicose, sacarose e cafeína presentes na matéria prima. A matéria prima utilizada no trabalho foi coletada em um mesmo lote de duas linhas de processamento da Indústria e Comércio de Erva-Mate Barão Ltda. A linha 01 referiu-se ao secador tipo rotativo e a linha 02 ao secador tipo esteira. Os resultados obtidos para a linha 01 indicaram diferença significativa para gorduras, proteínas e sacaroses, enquanto que para cinzas, fibras e glicoses não foi observada diferença significativa. Para os resultados obtidos para a linha 02 houve diferença significativa para proteínas, glicoses e sacarose, enquanto que as cinzas, fibras e gorduras não apresentaram diferença significativa ²⁸.

2.2 Técnicas de Análise

Dentre as técnicas de análise utilizadas para estudos de composição elementar da erva-mate encontrados na literatura, cita-se a Espectroscopia de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-MS) ⁷, a Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-OES) ⁷, a Espectrometria de Absorção Atômica (AAS) ⁴⁰, a Fluorescência de Raios X (XRF) ⁴¹ e Emissão de Raios X Induzidos por Partículas (PIXE) ^{27 42}.

A técnica de ICP-MS possibilita a análise multielementar, aliada a uma alta sensibilidade de detecção. Os limites de detecção da técnica se encontram no intervalo de 10^{-6} a 10^{-4} mg/kg para a maioria dos elementos. A técnica envolve a ionização da amostra com plasma acoplado indutivamente e a utilização de um espectrômetro de massa para separar e quantificar esses íons. Em geral, a amostra na qual se quer determinar os elementos com ICP-MS deve ser modificada de acordo com a exigência da técnica. A modificação química se refere a uma alteração controlada das propriedades térmicas das substâncias ou elementos químicos da amostra, componentes da matriz ou da superfície de vaporização, pela adição de uma substância, capaz de

melhorar a sensibilidade de detecção. Em geral, a substância utilizada depende do elemento que se quer determinar. Por exemplo, substâncias modificadoras de IrCl_3 e PdCl_2 , foram aplicadas para determinar Mn, Cu, Zn, Cd e Pb ⁴³.

A AAS é uma técnica de espectroscopia baseada na absorção da radiação por átomos livres que são extraídos da amostra para o estado gasoso ⁴⁴. A análise é feita através da incidência de radiação com comprimento de onda adequado, que pode ser raios ultravioletas ou de luz visível, na amostra no estado gasoso. Essa radiação interage com os elétrons de valência dos átomos da amostra, que são transferidos a um estado de maior energia. Através da medição da radiação emitida, logo após a desexcitação dos elétrons, é possível identificar os elementos químicos da amostra ⁴⁵.

A técnica de XRF baseia-se na produção e detecção de radiação. Pelas interações de radiações eletromagnéticas (raios X ou raios gama) com a amostra, pode ocorrer absorção, emissão e espalhamento de uma radiação eletromagnética secundária. Quando fótons com energia na região dos raios X interagem com os elétrons do átomo, os mesmos são ejetados criando-se uma vacância. Para promover a estabilidade do átomo, elétrons de camadas mais externas ocupam essa vacância. Como resultado, raios X característicos de cada elemento são emitidos da amostra. Através disso, é possível determinar quais e quantos elementos químicos são encontrados. Destaca-se que para os espectrômetros de laboratório os limites de detecção estão em torno de 10 mg/kg e dependem do elemento ⁴⁶.

Além dessas técnicas analíticas, existem outras como as baseadas em feixes de íons, também utilizadas para a análise de materiais: a *Emissão de Raios X Induzidos por Partículas* (PIXE) e a *Espectrometria de Retroespalhamento Rutherford* (RBS). Combinando as informações obtidas por ambas as técnicas, é possível realizar diversos estudos sobre composição elementar de diferentes materiais, como a caracterização de materiais biológicos e alimentos, a investigação da poluição do ar em diferentes ambientes, determinação de impurezas em materiais, dentre outras aplicações. Além dessas características, outras vantagens como aplicar a técnica PIXE ao caráter multielementar de análise, facilidade de preparação de amostras sem o uso de produtos químicos e elevada sensibilidade de detecção são notáveis. A ordem de grandeza do limite de detecção para PIXE é de em torno mínimo 1 ppm (ou mg/kg) ^{29 42 47 48}. Ambas

essas técnicas foram utilizadas nesse estudo e, portanto, são descritas a seguir com maiores detalhes.

2.2.1 Emissão de Raios X Induzidos por Partículas (PIXE)

2.2.1.1 Breve histórico

James Chadwick, em 1912, mostrou que partículas mais pesadas que os elétrons originavam a emissão de raios X. Esse fato mudou o rumo da história tanto para estudiosos em Física Nuclear quanto em Física Atômica, pois ambos tinham interesse em investigar a emissão de raios X ⁴⁷.

Em 1914, Moseley em seu estudo pioneiro sobre a energia das linhas de raios X características dos diferentes elementos da tabela periódica, determinou as frequências das linhas espectrais dos raios X característicos de cerca de 40 elementos, descobrindo uma relação entre o espectro de raios X de um elemento químico e seu número atômico ⁴⁹.

Em 1922, o sueco geólogo Hadding, informou sobre a análise de vários minerais. Ele usou partículas α de fonte radioativa para induzir a emissão de raios X. Detectou elementos em suas amostras e fez uma comparação com os resultados das análises realizadas com métodos químicos convencionais. Observou uma concordância qualitativa, mas não encontrou parâmetros analíticos que possibilitassem uma avaliação quantitativa ⁴⁷.

Baseando-se nestes conhecimentos prévios, em 1970, Sven A. E. Johansson et. al. ⁴⁷, no Instituto de Tecnologia de Lund, mostrou que um método muito eficiente para análise multielementar de amostras seria a utilização de um feixe de prótons de 2 mega-elétron-Volts (MeV) e a consequente detecção dos raios X usando um detector de Si(Li). A partir de experimentos voltados à pesquisa ambiental e biológica ^{50 51 52 53} foram evidenciadas inúmeras vantagens da técnica, como: determinação de elementos traço, elevada sensibilidade de detecção e boa resolução. Este novo método analítico recebeu o acrônimo PIXE ⁴⁷ (*Particle-Induced X-Ray Emission*, do inglês, ou *Emissão de Raios X Induzidos por Partículas*), sendo testado e aplicado em muitos laboratórios de Física Nuclear a partir da década de 1970 para determinação de elementos químicos em tecidos biológicos, bebidas, alimentos, amostras ambientais, dentre outros materiais ^{47 54}.

2.2.1.2 Princípios físicos

A técnica PIXE ⁴⁷ consiste na incidência de um feixe de íons (prótons ou partículas α) acelerado e colimado, obtido com o uso de um acelerador de partículas ⁵⁵. Para a detecção dos raios X emitidos pelo material em análise, usa-se um detector de radiação eletromagnética. Porém, entre o material e o detector muitas vezes é necessário utilizar um absorvedor para atenuar os raios X indesejáveis, os quais elevam a radiação de fundo. A informação que chega ao detector é de contagens de raios X, que logo é amplificada e quantificada pela conversão de um sinal analógico para uma representação digital ⁴⁷. Um conversor analógico-digital (*Analog Digital Converter* - ADC) ligado a um analisador de altura de pulso multicanal, finalmente realiza um registro espectral na tela de um computador, das contagens de raios X pelos seus canais associados ⁴⁷. A Figura 6 representa esse processo.

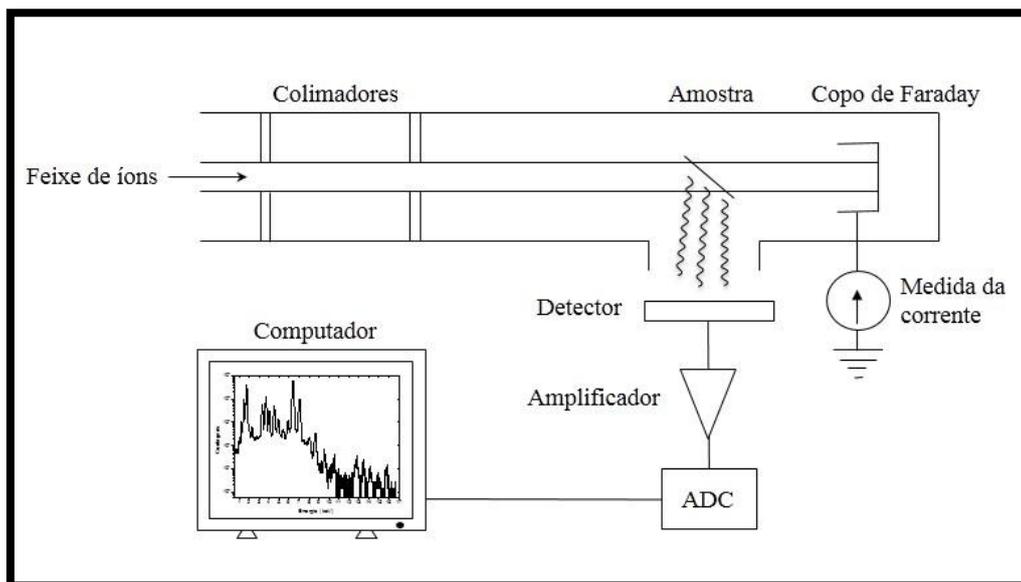


Figura 6. Diagrama esquemático da configuração experimental de PIXE.

Ao irradiar uma amostra com um feixe de íons, neste caso prótons, com energia da ordem de mega-elétron-Volts (MeV), um dos possíveis processos decorrentes da interação destes íons com a matéria é a emissão de raios X característicos da amostra. A transferência de energia pelo feixe de prótons propicia a ionização das camadas eletrônicas mais internas do átomo. Quando as vacâncias resultantes dessa ionização são preenchidas espontaneamente por elétrons mais externos, ocorre a emissão de raios X característicos. Portanto, os raios X emitidos são característicos de cada átomo ⁴⁸.

O espectro de raios X é determinado pelos níveis de energia dos elétrons no átomo. A Figura 7 mostra um diagrama de nível de energia para um determinado elemento com as transições eletrônicas que são permitidas pelas regras de seleção da Mecânica Quântica⁵⁷. As transições para a camada K indicam a emissão dos raios X K. Se um elétron da camada L preencher a vacância, a transição é representada por K_{α} ; se for da camada M, K_{β} . As transições para a camada L indicam a emissão dos raios X L. Estas transições estão divididas por subcamadas e podem ser muitas, especialmente para elementos pesados. No entanto, as subcamadas tem aproximadamente a mesma energia, por exemplo, $K_{\alpha 1}$ e $K_{\alpha 2}$, de forma que aparece como um único pico no espectro, dependendo da resolução do detector, e, além disso, algumas transições são de baixa intensidade. Transições de subcamadas M também acontecem para elementos a partir de $Z = 72$ ^{47 58}.

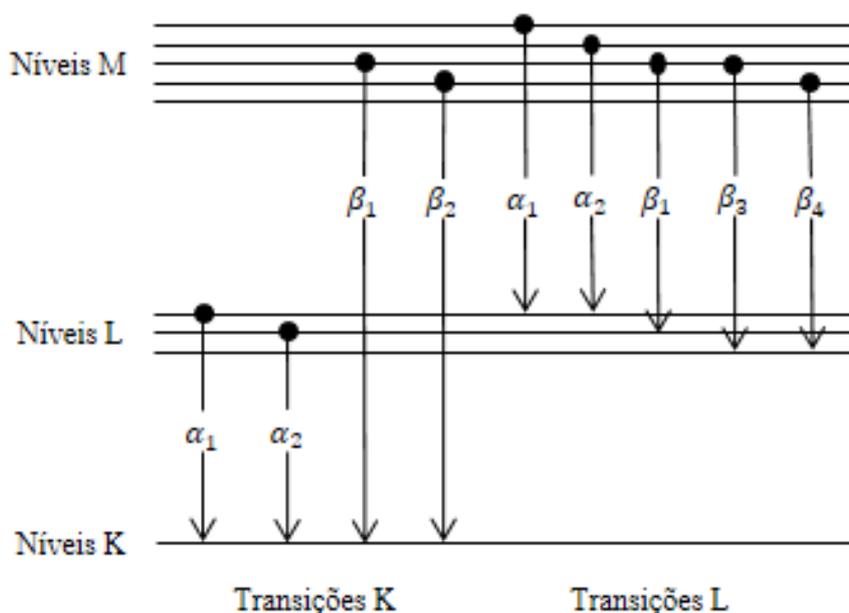


Figura 7. Níveis de energia e transições eletrônicas possíveis para um elemento qualquer. Figura adaptada de (Johansson, S. et. al., 1995)

2.2.1.3 Seção de choque, perda de energia e classificação dos alvos

Um dos principais fatores que rege a interação do feixe de íons com os átomos constituintes do material é a seção de choque de ionização, σ_{ion} . Este parâmetro relaciona a probabilidade de que um átomo seja ionizado devido à interação com outras partículas. A seção de choque de ionização não depende só dos átomos da amostra e da interação do íon incidente com a eletrosfera dos mesmos, mas também das

características do íon incidente como massa e energia. Além da ionização do átomo alvo, a consequente emissão de um fóton característico tem uma probabilidade de ocorrência, definindo a seção de choque de produção de raios X. Ambas as seções de choque são determinadas com o intuito de aprimorar e atualizar uma base de dados necessária para a quantificação dos espectros de PIXE ^{47 59}.

O feixe de íons ao interagir com um material de profundidade x , perde energia devido as diferentes colisões ocasionadas com os átomos do alvo. Estas interações são definidas, principalmente, pelas colisões inelásticas com os elétrons, caracterizando a perda de energia eletrônica $(dE/dx)_{ele}$ e, em menor frequência, uma perda de energia pelas colisões do feixe com os núcleos atômicos, que é a perda de energia nuclear $(dE/dx)_{nuc}$ ⁴⁸.

A perda de energia do feixe de íons será distinta em alvos com densidades diferentes e, no caso de análise com PIXE, uma maneira usada para categorizar alvos, é através da perda de energia total do feixe no material. Existem basicamente dois tipos de amostras para serem usadas como alvo em PIXE, as finas e as grossas.

Alvos finos são normalmente preparados em um substrato onde é aplicada uma pequena e representativa quantidade do material a ser irradiado. É dado este nome ao alvo, pois sua espessura é tal que o feixe de prótons perde apenas uma fração desprezível de sua energia ao atravessar a amostra. Efeitos de perda de energia podem ser desprezados em amostras desse tipo. Um exemplo de alvo fino é a poluição atmosférica depositada em um substrato a ser irradiado ^{27 60}.

Alvos grossos por serem constituídos de um material fragmentado, logo se tornam espessos o suficiente para frear totalmente o feixe de íons em seu interior devido a cada colisão com os elétrons e com os núcleos atômicos. Exemplos de amostras do tipo alvo grosso são as de solo, rochas, amostras orgânicas e biológicas, que podem passar pelo processo adequado de preparação ^{27 60}.

2.2.1.4 Padronização e quantificação

Para efetuar a quantificação de um espectro de PIXE ⁴⁷, primeiramente é necessário realizar uma calibração do detector de Si(Li), para obtenção da relação entre o canal (X_c) do detector e as características do raio X incidente em tal canal, como energia (E) e largura (W). O pulso de tensão cuja amplitude é proporcional á energia

dos raios X que incidem no detector tem o seu formato aproximadamente como na distribuição Gaussiana, com centro (X_c) e largura (W), de acordo com a energia E de cada pico de raios X (Equações 1 e 2), respectivamente:

$$Xc = A_1 + A_2 \times E \quad (1)$$

$$W/2 = \sqrt{A_4 + A_5 \times E} \quad (2)$$

nas quais, A_1 , A_2 , A_4 e A_5 são constantes e constituem parâmetros importantes utilizados na posterior quantificação dos espectros de PIXE ⁴⁷.

Um espectro típico obtido pela técnica de PIXE ⁴⁷ apresenta contagens de raios X em função da energia dos mesmos (Figura 8). Nele é possível identificar os elementos químicos através da energia de cada pico. Porém, parte dos raios X, abaixo dos 10 keV podem ser afetados pela radiação de fundo que está associada principalmente ao fenômeno *bremsstrahlung*. Esse fenômeno é descrito pela perda de energia cinética dos elétrons ionizados com os campos elétricos dos núcleos atômicos do alvo (interação coulombiana). Além disso, as contribuições de fluorescência secundária, atenuação de raios X e seção de choque do efeito fotoelétrico, devem ser consideradas na radiação de fundo ^{47 61}.

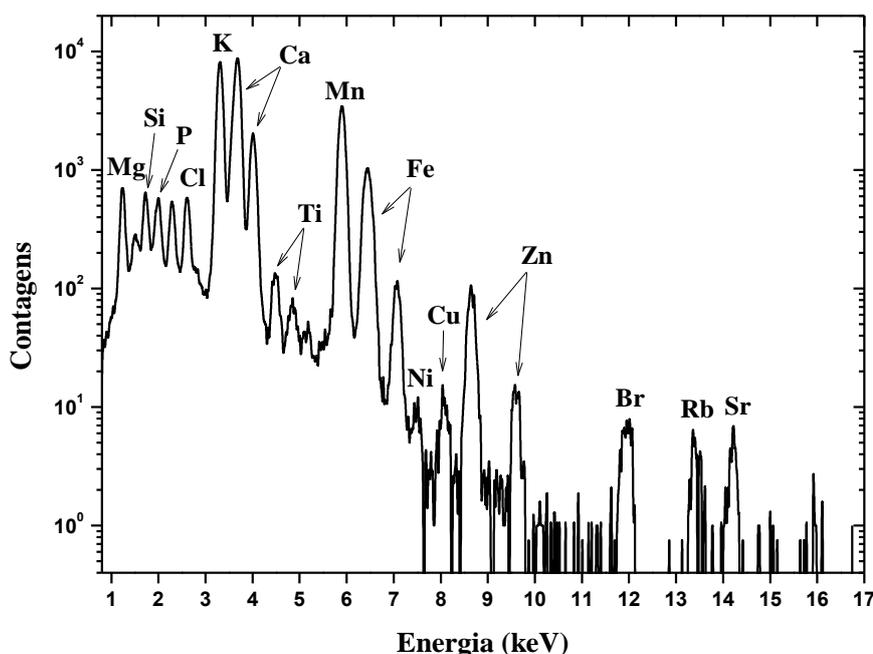


Figura 8. Exemplo de um espectro de PIXE, de contagens de raios X em função da energia dos elementos, para uma amostra de erva-mate.

Existem outras interações que contribuem para a geração do pulso de tensão no detector, além da radiação de fundo, uma delas são os chamados de picos de escape. Os picos de escape são caracterizados pelo espalhamento Compton e pela coleta incompleta de carga (ICC). O efeito Compton é explicado particularmente pela diminuição de energia de um fóton devido à interação com elétrons livres. Consideram-se os ângulos de espalhamento Compton e os fótons de raios X espalhados para tal efeito. Isto é, o processo acontece entre os fótons emitidos (raios X) pela amostra com os elétrons do material (detector) onde incidem os fótons ⁴⁹. No entanto, o efeito ICC demonstra que há concentrações de defeitos perto da superfície frontal do detector, ocasionando uma fuga parcial de elétrons Auger da região sensível do cristal de silício no detector. Emissão Auger é o nome dado quando um elétron de um átomo causa a emissão de um segundo elétron (elétron Auger) de outro átomo ⁴⁷.

Uma vez que o espectro de PIXE depende de diferentes parâmetros e grandezas físicas, é necessário uma base de dados completa, que inclui a energia das linhas dos raios X característicos, seção de choque de ionização e de produção de raios X, poder de freamento, dentre outros, para transformar as áreas dos picos de raios X em concentrações elementares. Portanto, considerando os conceitos citados de calibração, radiação de fundo, picos de escape, bem como os descritos no subcapítulo 2.2.1.3 e as contagens de raios X emitidas pelos elementos do alvo, a intensidade dos raios X ($Y(Z)$) é generalizada a qualquer subcamada atômica, através da Equação 3 ^{47 62 63}.

$$Y(Z) = \frac{N_{av}\omega_Z b_Z t_Z \varepsilon_Z^i (\Omega/4\pi)}{A_Z} N_p C_Z \int_{E_0}^{E_f} \frac{\sigma_Z(E) T_Z(E)}{S_M(E)} dE \quad (3)$$

na qual:

- N_{av} : número de Avogadro;
- ω_Z : fluorescência;
- b_Z : fração de intensidade dos raios X;
- t_Z : transmissão através de qualquer absorvedor interposto entre a amostra e o detector;
- ε_Z^i : eficiência intrínseca do detector (dependente da geometria do sistema e da eficiência intrínseca do cristal);
- $(\Omega/4\pi)$: fração do ângulo sólido subtendida pelo detector;

- N_p : número de prótons;
- C_Z : concentração elementar;
- E_0 e E_f : energias dos prótons de entrada e saída;
- $\sigma_Z(E)$: seção de choque de ionização da camada K para prótons com energia E correspondendo a uma profundidade x no interior da amostra;
- $T_Z(E)$: fator de transmissão de raios X na matriz;
- $S_M(E)$: poder de freamento da matriz (*stopping power*), descrita pela equação 4, em que ρ representa a densidade da amostra.

$$S_M(E) = \frac{1}{\rho} \frac{dE}{dx} \quad (4)$$

A matriz é o conjunto de elementos de maior concentração em uma amostra. Quase 100% da massa total da amostra é representada pela soma das massas destes elementos ⁶⁰.

Considerando a ionização da camada K de elementos com número atômico Z , massa atômica A_Z , e concentração C_Z , o número de vacâncias dN_K produzidas ao longo de um elemento dx do caminho percorrido pelo feixe é:

$$dN_K = \frac{N_p N_{av} C_Z \sigma_Z(E) dE}{A_Z S_M(E)} \quad (5)$$

em que N_p é o número de prótons, N_{av} o número de Avogadro e $\sigma_Z(E)$ a seção de choque de ionização na camada K ⁴⁷.

Definindo o número teórico de contagens de raios X ($Y_I(Z)$) por unidade de ângulo sólido, por unidade de carga e por unidade de concentração, a Equação 3 pode ser reduzida para a Equação 6 ⁴⁸.

$$Y(Z) = Q f_Q \Omega \varepsilon^i z t_z C_Z Y_I(Z) \quad (6)$$

Na Equação 6, Q é o valor da carga do feixe e f_Q é um fator de conversão para carga absoluta. Deste modo, através dessa equação é definida a constante experimental H , que reúne os fatores experimentais e geométricos específicos para determinado sistema PIXE. Logo a equação 6 se torna:

$$Y(Z) = H \varepsilon^i z t_z C_Z Y_I(Z) \quad (7)$$

Nesta equação, C_Z representa a concentração de um determinado elemento de número atômico Z em uma amostra, levando em conta a intensidade de um pico de raios X característicos. Para obter a concentração de um elemento, alguns programas computacionais podem ser utilizados, como o GUPIXWIN⁶⁴. Este programa faz uso de um banco de dados experimentais e teóricos, para uma análise quantitativa. Exemplos desses dados são a fração do ângulo sólido subtendida pelo detector, espessura do detector, eficiência intrínseca do cristal, dentre outros. Com apenas uma quantidade física descrita por " H " é possível reunir o fator de padronização do sistema. Para isso, é necessário o uso de padrões, cuja matriz seja similar aquela da amostra de interesse e que contenha elementos traço representativos⁴⁷.

A análise dos elementos constituintes de um material por PIXE depende de cada sistema experimental, especialmente do detector usado. No caso do sistema PIXE⁴⁷ utilizado no presente trabalho, não foi possível quantificar os elementos com $Z < 11$. Para isso, foi necessário utilizar uma técnica complementar para a determinação da matriz, que é a técnica de Espectrometria de Retroespalhamento Rutherford (RBS) (*Rutherford Backscattering Spectrometry*), que será descrita a seguir.

2.2.2 Espectrometria de Retroespalhamento Rutherford (RBS)

Em 1911, Ernest Rutherford demonstrou que o modelo de Thomson era inadequado para representar o modelo atômico. Fez isso, através do experimento sobre o espalhamento de partículas α por átomos. Um cálculo detalhado da distribuição angular que seria esperada para o espalhamento de partículas α por átomos do tipo por ele proposto, levou a Rutherford desenvolver a sua teoria. Devido a estas considerações de Ernest Rutherford, e pelo fato deste experimento ser semelhante com a técnica, o nome da técnica analítica de feixes de íons RBS (*Rutherford Backscattering Spectrometry*) é em sua homenagem⁴⁹.

Baseado nisso, RBS é descrita pela interação de íons monoenergéticos, que podem ser de hélio (He^+) ou de hidrogênio (H^+), com os átomos do material em estudo através do espalhamento Rutherford⁴⁸, através de colisões elásticas. Após esta interação íon-matéria, os íons incidentes são espalhados de acordo com a transferência de energia para átomos da amostra, sendo espalhados e detectados por um detector de barreira de superfície, localizado no ângulo de espalhamento. Portanto, o detector mede a quantidade de energia que os íons espalhados perdem na interação com o alvo. Por

exemplo, se M_1 é a massa dos íons do feixe de incidente, que interagem com M_2 , que representa a massa de um átomo da amostra (Figura 9), os íons do feixe adquirem nova velocidade, v_1 , e uma nova energia E_1 , após a interação, assim como M_2 que passa a ter nova velocidade e energia, v_2 e E_2 respectivamente ⁶⁵.

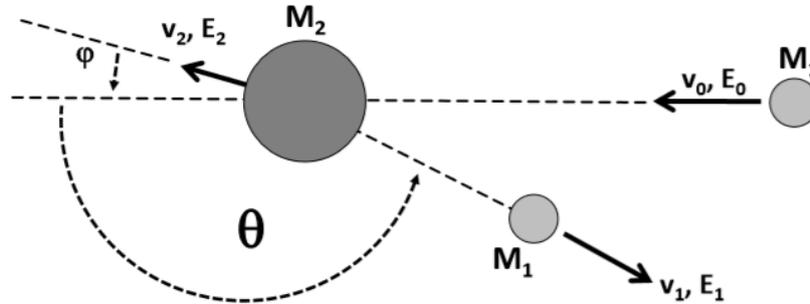


Figura 9. Representação do processo de interação íon-matéria, em que M_1 é a massa do íon incidente com velocidade v_0 e energia E_0 , e M_2 é massa do átomo alvo ⁴⁸.

A análise de um material por RBS depende de alguns fatores, como a seção de choque de espalhamento σ , o poder de freamento, a lei de distribuição de perda de energia e do fator cinemático K .

Seção de choque de espalhamento σ , refere-se à probabilidade de ocorrência de colisão de um íon do feixe incidente em um átomo i , num ângulo sólido diferencial $d\Omega$ com o detector, localizado a um ângulo de espalhamento θ . Considerando uma repulsão de potencial Coulombiano entre duas cargas positivas, obtém-se a seção de choque diferencial de Rutherford $\left(\frac{d\sigma_i}{d\Omega}\right)_R$ ⁶⁶, dada pela seguinte equação

$$\left(\frac{d\sigma_i}{d\Omega}\right)_R = \left(\frac{Z_1 Z_i e^2}{4E_1}\right)^2 \frac{4}{\text{sen}^4\theta} \frac{\{[1 - ((M_1/M_i)\text{sen}\theta)^2]^{1/2} + \cos\theta\}^2}{[1 - ((M_1/M_i)\text{sen}\theta)^2]^{1/2}} \quad (8)$$

em que Z_1 é o número atômico do íon incidente, Z_i é o número atômico do alvo e e é a carga do elétron.

Taxa média de perda de energia $\frac{dE}{dx}$, ou poder de freamento, é a informação de profundidade atingida pelo íon no interior do material em análise ⁶⁵.

Lei de distribuição de perda de energia que rege as flutuações estatísticas entre dois íons de mesma energia percorrendo uma mesma distância dx , ao longo da amostra. Nesse processo, a variância dessa distribuição de perda de energia é chamada de *straggling* ⁶⁵.

Energia transferida pelo íon incidente ao alvo define o conceito de fator cinemático K . O fator cinemático é uma grandeza física, definida pela razão entre a energia após o espalhamento E_f e a energia antes do espalhamento E_i (Equação 9). O fator cinemático é o parâmetro essencial para a identificação dos elementos que compõem o material analisado.

$$K \equiv \frac{E_f}{E_i} \quad (9)$$

3 METODOLOGIA

Nesse capítulo será descrita a metodologia utilizada para a preparação de amostras para análise através das técnicas de feixe de íons, RBS⁶⁶ e PIXE⁴⁷, bem como os critérios de escolha das amostras que foram adquiridas comercialmente. Serão descritos também os principais aspectos experimentais de ambas estas linhas de análise utilizadas neste trabalho, e do acelerador de partículas do Laboratório de Implantação Iônica (LII) do Instituto de Física da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (IF-UFRGS), com o qual foi estabelecida colaboração para desenvolvimento deste projeto. E, por fim, serão descritos os métodos de ajuste e consequente quantificação dos espectros de PIXE e RBS, e de análise estatística dos dados.

3.1 Amostras

3.1.1 Descrição das amostras

Foram adquiridos três (03) lotes distintos para cada uma das nove (09) marcas de erva-mate adquiridas no comércio de Porto Alegre, Rio Grande, Santa Vitória do Palmar e Chuí, que foram escolhidas de forma a representarem as diferentes regiões produtoras do estado do Rio Grande do Sul e Santa Catarina, bem como uma região de produção do Uruguai e uma da Argentina. A região de procedência das diferentes marcas de erva-mate foi considerada como sendo a informada no rótulo das embalagens, ou seja, a mesma informação de origem a qual o consumidor tem acesso.

O mapa da Figura 10 mostra as diferentes regiões de produção das ervas-mate analisadas, que são melhor detalhadas na Tabela 1, sendo (1-5) do Rio Grande do Sul - BR, (6 e 7) de Santa Catarina - BR, (8) Montevideu - URU e (9) Corrientes - ARG. Foram adquiridas sete (07) marcas do tipo tradicional e sem açúcar, uma (01) do tipo artesanal produzida pelo método barbaquá (região 3 do mapa da Figura 10) e uma (01) do tipo nativa sem açúcar (região 6 do mapa da Figura 10), totalizando as nove (09) marcas estudadas.

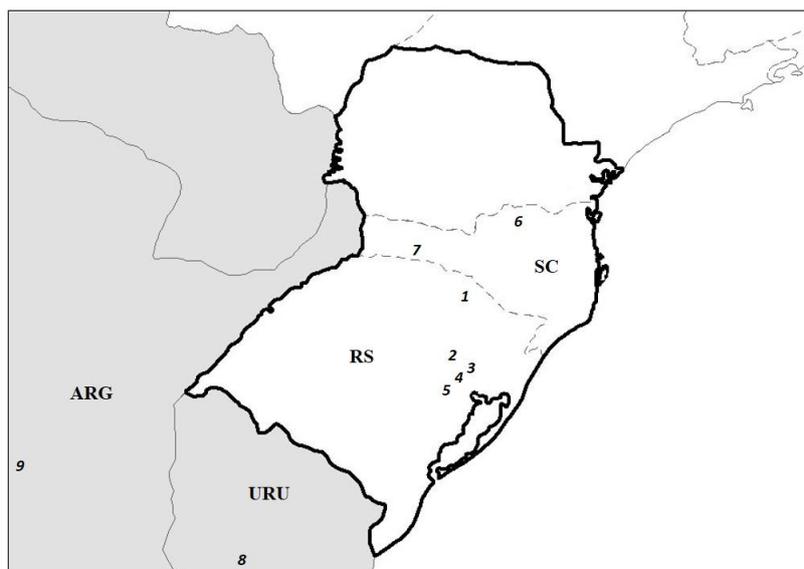


Figura 10. Mapa indicativo das diferentes regiões de produção das ervas-mate analisadas. Detalhes sobre as regiões e respectivas amostras são fornecidos na Tabela 1.

O número de amostras analisadas por PIXE ⁴⁷ por região e uma abreviação para cada região escolhida, que será utilizada como referência à respectiva região, estão descritos na Tabela 1. Essa abreviação dos nomes das regiões estudadas foi a nomenclatura escolhida também para as diferentes marcas de erva-mate.

Tabela 1. Nomenclatura utilizada e número de amostras de erva-mate analisadas pela técnica PIXE, por lote e por região.

Região	Nomenclatura	Número de amostras por lote			Número de amostras por região (n)
		Lote 1	Lote 2	Lote 3	
1 - Barão de Cotegipe - RS	BC	5	5	5	15
2 - Ilópolis – RS	IL	5	5	5	15
3 - Bento Gonçalves – RS	BG	5	5	5	15
4 - Doutor Ricardo – RS	DR	5	5	5	15
5 - Venâncio Aires – RS	VA	5	5	5	15
6 - Canoinhas – SC	CA	5	5	5	15
7 - Chapecó – SC	CH	5	0*	0*	5
8 - Montevidéu – URU	MO	5	10	0*	15
9 - Corrientes – ARG	CO	5	10	0*	15
Total = 125					

*Para esta marca de erva-mate de Santa Catarina, não foi realizada a análise dos lotes 2 e 3, bem como para o lote 3 das marcas procedentes do Uruguai e da Argentina, devido à falta de diferentes lotes no mercado regional na época das análises.

3.1.2 Preparação das amostras

Para análise com PIXE ⁴⁷, foi necessário obter amostras sólidas e secas, uma vez que as irradiações com o feixe de íons no LII foi realizada no interior de uma câmara mantida em vácuo. Além disso, precisaram ser homogêneas, de modo que a informação obtida a partir do ponto de incidência do feixe de íons representasse toda a amostra, e possuir uma superfície lisa, a fim de que os parâmetros como distância entre alvo e detector, e ângulo de emissão e de detecção dos raios X não fossem alterados, de forma a não comprometer a quantificação dos elementos químicos constituintes do material.

Seguindo estes critérios, a preparação das mesmas consistiu em separar os pequenos galhos existentes no produto empacotado das folhas moídas, através de uma peneira (Figura 11 I, II e III), de forma a obter um material mais homogêneo possível (Figura 11 IV). Este processo foi repetido para todas as marcas analisadas, obtendo assim um padrão de amostras. Com o uso de uma matriz metálica de aço temperado e de uma prensa hidráulica (Figura 11 V), esse material foi compactado na forma de discos cilíndricos (Figura 11 VI). Posteriormente, as amostras de erva-mate, com 25 mm de diâmetro (d), 3 mm de altura (h) e aproximadamente 1 g, foram fixadas em um suporte metálico (porta-amostras) (Figura 11 VII), que foi colocado dentro da câmara de análises do sistema PIXE do LII.

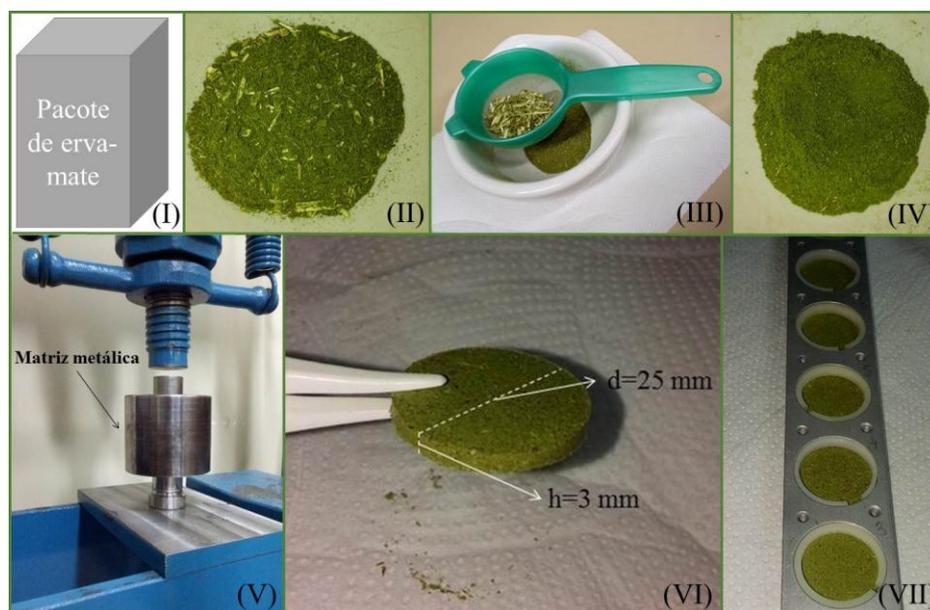


Figura 11. Processo de preparação de amostras de erva-mate: (I) Pacote de erva-mate; (II) Erva-mate antes da peneira; (III) Peneira; (IV) Erva-mate após passar pela peneira; (V) Matriz metálica e prensa hidráulica; (VI) Amostra de erva-mate com respectivos valores de diâmetro e altura; (VII) Suporte para as amostras.

Para análise com RBS ⁶⁶ foi preparada apenas uma (01) amostra, seguindo os mesmos passos que na preparação para PIXE, exemplificados na Figura 11, que foi irradiada em dois pontos diferentes. No entanto, essa amostra consistiu numa mistura das ervas-mate dos diferentes lotes e marcas escolhidas.

3.2 Técnicas de análise por feixe de íons

As técnicas de PIXE ⁴⁷ e RBS ⁶⁶ foram utilizadas em colaboração com o Laboratório de Implantação Iônica (LII) do IF-UFRGS. As mesmas fazem parte de um conjunto de técnicas existentes nesse laboratório, de acordo com as diferentes linhas de aplicação do acelerador Tandetron. Na sequência desse subcapítulo, serão descritas as principais características do acelerador e as condições experimentais de realização das análises por ambas essas técnicas.

3.2.1 Acelerador de partículas do LII (IF-UFRGS)

O principal equipamento utilizado para obter os dados via PIXE e RBS foi o acelerador de partículas Tandetron (modelo TN-4130-HC) do LII (IF-UFRGS). Este acelerador, de fabricação da *High Voltage Engineering Europa* (HVEE), possui uma tensão terminal de 3 MV e apresenta diferentes linhas de aplicação, dentre elas microPIXE, Implantação Iônica, RBS e PIXE.

Para obter o feixe de prótons (H^+) usado nas irradiações de PIXE ⁴⁷, foi utilizada uma fonte de íons negativos do tipo *sputtering* (SNICS: *Source of Negative Ions by Cesium Sputtering*). A obtenção do feixe de prótons consiste basicamente em aquecer césio (Cs) para produzir um vapor, que ioniza uma resistência e propicia a saída de Cs^+ . Íons de Cs^+ são focalizados na direção de um material constituído de hidreto de titânio (TiH_2). Por *sputtering* no material, átomos de titânio (Ti) e hidrogênio (H) são extraídos, ao mesmo tempo em que recebem os elétrons doados do Cs^+ , tornando-se negativos. O potencial negativo repele os íons de Ti^- e H^- a um terminal positivo. Ao passarem por um sistema de seleção e injeção de íons, composto por magnetos e fendas ajustáveis, os íons são selecionados de acordo com a sua massa, devido a atração magnética dos íons com os magnetos. Neste caso os íons de Ti^- são atraídos e deixam de fazer parte do feixe. O feixe de íons negativos de hidrogênio (H^-) passa por um sistema de troca de cargas na região central do acelerador, constituído por nitrogênio gasoso (N_2). Devido à interação de H^- com esse gás, os íons negativos perdem seus elétrons, tornando-se positivos (prótons ou H^+). Ao sair do sistema de troca de cargas, os prótons

são repelidos e acelerados ao fim do tubo de aceleração, recebendo energia proporcional à diferença de tensão. O feixe de prótons (H^+) que sai do tubo de aceleração é desviado por um sistema de magnetos para a linha de PIXE, e chega à câmara de análise com determinada energia com a qual colide com a amostra ^{47 67}. A Figura 12 ilustra um esquema do acelerador, a obtenção do feixe de H^+ e as diferentes linhas de aplicação do acelerador.

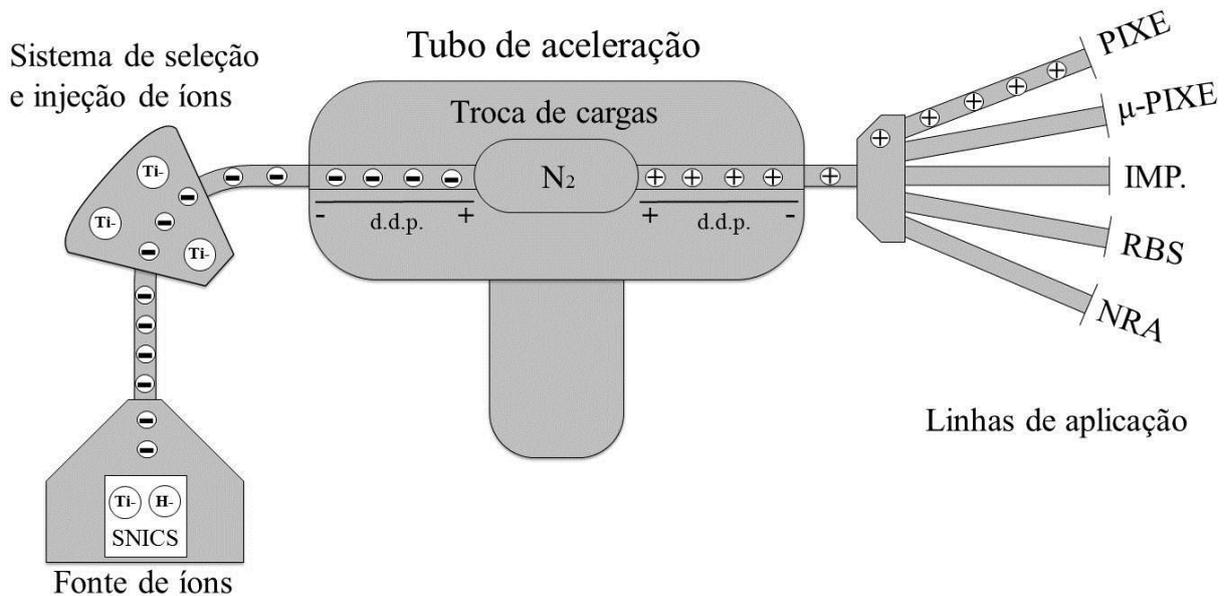


Figura 12. Esquema do acelerador de partículas Tandetron do LII do IF-UFRGS, ilustrando a obtenção do feixe de prótons a partir de uma fonte de íons (SNICS).

3.2.2 Sistema de PIXE

O sistema de PIXE ⁴⁷ do LII é constituído basicamente por uma câmara de análise, dois detectores, um de germânio hiperpuro (HPGe, fabricado pela *Ortec*) e outro de silício dopado com lítio (Si(Li), *Sirius 80 e2V da Scientific Instruments*), ambos posicionados a 45° com relação a direção de incidência do feixe (Figura 13), um sistema de quatro multicanais (*Multiport II*) e um programa de aquisição de dados (*Gamma Aquisition & Analysis (Genie 2000)*).

Para realização das análises, o suporte metálico contendo as amostras como descrito em 3.1.2 (*Preparação das amostras*), foi fixado no interior da câmara de análise, perpendicularmente à direção de incidência do feixe de íons. A câmara foi mantida em vácuo de 10^{-6} mbar, aproximadamente, durante os experimentos. Próximo

ao suporte das amostras, um filamento de tungstênio (W) foi usado como um canhão de elétrons, com o objetivo de descarregar eletricamente amostras isolantes, como as estudadas nesse trabalho. Com o auxílio de um motor de passo e pelo monitoramento por uma câmera de vídeo acoplada à câmara de reações, foi possível alterar a posição das amostras a serem irradiadas.

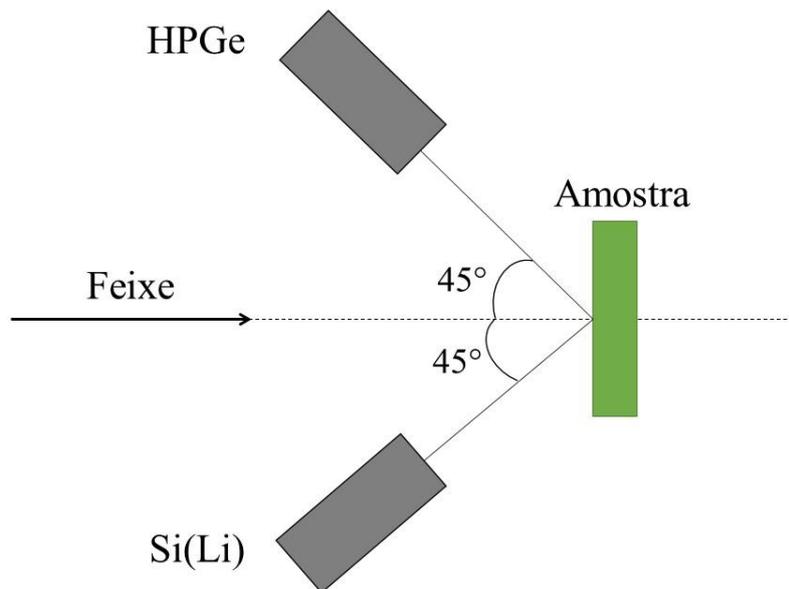


Figura 13. Desenho esquemático ilustrando a posição dos detectores de HPGe e Si(Li), bem como os ângulos de detecção dos raios X emitidos pela amostra.

O detector de HPGe é usado, em geral, para a detecção de raios X em uma ampla faixa de energia, incluindo as linhas de emissão K_{α} de elementos com $Z > 40$, não detectáveis pelo detector de Si(Li), enquanto que este é usado para a detecção das linhas de emissão de raios X com energia entre 1 e 16 keV, aproximadamente, o que inclui as linhas K_{α} de elementos com $11 \leq Z \leq 40$ e linhas de emissão L e M com energias compreendidas também nessa faixa de energia.

Neste trabalho, foi usado apenas o detector de Si(Li), cuja resolução é de aproximadamente 150 eV em 5,9 keV, devido ao fato de que, observado o espectro de raios X para uma amostra de erva-mate, verificou-se que não haviam linhas de emissão de raios X para elementos mais pesados que os detectáveis pelo detector de Si(Li). Foi utilizado um filtro de *mylar* de 358,5 μm , com um orifício central de 1,234 mm^2 posicionado em frente ao detector de Si(Li), a fim de reduzir o excesso de contagens de raios X provenientes de elementos de menor energia do espectro PIXE⁴⁷.

Após a obtenção dos espectros qualitativos de PIXE, procedeu-se com a quantificação dos mesmos para obtenção das concentrações elementares. Para tal, foi necessário realizar a calibração e padronização do sistema. Para tanto, procedeu-se com a medição de uma amostra de padrão de folhas de maçã (NIST, *reference material* 1515), que foi previamente selecionada devido a sua semelhança com o material a ser analisado (erva-mate). A calibração e padronização do sistema PIXE está descrito no Anexo 1.

Após realizar a calibração e padronização do sistema PIXE ⁴⁷, foi feito o *recovery*, que é a recuperação dos valores certificados de concentração do padrão de folhas de maçã utilizado. Estes valores deveriam ser aproximadamente iguais aos valores certificados, ou apresentar baixa incerteza, de forma que se possa prosseguir com a determinação das concentrações elementares do material analisado, no caso, de erva-mate. A Tabela 2 mostra os valores de H e do respectivo *recovery* para cada data em que foram realizadas as medições por PIXE das amostras de erva-mate.

A partir da obtenção dos valores de H , foi gerado um arquivo de extensão *HED*, para cada uma das datas de análise com PIXE ⁴⁷, contendo os valores de H em função da energia (E) dos raios X característicos. Este arquivo é necessário para quantificação dos espectros das amostras de erva-mate, através do programa GUPIWWIN ⁶⁴.

Tabela 2. Valores de H (adimensional), para diferentes linhas de emissão dos raios X, e do respectivo *recovery* (em mg/kg) para cada data de realização de medições de PIXE da erva-mate, obtidos utilizando-se uma amostra do padrão de folhas de maçã. Os dados entre parênteses informam o erro percentual pela comparação dos valores certificados de concentração com os obtidos por PIXE.

<i>Elemento</i>	<i>H</i>			<i>Recovery (ppm) (%)</i>		
	24/08/16	26/10/16	27/10/16	24/08/16	26/10/16	27/10/16
<i>Mg</i> K_{α}	0,01553	0,0157	0,01498	2710 (0,00)	2710 (0,00)	2710 (0,00)
<i>Al</i> K_{α}	0,01666	0,01715	0,01782	286,1 (0,03)	286 (0,00)	286 (0,00)
<i>P</i> K_{α}	0,01498	0,01509	0,01484	1590 (0,00)	1590 (0,00)	1590 (0,00)
<i>S</i> K_{α}	0,01575	0,01595	0,01594	1800 (0,00)	1800 (0,00)	1801 (0,06)
<i>Cl</i> K_{α}	0,01725	0,01726	0,01588	579 (0,00)	578,9 (0,02)	578,3 (0,12)
<i>K</i> K_{α}	0,02127	0,02143	0,02055	16100 (0,00)	16103 (0,02)	16101 (0,01)
<i>K</i> K_{β}	0,02053	0,0204	0,0191	16096 (0,02)	16098 (0,01)	16096 (0,02)
<i>Ca</i> K_{α}	0,02088	0,02086	0,0195	15260 (0,00)	15262 (0,01)	15258 (0,01)
<i>Ca</i> K_{β}	0,02064	0,02067	0,01936	15255 (0,03)	15259 (0,01)	15258 (0,01)
<i>Mn</i> K_{α}	0,021	0,02057	0,02002	54,02 (0,04)	54,01 (0,02)	54,01 (0,02)
<i>Fe</i> K_{α}	0,02605	0,02812	0,02527	82,99 (0,01)	83,01 (0,01)	82,98 (0,02)
<i>Fe</i> K_{β}	0,02565	0,02754	0,02613	82,99 (0,01)	83,02 (0,02)	83,01 (0,01)
<i>Cu</i> K_{α}	0,02672	0,03211	0,02371	5,64 (0,00)	5,641 (0,02)	5,64 (0,00)
<i>Zn</i> K_{α}	0,02645	0,02769	0,01269	10,2 (18,40)	12,5 (0,00)	12,49 (0,08)
<i>Zn</i> K_{β}	0,0269	0,0099	0,02115	12,5 (0,00)	5,044 (59,65)	12,5 (0,00)
<i>Rb</i> K_{α}	0,01945	0,01166	0,01415	10,2 (0,00)	10,19 (0,10)	10,19 (0,10)
<i>Sr</i> K_{α}	0,00904	0,02622	0,03089	25,01 (0,04)	25 (0,00)	25 (0,00)

3.2.3 Sistema de RBS

Para a análise de erva-mate por RBS ⁶⁶, foi utilizado um feixe hélio (He^{2+} , partículas alfa), com energia de 2000 keV e um detector barreira de superfície para detecção dos íons retroespalhados. O detector foi posicionado a 15° com relação à direção de incidência do feixe. A amostra de erva-mate irradiada nestas condições consistiu de uma mistura de diferentes lotes de todas as marcas estudadas neste

trabalho, em semelhantes proporções, conforme descrito em 3.1.2. Dois diferentes pontos dessa amostra foram irradiados, sendo obtidos dois espectros de RBS para determinação da matriz da erva-mate.

Nesse caso, também foi necessário calibrar o sistema, através da medição de um padrão. Para isso, utilizou-se uma amostra de padrão de ouro (Au), sendo a mesma irradiada com um feixe de hélio (He^{2+}), com energias de 1500, 1800, 2000 e 2200 keV, sucessivamente. A calibração do sistema de RBS está descrito no Anexo 2.

Obtidos os parâmetros de calibração, procedeu-se com o ajuste dos espectros de RBS ⁶⁶ obtidos para ambos os pontos irradiados da amostra de erva-mate, utilizando-se o programa computacional SIMNRA ⁶⁹. Fornecendo ao programa os dados das condições experimentais, foi possível simular o melhor ajuste ao espectro experimental (Figura 14), obtendo os elementos (em porcentagem) que constituem a matriz da erva-mate, como C, B, O, N e F. No entanto, não foram considerados os elementos K, Ca, Na, Fe, Cl e P incorporados no programa SIMNRA ⁶⁹, como sendo parte da matriz, pois sua porcentagem foi muito baixa com relação aos outros elementos mais leves.

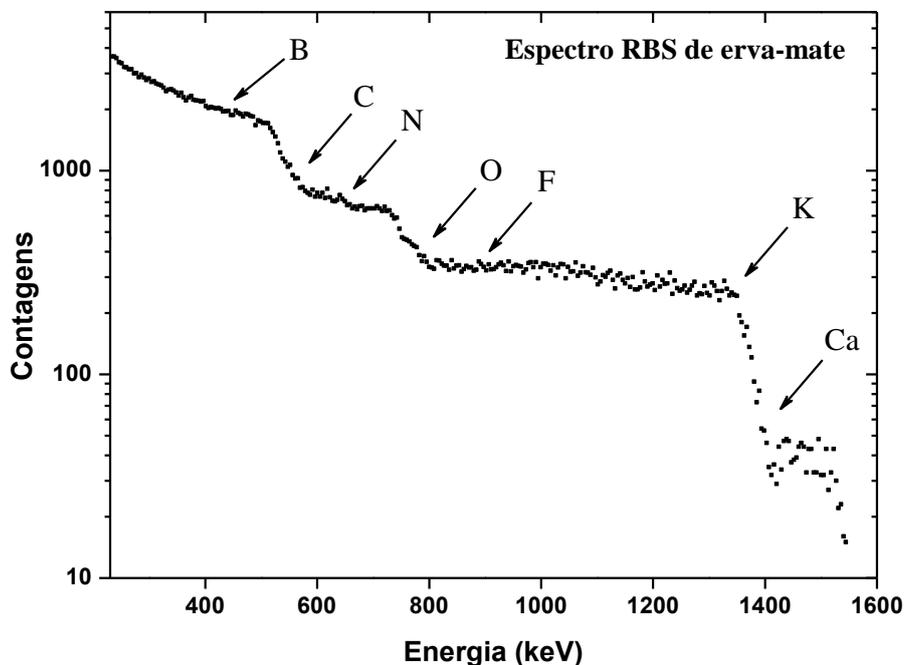


Figura 14. Espectro de RBS de erva-mate para um dos pontos irradiados, no qual consiste nas contagens dos íons retroespalhados pela energia perdida pelos mesmos após a interação com os elementos químicos da amostra.

3.2.4 Parâmetros das medidas com RBS e PIXE

Todas as medidas de RBS ⁶⁶ e PIXE ⁴⁷ foram realizadas no LII (IF-UFRGS), conforme descrito no subcapítulo 3.2.1. A Tabela 3 apresenta alguns parâmetros das medições realizadas utilizando as técnicas PIXE e RBS. Parâmetros como tempo e corrente elétrica, no sistema PIXE, para medições das amostras de erva-mate e de padrão de folhas de maçã, foram testados e escolhidos de forma a otimizar a realização dos experimentos, propiciando obter espectros com um número suficiente de contagens para a quantificação, menor radiação de fundo e evitar danos à amostra.

Tabela 3. Parâmetros das medições realizadas com RBS e PIXE.

	PIXE	RBS
Íon	Próton (H ⁺)	Hélio (He ²⁺)
Energia do feixe (MeV)	2	2
Tempo de medida (s)	400 (erva-mate)	-
	600 (folhas de maçã)	-
Corrente (nA)	3,2 (erva-mate)	-
	3,2 (folhas de maçã)	-
Detector	Si(Li)	Barreira de superfície
Programas utilizados	GUPIXWIN	SIMNRA
	Origin	Origin

3.3 Análise dos dados

Após os espectros de PIXE ⁴⁷ terem sido quantificados, através do programa GUPIXWIN ⁶⁴, os valores de concentração elementar foram comparados com os valores do limite de detecção (LOD). Concentrações elementares inferiores ao limite de detecção foram excluídas para cada elemento quantificado de cada amostra analisada.

As concentrações elementares foram, então, submetidas à análise estatística, que consistiu na comparação dos dados de concentração elementar entre os lotes de uma mesma região. Após esta etapa, a comparação entre as médias das concentrações elementares entre as regiões de estudo para cada elemento também foi realizada.

Em ambos os casos, foi considerado o teste de *Análise de Variância – ANOVA FATOR ÚNICO* ⁷⁰. Esse teste identifica a variação total entre os valores obtidos, ou seja, difere os grupos estudados, neste caso, tanto lotes de erva-mate como regiões de produção. Porém, ANOVA não indica quais são os grupos que se diferenciam, sendo

comparados dois a dois. A identificação de diferenças entre médias, tomando-as duas a duas, foi realizada através do teste de *Tukey*. E para ambos os testes foi atribuído um nível de significância $p = 0,05$. Para tais análises foi utilizado o programa computacional SPSS 15.0 ⁷¹.

Além disto, para identificar a variabilidade na concentração elementar encontrada entre os lotes e entre as regiões foi utilizada a *Análise Multivariada de Componentes Principais* (PCA). O objetivo da PCA é tomar x variáveis X_1, X_2, \dots, X_x e encontrar combinações lineares destas para produzir índices Z_1, Z_2, \dots, Z_x que sejam não correlacionados na ordem de sua importância (Equação 10), e que descreva a variação nos dados. A PCA encontra os valores de uma matriz de correlação para as variáveis padronizadas. Por isso, a análise do coeficiente de correlação de *Pearson* (r) entre as concentrações elementares das regiões também foi realizada. O coeficiente de correlação mede a associação entre duas variáveis, porém sem causa e efeito entre as mesmas. A correlação pode ser fraca ($0 < r < 0,3$), regular ($0,3 < r < 0,6$), forte ($0,6 < r < 0,9$) ou muito forte ($0,9 < r < 1,0$) ⁷⁰.

$$Z_i = a_{i1}X_1 + a_{i2}X_2 + \dots + a_{ix}X_x \quad (10)$$

Outro método multivariado utilizado foi a *Análise Hierárquica de Agrupamentos* (HCA), na qual basicamente grupos são ordenados (lotes ou regiões) em classes, de modo que grupos similares estejam na mesma classe. O parâmetro de agrupamento frequentemente utilizado em HCA é a distância euclidiana (d_{ij}). Sua forma generalizada é descrita pela Equação 11. Esta distância é calculada para cada grupo e, de acordo com o valor encontrado, dois grupos são agrupados formando um novo grupo, e a distância é recalculada para todo o conjunto. Com HCA é possível confirmar os resultados obtidos com PCA e visualizar nitidamente alguns agrupamentos formados que não apresentaram grupos evidentes em PCA ^{72 73}. Para ambas as análises de correlação, PCA e HCA, foi utilizado o programa computacional *PAST Software* ⁷⁴.

$$d_{ij} = \left[\sum_{k=1}^p (X_{ik} - X_{jk})^2 \right]^{1/2} \quad (11)$$

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Neste trabalho, foram analisadas cento e vinte e cinco (125) amostras de erva-mate procedentes de nove municípios distintos, do Brasil, Uruguai e Argentina. A seguir, os resultados serão apresentados e discutidos.

4.1 Comparação da concentração elementar da erva-mate entre os lotes de cada região

De acordo com os resultados obtidos por RBS ⁶⁶, foi determinada a matriz da amostra de erva-mate. A partir dos dois espectros obtidos pela irradiação dos dois pontos distintos da amostra, fez-se a média das porcentagens dos elementos químicos desta matriz, resultando em: 63,85% de C; 19,5 % de B; 9,45 % de O; 6,65% de N e 0,55% de F.

Obtida a matriz, procedeu-se com a quantificação dos espectros das cento e vinte e cinco (125) amostras analisadas por PIXE ⁴⁷, que mostrou ser a erva-mate composta por Mg, Al, Si, P, S, Cl, K, Ca, Ti, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Br, Rb, Sr e Ba. Em todas as marcas procedentes das diferentes regiões estudadas foram quantificados estes dezoito (18) elementos químicos, através do programa computacional GUPIXWIN ⁶⁴.

Os resultados das análises dos lotes mostraram que, por exemplo, a região de IL apresentou um número menor de elementos cujas concentrações são diferentes estatisticamente entre os lotes, enquanto que um número maior de elementos em diferentes concentrações foi observado para os lotes procedentes da região de BG. As Figuras 15 e 16 ilustram esses resultados. Isto pode ocorrer, visto que a matéria prima utilizada na produção dos lotes de BG é oriunda de diferentes regiões do RS. Porém essa informação não consta no rótulo das embalagens.

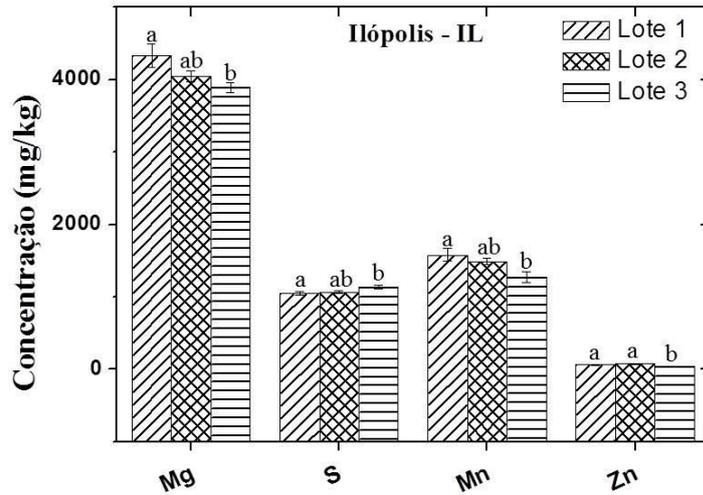


Figura 15. Concentrações elementares médias (mg/kg) e respectiva incerteza (desvio padrão da média (mg/kg)) de Mg, S, Mn e Zn para três lotes distintos procedentes de Ilópolis – RS. Para cada elemento , diferentes letras representam diferença estatística ($p < 0,05$).

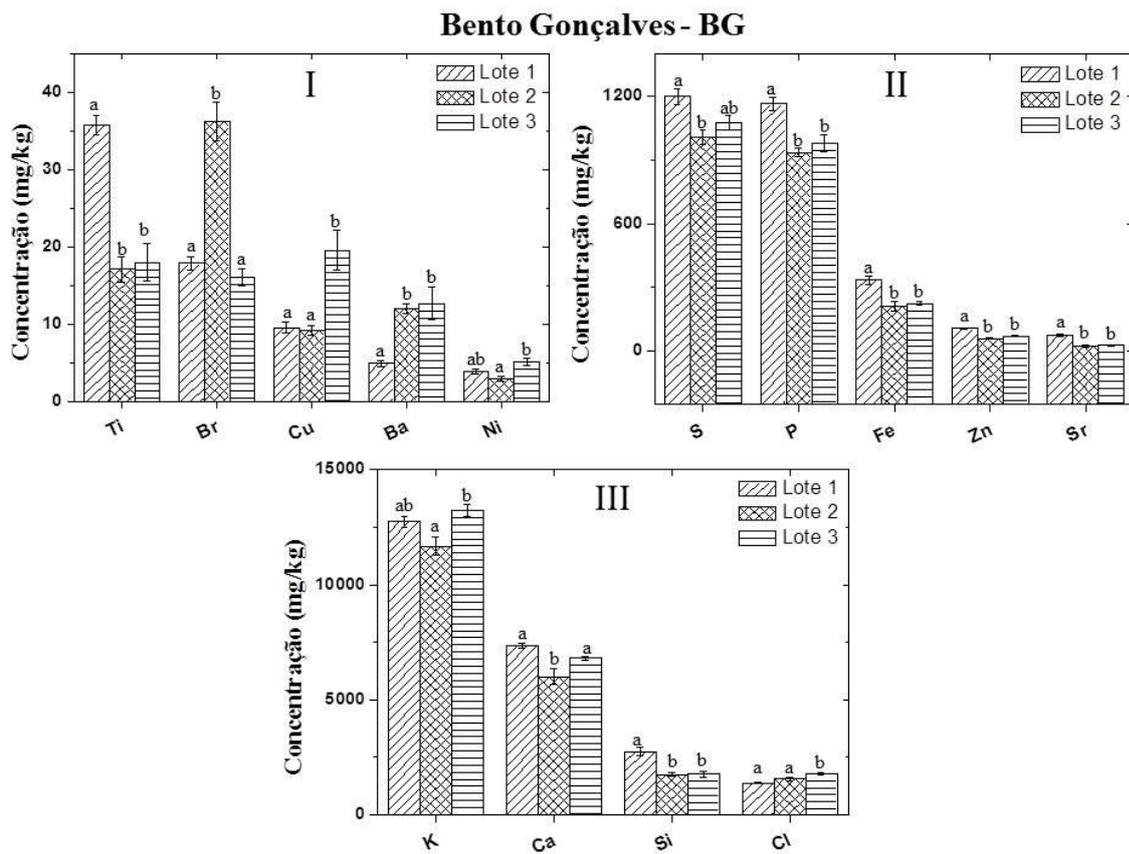


Figura 16. Concentrações elementares médias (mg/kg) e respectiva incerteza (desvio padrão da média (mg/kg)) para três lotes distintos procedentes de Bento Gonçalves – RS. Gráfico I demonstra resultados de Ti, Br, Cu, Ba e Ni; gráfico II demonstra resultados de S, P, Fe, Zn e Sr e o gráfico III demonstra resultados de K, Ca, Si e Cl. Para um mesmo elemento, diferentes letras representam diferença estatística ($p < 0,05$).

Comparando os lotes analisados de MO e CO, a região de MO apresentou cinco (05) elementos (Mn, Cu, Br, Sr e Ba), enquanto que a região de CO apresentou apenas quatro (04) elementos (Ca, Rb, Sr e Ba) com diferenças significativas entre os lotes (Figura 17 e 18).

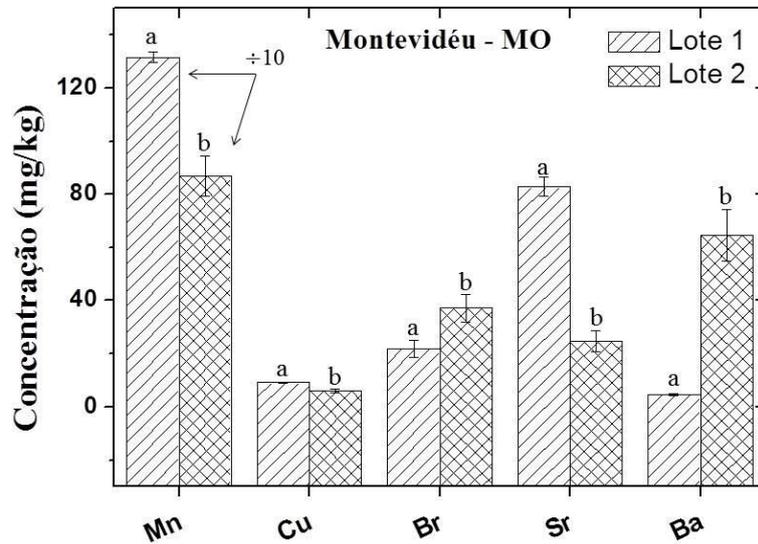


Figura 17. Concentrações elementares médias (mg/kg) e respectiva incerteza (desvio padrão da média (mg/kg)) de Mn, Cu, Br, Sr e Ba da erva-mate de Montevidéu – URU para dois lotes distintos. Para um mesmo elemento, diferentes letras representam diferença estatística ($p < 0,05$). Os valores originais de concentração do Mn foram divididos por dez (10) para facilitar a visualização.

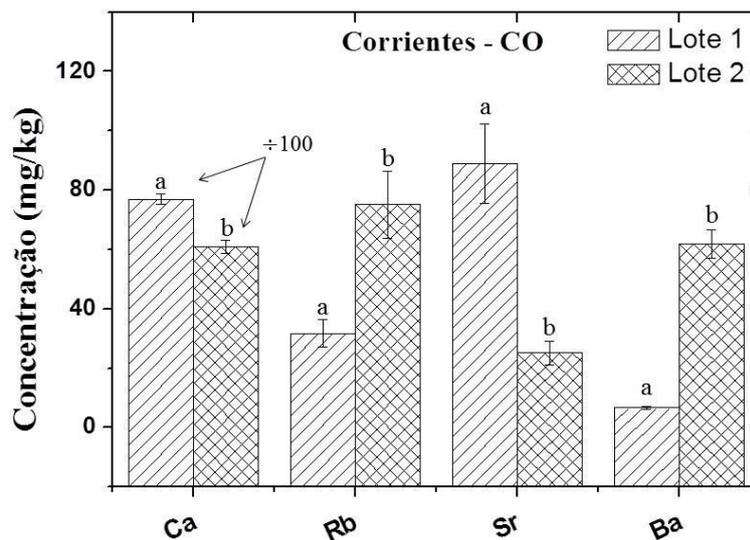


Figura 18. Concentrações elementares médias (mg/kg) e respectiva incerteza (desvio padrão da média (mg/kg)) de Mn, Cu, Br, Sr e Ba da erva-mate de Montevidéu – URU para dois lotes distintos. Para um mesmo elemento, diferentes letras representam diferença estatística ($p < 0,05$). Os valores originais de concentração do Ca foram divididos por cem (100) para facilitar a visualização.

A partir da análise de todos os lotes de todas as regiões estudadas neste trabalho, é possível visualizar nas Tabelas 4a e 4b quais lotes apresentaram diferença estatística e o valor da respectiva significância. A letra “N” é usada em caso de não ter ocorrido diferença entre nenhum lote, como é o caso do Al, único elemento que não apresentou diferença estatística entre nenhum lote, para qualquer uma das regiões produtoras.

Tabela 4a. Diferenças observadas entre os lotes procedentes das regiões BC, IL, BG e DR, para cada elemento quantificado, e respectivos valores de significância estatística (*p*). A letra “N” indica que não houve diferença para o elemento entre os lotes daquela região.

	BC	IL	BG	DR
Mg	2≠3 (0,021)	1≠3 (0,034)	N	N
Al	N	N	N	N
Si	1≠3 (0,009)	N	1≠2 (0,001)	N
P	N	N	1≠2 (0,001) 1≠3 (0,001) 2≠3 (0,004)	N
S	N	1≠3 (0,039)	1≠2 (0,006)	N
Cl	N	N	1≠3 (0) 2≠3 (0,024)	1≠2 (0,008) 1≠3 (0,031)
K	1≠3 (0,005)	N	2≠3 (0,008)	1≠2 (0,008)
Ca	N	N	1≠2 (0,002) 2≠3 (0,049)	1≠2 (0,001) 1≠3 (0,001)
Ti	N	N	1≠2 (0) 1≠3 (0)	N
Mn	1≠2 (0,033) 1≠3 (0,035)	1≠3 (0,024)	N	1≠2 (0,004)
Fe	N	N	1≠2 (0,001) 1≠3 (0,003)	N
Ni	2≠3 (0,040)	N	2≠3 (0,008)	N
Cu	N	N	1≠3 (0,002) 2≠3 (0,001)	1≠2 (0,012)
Zn	1≠3 (0) 2≠3 (0)	1≠3 (0,045) 2≠3 (0,005)	1≠2 (0) 1≠3 (0)	1≠2 (0) 1≠3 (0)
Br	N	N	1≠2 (0) 2≠3 (0)	N
Rb	N	N	N	1≠2 (0,027)
Sr	1≠2 (0) 1≠3 (0)	N	1≠2 (0) 1≠3 (0)	N
Ba	1≠2 (0,001) 1≠3 (0) 2≠3(0)	N	1≠2 (0,006) 1≠3 (0,003)	1≠2 (0,007) 1≠3 (0,039)

As diferenças observadas nas concentrações elementares entre os diferentes lotes podem ser atribuídas ao fato de que as plantas utilizadas na produção da erva-mate em cada um dos lotes, tenham absorvido nutrientes em diferentes proporções de acordo com o período de colheita e produção. Se estas diferenças se repetissem ou fossem

alteradas ao longo da produção de lotes subsequentes, a autenticidade do produto poderia ser avaliada a partir das características elementares tanto entre os diferentes lotes, quanto a partir da análise de solo e planta.

Tabela 4b. Diferenças observadas entre os lotes procedentes das regiões VA, CA, MO e CO, para cada elemento quantificado, e respectivos valores de significância estatística (p). A letra “N” indica que não houve diferença para o elemento entre os lotes daquela região.

	VA	CA	MO	CO
Mg	1≠3 (0) 2≠3 (0)	1≠2 (0,011) 1≠3 (0) 2≠3 (0)	N	N
Al	N	N	N	N
Si	1≠2 (0,029)	1≠2 (0) 1≠3 (0,020)	N	N
P	2≠3 (0,015)	1≠2 (0) 1≠3 (0)	N	N
S	N	1≠3 (0,004)	N	N
Cl	1≠3 (0,005) 2≠3 (0,008)	1≠2 (0,027) 1≠3 (0,004)	N	N
K	N	N	N	N
Ca	2≠3 (0,037)	N	N	1≠2 (0,001)
Ti	N	N	N	N
Mn	1≠3 (0,038) 2≠3 (0,013)	2≠3 (0,036)	1≠2 (0)	N
Fe	N	1≠2 (0,038)	N	N
Ni	1≠3 (0,015) 2≠3 (0,002)	N	N	N
Cu	2≠3 (0,45)	N	1≠2 (0,006)	N
Zn	1≠3 (0) 2≠3 (0)	1≠2 (0,016) 1≠3 (0,003)	N	N
Br	1≠3 (0,015)	1≠3 (0,024) 2≠3 (0,032)	1≠2 (0,042)	N
Rb	N	1≠3 (0,006)	N	1≠2 (0,008)
Sr	1≠2 (0,002) 1≠3 (0)	1≠2 (0,002) 1≠3 (0)	1≠2 (0)	1≠2 (0)
Ba	1≠2 (0) 1≠3 (0) 2≠3 (0)	N	1≠2 (0,017)	1≠2 (0,026)

Entretanto, pela *Análise Multivariada de Componentes Principais* (PCA), realizada para os dados de concentração elementar média para cada um dos lotes analisados, incluindo o único lote de CH, percebe-se a formação de grupos entre os lotes das regiões produtoras (Figura 19). Em PCA, as duas primeiras componentes principais extraem a maior variância dos dados de concentração elementar. Neste caso a primeira componente explica 30,1% da variância dos dados de concentração elementar e a

segunda componente explica 20,8% da variância dos dados de concentração elementar. A soma das duas componentes explica aproximadamente 51% da variabilidade na concentração de todos os elementos quantificados entre os lotes.

Pelo resultado de PCA nota-se que as concentrações elementares médias extraídas dos lotes são semelhantes em cada grupo, ou seja, a variabilidade das características elementares de cada lote é semelhante em cada grupo, no qual os pontos estão mais próximos. Como pode ser visto na Figura 19 para alguns casos específicos, alguns dos lotes agruparam-se entre si, de acordo com a sua região de origem, como os três lotes de CA, três de IL, dois de BG e dois de DR, enquanto que VA, BC, MO, CO e CH se organizaram em grupos distintos.

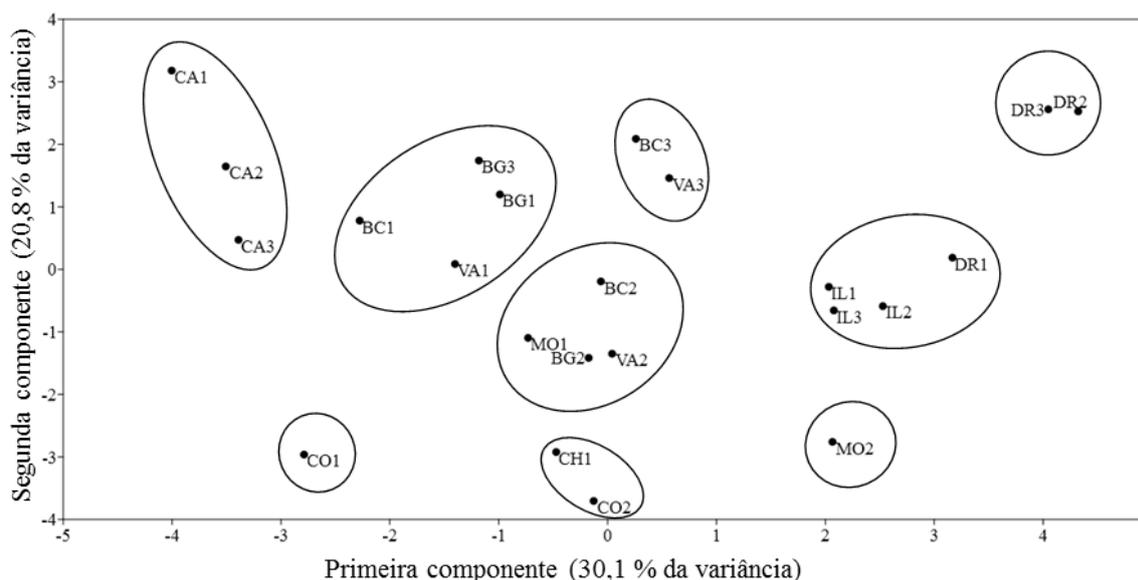


Figura 19. Gráfico de dispersão dos lotes procedentes de cada região produtora da erva-mate para as duas (02) primeiras componentes principais. Os grupos indicam a semelhança na variabilidade na concentração dos elementos químicos em cada lote, de acordo com a distância entre os pontos.

Este comportamento se deve ao fato de que houve uma homogeneidade na concentração elementar entre os lotes de IL, por exemplo, enquanto que para os lotes de VA a concentração elementar variou de forma heterogênea. Esta mesma interpretação pode ser aplicada para todos os pontos do gráfico da Figura 19. Uma possível forma de discriminar os lotes, considerando semelhanças entre os conteúdos elementares, é sugerida pela *Análise Hierárquica de Agrupamentos* (HCA). Grupos não evidenciados por PCA são confirmados com HCA como pode ser visto pelo dendograma da Figura 20.

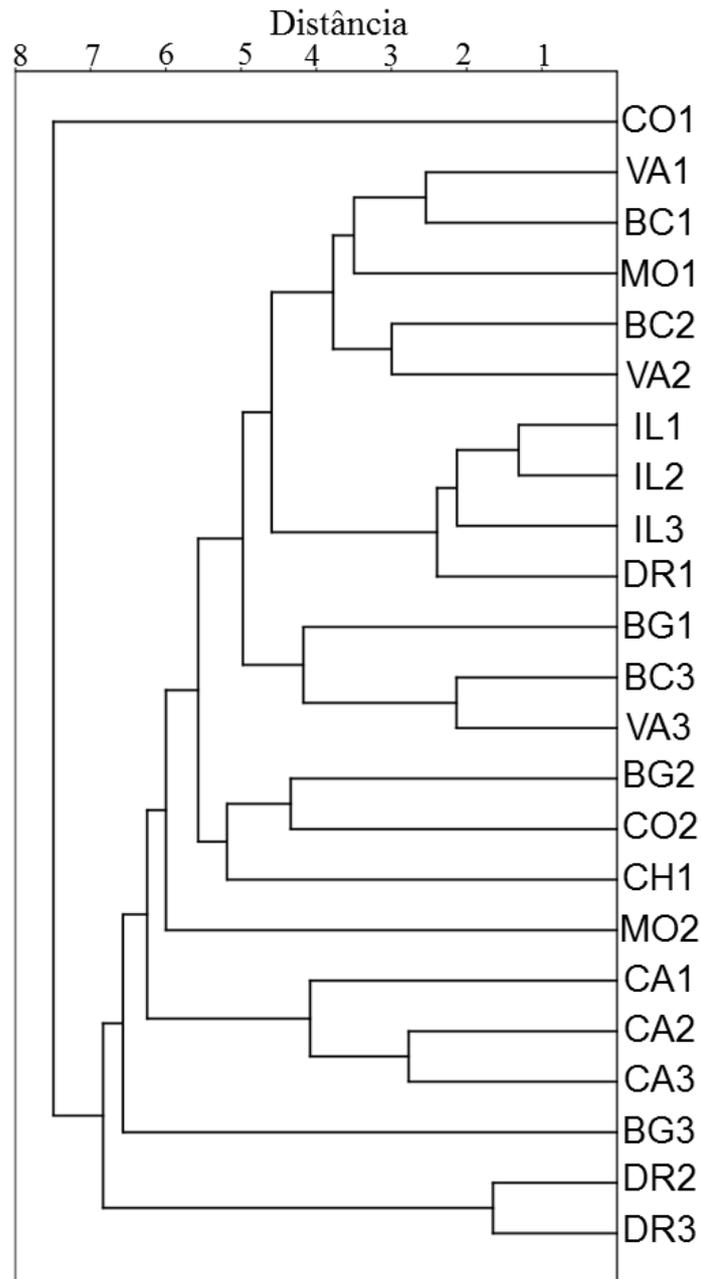


Figura 20. Dendrograma obtido de uma análise de agrupamentos entre os lotes das nove (09) regiões de estudo deste trabalho, demonstrando a semelhança na variabilidade entre as concentrações elementares médias dos lotes.

Pela Figura 20, observa-se que IL1 e IL2 se agruparam a IL3 como lote próximo e mais semelhante. CA2 e CA3 se agruparam a CA1 como próximo lote mais semelhante. Porém, BG1 e BG3 que pareciam estar associados de acordo com PCA foram observados de maneira distinta com HCA. Foi visto que BG1 ficou associado com BC3 e VA3, enquanto que o lote BG3 associou-se a um grupo maior de lotes devido a sua heterogeneidade de concentração elementar, tanto dos lotes da mesma

região quanto de outras. Como já foi visto pela análise univariada, BG se comporta de maneira distinta, e isto pode ocorrer, visto que a matéria prima utilizada na produção dos lotes de BG é oriunda de diferentes regiões do RS.

Uma PCA extrai a variância entre os elementos através da matriz de correlação. Porém, a correlação encontrada entre as concentrações elementares não significa que as mesmas são dependentes entre si. Significa apenas que estão associadas e podem variar conjuntamente. Esta associação está relacionada com o comportamento da variabilidade na concentração média dos elementos químicos entre todos os lotes. Por exemplo, a correlação de certo elemento com outro diferente, é feita assumindo todos os valores de concentração para todos os lotes de todas as regiões, ou seja, os dois elementos estão associados. Portanto, combinando o gráfico da Figura 19 com estas associações, através de autovetores obtém-se a Figura 21. Por sua vez, estes autovetores são originados dos coeficientes de proporção (a_{ix}) das duas primeiras componentes principais, extraídas da combinação linear da Equação 10 e representam, em média, a maior concentração com a qual um elemento foi observado no lote de erva-mate para o qual o autovetor aponta.

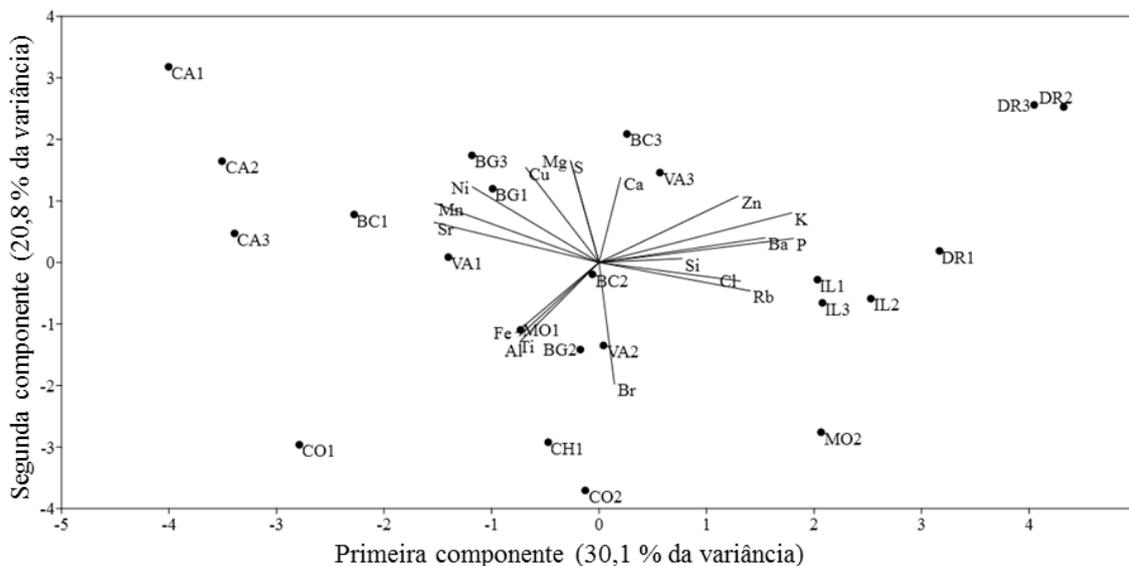


Figura 21. Gráfico de dispersão dos lotes procedentes das regiões de produção da erva-mate para as duas primeiras componentes principais. Os autovetores indicam a correlação dos elementos químicos encontrados em todos os lotes de erva-mate, e indicam a maior concentração do elemento, para o qual o autovetor aponta.

Nota-se que os elementos Cl e Rb estão, em média, em maior concentração nos lotes IL1, IL2, IL3 e DR1, já o Sr, Mn e Ni estão, em média, em maior concentração

nos lotes de BC1, CA1, CA2 e CA3. Fe, Al e Ti se correlacionaram com MO1 e CO1 em termos da maior concentração. O elemento Ca está, em média, em maior concentração nos lotes de BC3 e VA3, enquanto que o Br está, em média, em maior concentração nos lotes de BC2 e VA2.

Enfim comparar as concentrações elementares entre os lotes é uma maneira de verificar a variabilidade das concentrações elementares entre diferentes períodos de produção, assumindo que os lotes são procedentes de uma mesma região. Isto mostra que com o método é possível verificar a origem da matéria prima e as características elementares entre os lotes, e isto pode estar atrelado à qualidade e autenticidade ao produto. No entanto considerando os lotes da mesma marca como sendo representativo daquela região produtora, fez-se a comparação do conteúdo elementar da erva-mate produzida entre as regiões de estudo, como descrito a seguir.

4.2 Comparação da concentração elementar da erva-mate entre as regiões

A partir dos espectros qualitativos de contagens de raios X, como mostrados na Figura 22, e utilizando-se o programa GUPIXWIN⁶⁴ foram obtidas as concentrações elementares da erva-mate para cada uma das nove regiões a partir da média das concentrações elementares das quinze amostras analisadas por PIXE⁴⁷, exceto para CH no qual foi utilizada a média das concentrações de cinco amostras.

Os dados de concentração elementar, determinados por PIXE⁴⁷, foram analisados estatisticamente por ANOVA FATOR ÚNICO e teste de Tukey ($p=0,05$). A concentração elementar média (em mg/kg ou ppm) das amostras procedentes de cada região de produção são apresentadas nas Tabelas 5a, 5b, 5c e 5d. Ressalta-se que para o cálculo da média das concentrações elementares foram excluídos os valores inferiores ao LOD para cada elemento químico e amostra de cada diferente lote e região de origem.

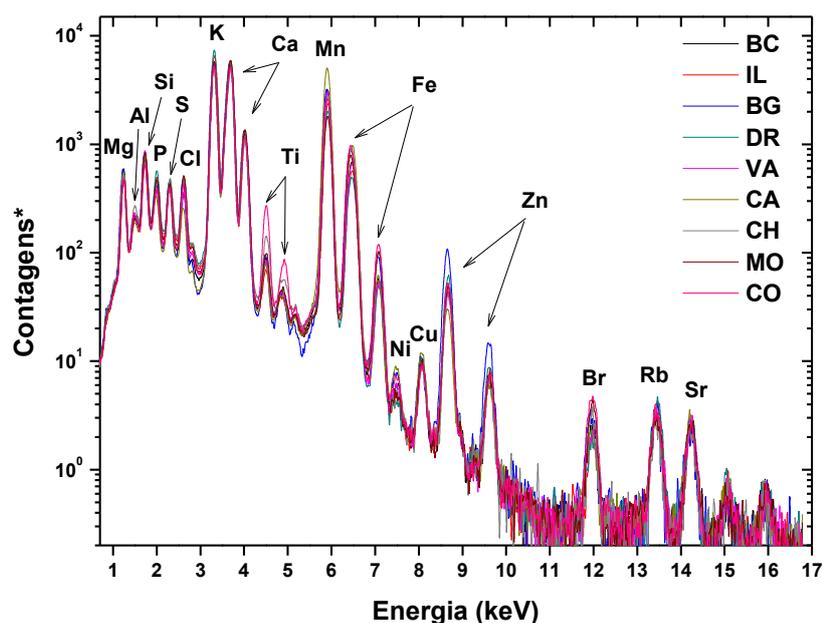


Figura 22. Espectro PIXE, de contagens de raios X em função da energia (keV), da erva-mate de cada região estudada. Para cada região, é representada a média de quinze espectros de raios X característicos em função da energia, exceto para CH no qual é representada a média de cinco espectros. *Contagens normalizadas pela carga.

Tabela 5a. Média e desvio padrão da média (n=15, exceto para CH (n=5)), da concentração (mg/kg) de Mg, Al, Si, P e S, da erva-mate procedente das nove regiões estudadas. Letras diferentes em uma mesma coluna significam diferença estatística (p<0,05).

	Mg	Al	Si	P	S
BC	5172,9 ± 121,3 ^d	534,9 ± 22,6 ^{ad}	2445,5 ± 134,7 ^{ab}	1052,3 ± 36,9 ^a	1109,7 ± 18,9 ^a
IL	4090 ± 76 ^{bc}	393 ± 12 ^b	2628,5 ± 85,1 ^{ab}	1283,9 ± 22,8 ^b	1083,5 ± 15,4 ^a
BG	4993,2 ± 88,3 ^{ad}	557,7 ± 20,1 ^a	2101,9 ± 143,3 ^a	1026,7 ± 31,4 ^a	1095 ± 28 ^a
DR	4737,3 ± 62,5 ^{ad}	413,4 ± 15,4 ^b	2815,9 ± 158,2 ^b	1534,5 ± 37,7 ^c	1081,5 ± 18,6 ^a
VA	4566,2 ± 124,9 ^{ac}	497,4 ± 18,2 ^{ad}	2874,7 ± 102,1 ^b	986,1 ± 26,5 ^a	1046,7 ± 16,6 ^a
CA	4557,4 ± 163,9 ^{ac}	451 ± 13 ^d	2616,6 ± 129,9 ^{ab}	771,1 ± 23,5 ^d	1127,4 ± 19,6 ^a
CH	4187,2 ± 60,4 ^{bc}	759,4 ± 37,7 ^c	1948 ± 87 ^{ab}	1046,5 ± 30,5 ^a	1127,6 ± 45,8 ^a
MO	3929,2 ± 144,2 ^b	503 ± 18 ^{ad}	2450,2 ± 211,8 ^{ab###}	1251,6 ± 33,5 ^b	1030 ± 21 ^a
CO	4051,7 ± 167,8 ^{b##}	671,9 ± 53,7 ^{c##}	2069,5 ± 230,3 ^{a##}	945,8 ± 28,9 ^{a##}	1038,6 ± 123,2 ^{a##}

n=13; ### n=14

Tabela 5b. Média e desvio padrão da média (n=15, exceto para CH (n=5)), da concentração (mg/kg) de Cl, K, Ca, Ti e Mn, da erva-mate procedente das nove regiões estudadas. Letras diferentes em uma mesma coluna significam diferença estatística (p<0,05).

	Cl	K	Ca	Ti	Mn
BC	972,6 ± 31,6 ^a	12478,7 ± 357,4 ^a	7144,5 ± 173,5 ^{abc}	29,6 ± 2,6 ^a	1948,8 ± 101,1 ^a
IL	1307 ± 27 ^b	14422 ± 127 ^b	6302 ± 143 ^a	16,6 ± 1,8 ^a	1445,9 ± 51,3 ^{bd}
BG	1588,6 ± 54,9 ^c	12548,9 ± 236,2 ^a	6728,6 ± 185,5 ^{ab}	24 ± 2 ^{ac###}	1898,9 ± 43,1 ^{ae}
DR	1461,4 ± 43,3 ^{bc}	16757,3 ± 325,4 ^c	7806,9 ± 202,2 ^{bc}	20,5 ± 2,8 ^a	1255,2 ± 34,5 ^{df}
VA	978,1 ± 36,1 ^a	12875,1 ± 248,4 ^a	6692,7 ± 113,4 ^{ab}	26 ± 4 ^{ac}	1877,3 ± 58,1 ^{ae}
CA	687,8 ± 19,8 ^d	11031,2 ± 196,7 ^d	7244 ± 158 ^{abc}	23,8 ± 1,9 ^a	3021,6 ± 75,2 ^c
CH	1283,6 ± 12,7 ^{abc}	12577,6 ± 179,8 ^{abd}	6031,2 ± 460,1 ^a	58,9 ± 4,3 ^b	1707 ± 84 ^{abe}
MO	1560,3 ± 107,1 ^{bc}	12983,3 ± 334,4 ^a	7972,9 ± 522,1 ^c	37,5 ± 3,9 ^c	1012,2 ± 65,5 ^f
CO	1338,7 ± 109,1 ^{bc##}	12655,9 ± 578,2 ^{a###}	6328,9 ± 256,8 ^{a###}	28,5 ± 2,4 ^{a###}	1591,5 ± 89,7 ^{be##}

n=13; ### n=14

Tabela 5c. Média e desvio padrão da média (n=15, exceto para CH (n=5)), da concentração (mg/kg) de Fe, Ni, Cu e Zn, da erva-mate procedente das nove regiões estudadas. Letras diferentes em uma mesma coluna significam diferença estatística (p<0,05).

	Fe	Ni	Cu	Zn
BC	198,9 ± 7,7 ^{ac}	3,1 ± 0,3 ^{ab###}	9,5 ± 0,7 ^{ab}	70,1 ± 9,3 ^a
IL	168,8 ± 14,6 ^a	1,7 ± 0,2 ^{a#}	6,4 ± 0,3 ^{ac}	58,6 ± 4,9 ^a
BG	258,3 ± 17,9 ^{bc}	3,8 ± 0,3 ^{b*}	12,7 ± 1,5 ^b	79,1 ± 5,7 ^a
DR	163 ± 6 ^a	2,1 ± 0,3 ^{a††}	8,9 ± 0,6 ^{ac}	133,4 ± 15,1 ^b
VA	179,7 ± 19,5 ^{ad}	3,1 ± 0,4 ^{ab###}	7,9 ± 0,4 ^{ac}	61,8 ± 7,6 ^a
CA	213,2 ± 8,7 ^{ac}	4,1 ± 0,3 ^b	10,9 ± 0,5 ^{ab}	30,4 ± 1,4 ^c
CH	328,9 ± 11,5 ^b	1,6 ± 0,2 ^{a†}	6,3 ± 0,7 ^{ac}	52,2 ± 4,7 ^{ac}
MO	303,2 ± 24,2 ^{b###}	2,5 ± 0,3 ^{ac†††}	8,5 ± 0,6 ^{ac}	83,4 ± 13,2 ^a
CO	238,2 ± 21,3 ^{cd###}	3,6 ± 0,3 ^{bc#}	7,1 ± 0,6 ^{c##}	83 ± 11 ^{a##}

† n=3; †† n=8; ††† n=9; * n=11; # n=12; ## n=13; ### n=14

Tabela 5d. Média e desvio padrão da média (n=15, exceto para CH (n=5)), da concentração (mg/kg) de Br, Rb, Sr e Ba, da erva-mate procedente das nove regiões estudadas. Letras diferentes em uma mesma coluna significam diferença estatística (p<0,05).

	Br	Rb	Sr	Ba
BC	18,7 ± 1,6 ^{ac###}	44,3 ± 3,6 ^{ad}	51 ± 9 ^a	59,1 ± 13,1 ^{ac}
IL	16,8 ± 1,1 ^{ac###}	80,6 ± 3,4 ^{bc}	30 ± 2 ^{a###}	49 ± 3 ^{ab}
BG	23,4 ± 2,6 ^{ab}	51 ± 6 ^{ad}	43,1 ± 7,2 ^{a###}	9,8 ± 1,2 ^{bd}
DR	13 ± 1 ^{ce###}	68,3 ± 5,8 ^c	28 ± 2 ^a	102,1 ± 8,5 ^c
VA	15,5 ± 1,6 ^{ac##}	49,3 ± 3,6 ^{ad}	52,7 ± 8,1 ^a	51,3 ± 12,1 ^{ab###}
CA	11,6 ± 1,2 ^c	36,4 ± 2,4 ^a	104,5 ± 10,6 ^b	4,2 ± 0,2 ^d
CH	25 ± 3 ^{ade}	54 ± 5 ^{bcd}	26,3 ± 3,2 ^a	66,1 ± 8,1 ^{abc}
MO	30,8 ± 2,7 ^{bd}	40,4 ± 3,2 ^a	46,7 ± 7,2 ^a	63,6 ± 14,5 ^{ac}
CO	36,7 ± 3,2 ^{d##}	57,6 ± 6,6 ^{d##}	39,2 ± 9,7 ^{a##}	70,5 ± 14,6 ^{ac##}

##n=13; ###n=14

Analisando os valores das Tabelas 5a, 5b, 5c e 5d, de concentração elementar para cada uma das regiões, verifica-se que há diferenças significativas entre os resultados. Essas variações podem ocorrer em diferentes momentos, desde o cultivo, na falta ou excesso de alguns nutrientes do solo, ou na absorção de nutrientes pela planta ou até mesmo no processo de fabricação.

As Tabelas 6a, 6b e 6c apresentam os valores mínimos e máximos de concentração elementar para cada região e os respectivos valores do LOD. Estes valores representam uma média dos limites de detecção fornecidos pelo GUPIXWIN⁶⁴, para cada elemento quantificado de cada amostra de erva-mate.

Tabela 6a. Valores mínimos e máximos de concentração elementar (mg/kg), e valores médios, com respectivo desvio padrão da média, do limite de detecção (LOD, em mg/kg) para as regiões de Barão de Cotegipe – RS, Ilópolis – RS e Bento Gonçalves – RS.

	BC		IL		BG	
	Mín. - Máx.	LOD	Mín. - Máx.	LOD	Mín. - Máx.	LOD
Mg	4250 - 6329	104,8 ± 1,6	3722 - 4956	114,7 ± 1,6	4316 - 5694	120,7 ± 7,1
Al	415,5 - 766,1	77,1 ± 0,6	310,5 - 480,1	84,8 ± 0,5	429,1 - 687,4	79,8 ± 1,6
Si	1779 - 3528	54,5 ± 0,8	2146 - 3467	60,2 ± 0,6	1374 - 3111	58,4 ± 2,1
P	844,4 - 1334	58,9 ± 0,8	1134 - 1475	62,8 ± 0,5	878,2 - 1235	59,5 ± 1,6
S	1010 - 1287	41,1 ± 0,7	970,9 - 1209	48,1 ± 0,7	922,4 - 1298	44,4 ± 1,8
Cl	814,7 - 1283	37,1 ± 1,3	1053 - 1453	42,9 ± 0,8	1322 - 1886	41,8 ± 2,8
K	10329 - 15898	30,4 ± 0,8	13273 - 15509	29,5 ± 0,9	10781 - 14218	29 ± 1
Ca	6374 - 8452	47,3 ± 1,2	52610 - 7211	51,8 ± 0,5	5071 - 7565	47 ± 1
Ti	18,6 - 47,3	5,3 ± 0,1	8,1 - 28,6	5,4 ± 0,1	12,9 - 39,3	5,7 ± 0,2
Mn	1339 - 2849	3,7 ± 0,2	1107 - 1885	3,3 ± 0,2	1594 - 2161	3,6 ± 0,2
Fe	161,5 - 264,9	13,4 ± 0,5	113,2 - 341,5	10,8 ± 0,2	164 - 384,4	16,1 ± 0,7
Ni	1,1 - 5,9	1,27 ± 0,1	0,9 - 2,9	1,0 ± 0,1	2,1 - 5,6	1,8 ± 0,2
Cu	5,8 - 15	1,4 ± 0,1	4 - 7,6	1,1 ± 0,04	7,7 - 26,8	2 ± 0,2
Zn	33 - 151,7	2,5 ± 0,3	34,1 - 109,7	2,2 ± 0,1	54,4 - 116,4	2,1 ± 0,1
Br	10 - 33,1	7 ± 0,4	8,6 - 24,1	7,6 ± 0,4	13,4 - 42,8	5,9 ± 0,5
Rb	21 - 69,1	14,8 ± 1,1	53,7 - 93,4	21,9 ± 0,8	22,7 - 98,6	12,9 ± 1,3
Sr	19,6 - 112,9	16,5 ± 2,4	15,4 - 41,2	10,3 ± 0,3	11,7 - 89,9	14,7 ± 1,7
Ba	2,9 - 142,5	18,9 ± 3,9	30,4 - 69,4	16,4 ± 0,4	3,9 - 17,6	3,1 ± 0,3

Tabela 6b. Valores mínimos e máximos de concentração elementar (mg/kg), e valores médios, com respectivo desvio padrão da média, do limite de detecção (LOD, em mg/kg) para as regiões de Doutor Ricardo – RS, Venâncio Aires – RS e Canoinhas – SC.

	DR		VA		CA	
	Mín. - Máx.	LOD	Mín. - Máx.	LOD	Mín. - Máx.	LOD
Mg	4273 - 5110	114,1 ± 1,7	3801 - 5403	108 ± 2,3	3632 - 5556	97,7 ± 1,2
Al	313,9 - 525,6	85,9 ± 0,9	398,4 - 657,7	78,9 ± 0,8	375,3 - 558,4	74,3 ± 0,5
Si	2119 - 4159	60,7 ± 1,2	2344 - 3557	55,5 ± 1,1	1749 - 3328	51,3 ± 0,5
P	1242 - 1838	68,9 ± 0,6	819,4 - 1237	59,8 ± 1,2	675 - 965,7	54,2 ± 0,4
S	962,9 - 1199	52 ± 0,8	936,9 - 1153	44,1 ± 1,3	952,2 - 1273	37,4 ± 0,4
Cl	1158 - 1718	48 ± 1	781,3 - 1180	40,3 ± 1,7	550,7 - 870,1	31 ± 1
K	14486 - 19108	33 ± 0,9	11196 - 14772	28,5 ± 0,8	9999 - 12539	27,7 ± 0,7
Ca	6325 - 8841	59,7 ± 1,1	5985 - 7312	48,7 ± 1,1	6394 - 8365	42,0 ± 0,4
Ti	7,1 - 50,8	6 ± 0,1	11,2 - 85,3	5,3 ± 0,2	13,9 - 37,3	4,9 ± 0,1
Mn	1039 - 1482	3,7 ± 0,2	1444 - 2408	3,6 ± 0,3	2654 - 3869	4 ± 0,2
Fe	135,9 - 219,6	10,5 ± 0,2	122,6 - 439,2	13,2 ± 0,4	146 - 294,2	18,4 ± 0,4
Ni	0,9 - 4,2	1,5 ± 0,1	1,3 - 5,9	1,3 ± 0,1	1,8 - 6	1,3 ± 0,02
Cu	5 - 13,3	1,5 ± 0,1	5,5 - 10,3	1,4 ± 0,1	7,7 - 16,2	1,2 ± 0,04
Zn	45,2 - 188,3	4,1 ± 0,4	36,2 - 130	2,3 ± 0,3	22,9 - 40,4	1,4 ± 0,1
Br	8,2 - 19,4	7,3 ± 0,3	7,6 - 27,4	6,8 ± 0,4	6 - 22,5	5,4 ± 0,2
Rb	36,6 - 110,7	19,8 ± 1,1	17,7 - 66,1	14,9 ± 1,5	22,3 - 49,3	11,3 ± 0,4
Sr	10,2 - 45,4	10,6 ± 0,4	22,5 - 114,3	15,6 ± 2,1	52,7 - 201,5	28,2 ± 1,3
Ba	46,4 - 18	28 ± 2,4	2,9 - 128,3	17,6 ± 3,6	2,3 - 5,9	1,2 ± 0,03

Neste contexto, alguns trabalhos encontrados na literatura que envolve crescimento e nutrição da erva-mate influenciada pela adubação, pelas condições de plantio sobre a composição química e pelos processos de fabricação, demonstram a importância de conhecer a composição elementar da erva-mate sobre estes aspectos^{14 76 77 78}. Como exemplo, uma amostra de solo coletada em um erval nativo procedente de Ilópolis – RS foi analisada por PIXE⁴⁷ e apresentou elementos como Mg, Al, Si, P, S,

Cl, K, Ca, Ti, Mn, Fe, Ni, Cu e Zn. Também foram analisadas as folhas de erva-mate, bem como a influência do processamento industrial na constituição elementar da erva-mate²⁷.

Tabela 6c. Valores mínimos e máximos de concentração elementar (mg/kg), e valores médios, com respectivo desvio padrão da média, do limite de detecção (LOD, em mg/kg) para as regiões de Chapecó – RS, Montevideu – URU e Corrientes – ARG.

	CH		MO		CO	
	Mín. - Máx.	LOD	Mín. - Máx.	LOD	Mín. - Máx.	LOD
Mg	4019 - 4346	109,8 ± 3,1	2665 - 5076	102 ± 2	2581 - 5014	107,2 ± 2,6
Al	671,2 - 866,5	81,1 ± 0,9	396,5 - 625,9	77,9 ± 1,3	331,2 - 975,1	78 ± 1
Si	1671 - 2168	58,3 ± 1,2	1488 - 4120	53,5 ± 1,3	508,8 - 3579	54,8 ± 1,1
P	940,3 - 1125	62,6 ± 0,5	974,7 - 1471	61,4 ± 1,4	762,7 - 1092	58,1 ± 1,1
S	956,2 - 1206	48,7 ± 0,5	938,3 - 1226	44,8 ± 1,3	772,4 - 2497	43,4 ± 1,2
Cl	1260 - 1315	45,8 ± 0,9	1102 - 2745	38,7 ± 1,1	717 - 2190	39,8 ± 1,2
K	12064 - 13133	32,9 ± 1,5	10667 - 15008	29 ± 1	9955 - 16986	28,5 ± 0,6
Ca	4956 - 7658	46,5 ± 0,4	5571 - 13448	48 ± 1	5057 - 8098	47,4 ± 1,4
Ti	49,6 - 73,9	6,1 ± 0,2	17,4 - 82,7	5,4 ± 0,1	11,4 - 48,1	5,9 ± 0,2
Mn	1430 - 1878	3,8 ± 0,2	665,3 - 1370	3,2 ± 0,1	1084 - 2207	3,6 ± 0,2
Fe	306,2 - 373	11,6 ± 0,4	194,8 - 549,2	8,6 ± 0,4	130,2 - 425,7	11,8 ± 0,4
Ni	1,2 - 1,9	1,0 ± 0,02	1,7 - 4	1,4 ± 0,1	2,3 - 5,5	1,2 ± 0,1
Cu	4 - 8	1,3 ± 0,1	4,5 - 12,2	1,3 ± 0,1	4 - 11,9	1,3 ± 0,1
Zn	35,1 - 61,7	2,1 ± 0,2	36,7 - 172,4	2,8 ± 0,4	29,7 - 159,9	2,1 ± 0,2
Br	20,1 - 35,1	7,7 ± 0,5	11,1 - 56,5	6,7 ± 1,2	18,6 - 56,8	7,3 ± 0,4
Rb	39,6 - 68,6	20 ± 3	15,2 - 64,7	16,9 ± 0,4	31,9 - 102,6	17,4 ± 1,5
Sr	17,8 - 37,5	10 ± 1	15,5 - 87,9	16,1 ± 2,6	14 - 134,2	13,9 ± 1,9
Ba	39,4 - 84,7	26,4 ± 1	3,9 - 193	22,2 ± 4,6	6,4 - 184,4	18,2 ± 3,1

Os mesmos resultados apresentados nas Tabelas 5a, 5b, 5c e 5d, podem ser vistos nas Figuras 23, 24 e 25. Nota-se que existe uma diferença significativa entre os elementos quantificados, o que não ocorre para o enxofre (S), que não apresentou essa diferença (Figura 23). Algumas comparações serão descritas a seguir.

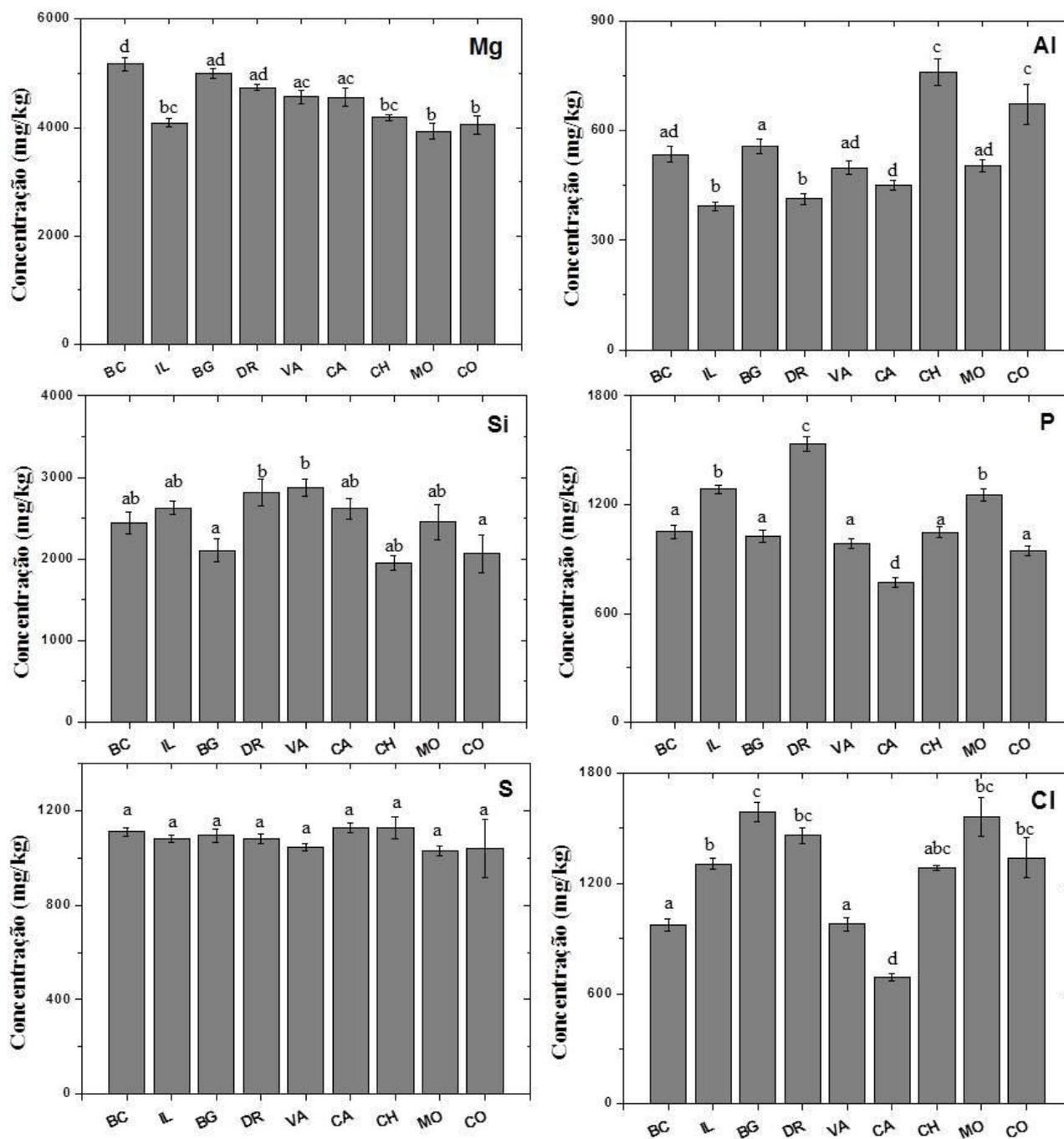


Figura 23. Concentração elementar (mg/kg) de Mg, Al, Si, P, S e Cl para as nove regiões de estudo.

Resultados são representados pela média e respectiva incerteza (desvio padrão da média). Letras diferentes significam diferença estatística ($p < 0,05$).

Não é muito conhecido a respeito da variação de elementos químicos entre os processos de fabricação da erva-mate de diferentes indústrias. Neste contexto, uma pesquisa ²⁷ demonstrou que há variação na concentração elementar durante o processamento da folha *in natura*, de um erval nativo, que inclui as etapas de sapeco e cancheio. Além disso, foi observada variação na concentração destes elementos entre os períodos de descanso da erva-mate após o cancheio. Nota-se que para o S, as

concentrações elementares da folha, da erva-mate sapecada e da erva-mate cancheada, foram respectivamente, 572 ± 49 mg/kg, 729 ± 49 mg/kg e 896 ± 48 mg/kg. Com base nestes resultados ²⁷, é provável que o S encontrado nos produtos finais de erva-mate das nove regiões estudadas neste trabalho, não sofreu variação significativa durante os processos de fabricação. Além disso, pode ser que a quantidade de S absorvido pela planta no seu processo de crescimento seja semelhante nas nove regiões de produção, ou seja, que essa seja uma característica da planta.

Sabe-se que a concentração de clorofila na erva-mate está relacionada com a cor verde do produto ²⁹. A clorofila é uma molécula fotossintética que absorve a energia luminosa na região do azul e do vermelho, porém a luz na região do verde que não é absorvida é então refletida ou transmitida, o que evidencia a coloração verde da erva-mate. Na clorofila, os átomos de nitrogênio estão coordenados com um átomo central de magnésio ^{79 80}. Comparando as regiões estudadas, observou-se que a erva-mate do Barão do Cotegipe possui a maior concentração de Mg ($5172,9 \pm 121,3$ mg/kg), enquanto que a de Montevideú, possui a menor concentração deste elemento dentre as regiões estudadas, apresentando em torno de $3929,2 \pm 144,2$ mg/kg. Esta diferença pode estar relacionada ao teor de clorofila na folha que passou pelas diferentes etapas de industrialização. Cada etapa do processamento industrial é responsável pela variação da clorofila na erva-mate.

Neste contexto, a região e o método de produção atribuem características sensoriais à erva-mate, e ao mesmo tempo, o consumidor estabelece critérios quanto à aceitabilidade do produto. Como pode ser visto na Figura 23, as ervas-mate de Montevideú e Corrientes possuem menor concentração de Mg se comparadas com as de Barão de Cotegipe e Bento Gonçalves. Portanto, sugere-se que, quando há maior concentração de Mg, maior é a de clorofila, conferindo o aspecto de cor mais verde à erva-mate, o que foi, de fato, observado em cada pacote de erva-mate analisado.

Alguns elementos se destacaram pelas diferenças para a marca do tipo nativa analisada, procedente de CA, com relação às outras marcas do tipo tradicional. Por exemplo, os resultados de Mn e Sr foram de $3021,6 \pm 75,2$ mg/kg e $104,5 \pm 10,6$ mg/kg, respectivamente. Estes valores apresentaram maior concentração comparada com as outras oito regiões analisadas. Por outro lado, os resultados de P e Cl foram de $771,1 \pm 23,5$ mg/kg e $687,8 \pm 19,8$ mg/kg, respectivamente. Estes valores apresentaram

menor concentração comparada com as outras oito regiões analisadas. Portanto, neste caso específico a marca nativa analisada de CA possui estas características, se comparada com as marcas do tipo tradicional referentes as outras regiões de produção. Isso pode estar associado ao de que o processo de cultivo da erva-mate cultivada é distinto da erva-mate nativa, alterando a composição elementar do produto comercial em função da absorção de nutrientes pela planta ser em concentrações diferentes em cada processo de cultivo.

Para o Al, as regiões de IL e DR apresentaram menores concentrações do elemento na erva-mate. Porém, CH e CO apresentaram maior concentração deste elemento em comparação com as outras sete regiões. No caso de MO e CO, que são duas marcas estrangeiras, a concentração de Al foi significativamente diferente entre ambas, sendo $503,8 \pm 18$ mg/kg para MO e $671,9 \pm 53,7$ mg/kg para CO.

O conteúdo de Si nas ervas-mate procedentes de BG e CO está em menor concentração se comparado com as concentrações de DR e VA. Entre as ervas-mate de BC, IL, CA, CH e MO não há diferença quanto ao Si.

O conteúdo de P apresentou diferença significativa para várias das regiões estudadas. A erva-mate de CA teve a menor concentração de P dentre as oito regiões, enquanto que a de DR teve a maior concentração de P dentre as regiões. No entanto não houve diferença estatística na concentração de P na erva-mate procedente de BC, BG, VA, CH e CO. O mesmo ocorreu entre as regiões IL e MO. Neste caso o tipo de solo ou algum tipo de adubação pode alterar o produto final da erva-mate, pelo fato de que o P está presente em ambos.

Para o Cl, os produtos de erva-mate provenientes de BC, IL, BG e CA se diferenciam estatisticamente entre si em termos da concentração. Porém a concentração de Cl na erva-mate de BG, DR, CH, MO e CO, foi igual. Nota-se que a concentração de Cl na erva-mate de CA é menor que todas as outras regiões, podendo ser este um fato decorrente da menor absorção do elemento pela planta nativa.

A erva-mate produzida em DR apresentou maior concentração de K com relação às outras regiões. Além disso, existem diferenças significativas de K entre as marcas das outras regiões, como, por exemplo, entre IL e as duas marcas estrangeiras (MO e CO). Não houve diferença na concentração de K na erva-mate de BC, BG, VA, CH, MO e CO.

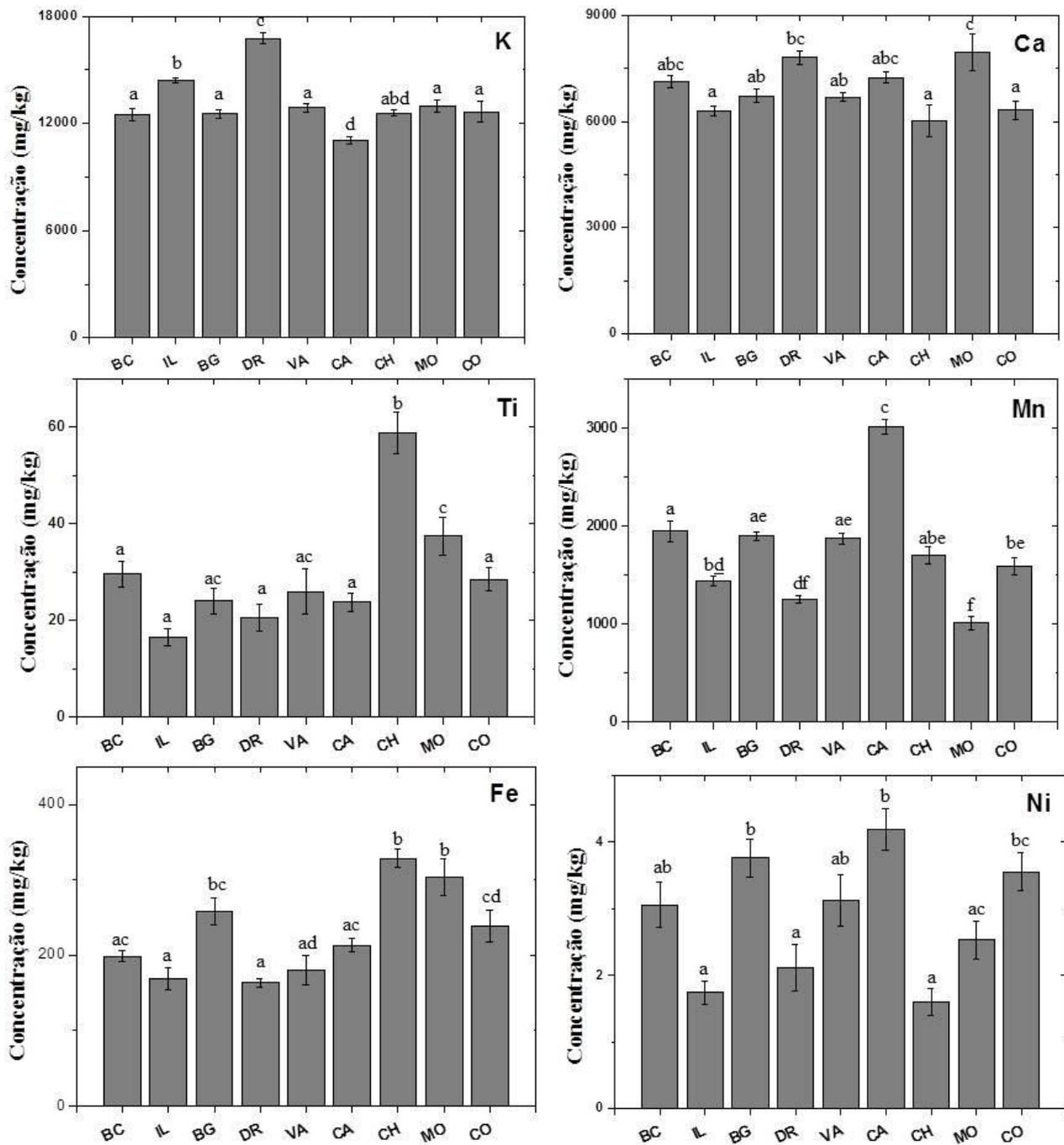


Figura 24. Concentração elementar (mg/kg) de K, Ca, Ti, Mn, Fe e Ni para as nove regiões de estudo.

Resultados são representados pela média e respectiva incerteza (desvio padrão da média). Letras diferentes significam diferença estatística ($p < 0,05$).

Para as concentrações de Ca encontradas no produto de erva-mate de MO houve diferença estatística com relação aos produtos de IL, BG, VA, CH e CO. Porém, como podem ser visualizadas na Figura 24, as concentrações de Ca encontradas nas ervas-mate de BC e CA são estatisticamente iguais a todas as outras.

A erva-mate de CH apresentou maior conteúdo de Ti se comparado com as ervas-mate das outras oito regiões. A segunda maior concentração de Ti foi para a erva-mate de MO, entretanto as ervas-mate de BC, IL, BG, DR, VA, CA e CO são estatisticamente iguais entre si.

As concentrações de Fe encontradas nas ervas-mate produzidas em CH e MO são maiores que as das amostras de outras regiões. No entanto, com valor similar a de BG.

Os resultados de concentração de Ni (Figura 24) são diferentes entre várias das regiões analisadas. Como exemplo, nota-se que os produtos analisados procedentes de SC, diferem estatisticamente entre si. Neste caso, vale ressaltar que CA é uma marca do tipo nativa e CH do tipo tradicional, o que pode estar relacionado com a origem da matéria prima o fato de o conteúdo de Ni na erva-mate de CA ($4,1 \pm 0,3$ mg/kg) ter sido encontrado em maior quantidade do que na erva-mate de CH ($1,6 \pm 0,2$ mg/kg).

Além disso, pode-se notar que a concentração de Cu encontrada na erva-mate de CO difere de BG, que, por sua vez, se diferencia de IL, DR, VA e CH.

Basicamente a concentração de Zn encontrado na erva-mate de DR é maior que as outras nove regiões. Também nota-se que a concentração de Zn em CA é igual à CH, porém diferente das outras sete marcas.

Resultados para Br, Rb, Sr e Ba das nove regiões podem ser visualizados na Figura 25. Por exemplo, para o Sr a única diferença encontrada entre as nove regiões foi para a erva-mate produzida em CA, em maior concentração, com relação às demais.

Enfim, os resultados de concentração elementar encontrados para as diferentes marcas de erva-mate estudadas podem sugerir que a origem do cultivo da planta de cada região altera as características elementares, tanto pelo tipo de solo, tipo de adubação, caso possua, e distintos processos de fabricação.

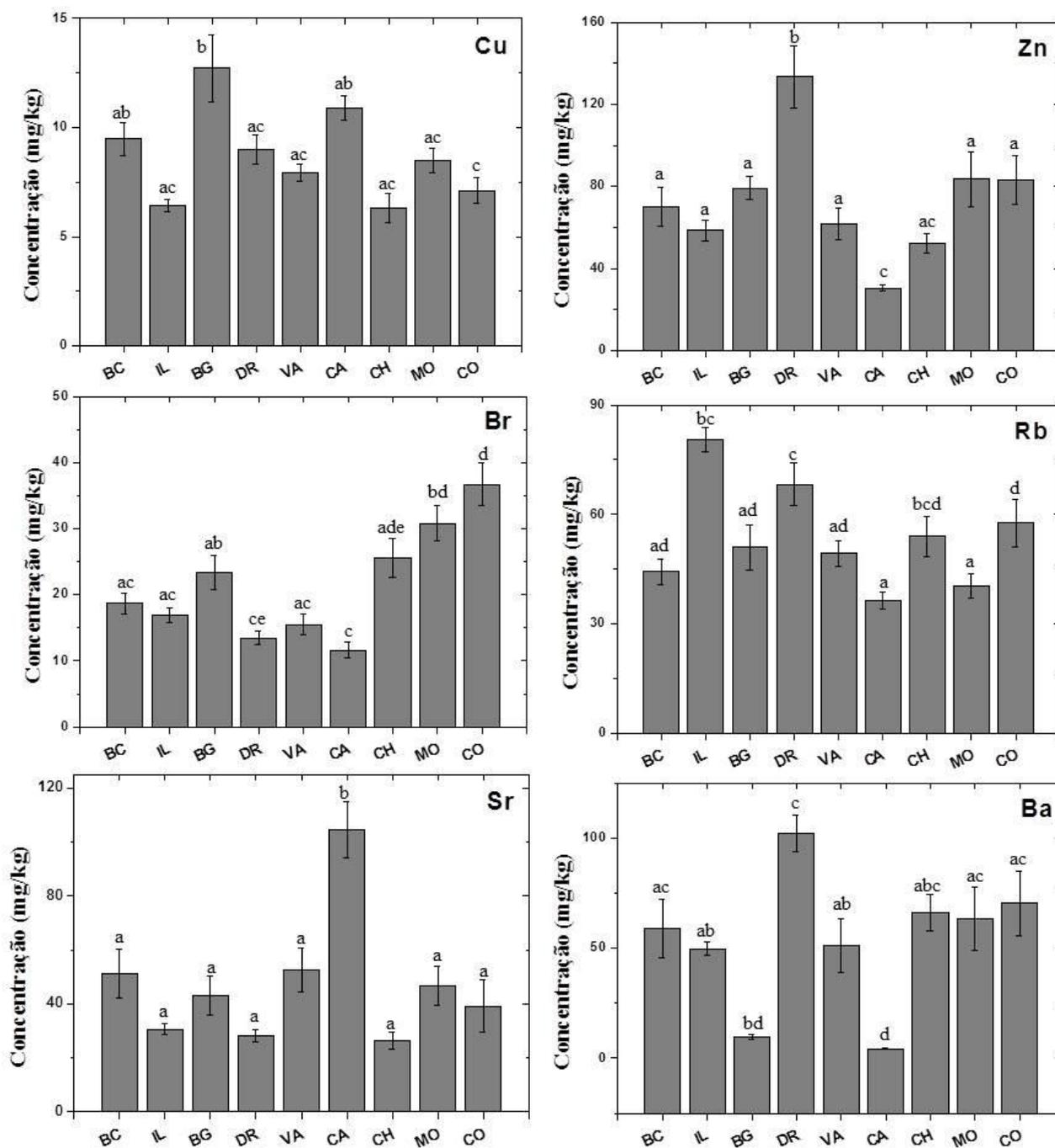


Figura 25. Concentração elementar (mg/kg) de Cu, Zn, Br, Rb, Sr e Ba para as nove regiões de estudo.

Resultados são representados pela média e respectiva incerteza (desvio padrão da média). Letras diferentes significam diferença estatística ($p < 0,05$).

Trabalhos que se referem à concentração elementar do produto comercial da erva-mate são escassos. Para fins de comparação, na Tabela 7 estão apresentados valores de concentrações elementares encontrados na literatura, juntamente com a média das concentrações elementares das ervas-mate de BC e CA, pois os valores encontrados nestas duas regiões são os que mais diferem entre si se comparados com os valores das outras regiões^{7 24 25 42}. Apenas as concentrações de K, Ca, Cu, Fe, Zn e Al

foram determinadas em todos os trabalhos citados. Elementos como P, Si, Cl, S, Mn, Ni, Ti, Rb, Sr, V, Ba e Br foram determinados apenas por alguns autores.

Tabela 7. Concentração elementar (mg/kg) da erva-mate comercial, determinada por diferentes autores. A técnica de análise utilizada por cada autor está entre parênteses.

Elemento	Ref. 7 (ICP MS e ICP OES)	Ref. 24 (ICP MS e ICP OES)	Ref. 25 (ICP OES)	Ref. 42 (PIXE)	BC (PIXE)	CA (PIXE)
P	3409±548	-	900	1404±73	1052,3±36,9	771,1±23,5
K	12317±2094	14332±3842	13000	15599±42 2	12478,7±357,4	11031,2±196,7
Si	-	-	-	547±32	2445,5±134,7	2616,6±129,9
Ca	6825±802	2636±0,3	6300	6785±249	7144,5±173,5	7244±158
Mg	4591±842	3303±0,8	4900	5025±186	5172,9±121,3	4557,4±163,9
Cl	-	-	-	1603±97	972,6±31,6	687,8±19,8
S	-	-	900	1035±20	1109,7±18,9	1127,4±19,6
Cu	11,9±2,06	9,2±0,3	8,9	14±2	9,5±0,7	10,9±0,5
Fe	205±89	291±0,2	185	254±27	198,9±7,7	213,2±8,7
Mn	1078±377	-	880	1315±113	1948,8±101,1	3021,6±75,2
Ni	2,74±0,94	4,2±0,1	1,9	-	3,1±0,3	4,1±0,3
Ti	9,9±5,2	-	-	30±3	29,6±2,6	23,8±1,9
Zn	63,6±25,0	43,7±0,9	40	72±5	70,1±9,3	30,4±1,4
Al	361±108	460±102	403	413±23	534,9±22,6	451±13
Rb	24,3±9,2	-	-	27±2	44,3±3,6	36,4±2,4
Sr	34,5±5,5	27±3	-	-	51±9	104,5±10,6
V	0,4±0,2	36,3±0,4	-	-	-	-
Br	-	-	-	-	18,7±1,6	11,6±1,2
Ba	61,5±20,8	-	-	-	59,1±13,1	4,2±0,2

Ref. 7 (n = 54) apresenta desvio padrão (mg/kg); Ref. 24 (não apresenta o n amostral) apresenta desvio padrão (mg/kg); Ref. 25 (n = 3) não apresenta incerteza; Ref. 42 (n = 20) não especifica o tipo de incerteza; Trabalho atual (n = 125) apresenta desvio padrão da média (mg/kg).

Os valores encontrados neste trabalho estão organizados por região enquanto que os valores da literatura são uma média geral de várias regiões. Por exemplo, a

concentração de Si para BC e CA ($2445,5 \pm 134,7$ e $2616,6 \pm 129,9$ mg/kg) observada neste trabalho, está numa quantidade maior, se comparada com a concentração média de Si (547 ± 32 mg/kg) encontrada em outro trabalho⁴². Esta diferença para o Si, dentre as outras observadas para os outros elementos, descritos na Tabela 7, entre os resultados deste trabalho e os resultados da referência⁴², pode ocorrer pelo fato de que neste trabalho a erva-mate é procedente de BC e CA, enquanto que para Giulian et al (2007)⁴², a erva-mate é procedente de regiões distintas do Rio Grande do Sul.

As ervas-mate analisadas pelos outros autores (Tabela 7) também são de origens distintas se comparados com as regiões deste trabalho. No trabalho de Marcelo (2013)⁷, as amostras comerciais de erva-mate são procedentes da Argentina, Brasil, Paraguai e Uruguai, porém não especifica a região produtora. E alguns produtos de erva-mate contêm adição de açúcar e outras plantas. Para Saidelles et al (2010)²⁴, as amostras comerciais de erva-mate são de diferentes regiões do Rio Grande do Sul, porém o autor não descreve o tipo de erva-mate analisada, enquanto que em outra pesquisa feita por Heinrichs et al (2001)²⁵, os autores não descrevem a região de procedência das amostras.

No entanto, os quatro (04) trabalhos que obtiveram os resultados de concentração elementar apresentados na Tabela 7, não identificaram o tipo de erva-mate analisada ou a forma de produção da mesma. Diferentes concentrações elementares foram encontradas por esses resultados, talvez devido à composição elementar do solo entre as distintas regiões de cultivo, o processo de fabricação, as condições de armazenamento, dentre outros fatores.

O perfil elementar de cada produto comercial encontrado na erva-mate entre as diferentes regiões analisadas sugere que a procedência do produto altera a concentração dos elementos. Portanto, devido à variabilidade na concentração desses elementos entre as regiões, o produto comercial de erva-mate foi também analisado através de métodos estatísticos multivariados.

4.2.1 Análise de procedência através de marcadores geoquímicos

Para analisar a procedência da erva-mate através de marcadores geoquímicos encontrados no produto comercial, seria necessário saber a origem de cultivo da planta que foi utilizada como matéria prima no processo fabril do produto. Mesmo considerando que as concentrações elementares do produto final possam estar

intimamente relacionadas com o período de crescimento em que a árvore foi podada, com as características elementares do solo da região de produção, além do processo de fabricação que é específico de cada ervateira, estes marcadores podem ser obtidos através da comparação entre a composição elementar de produtos rotulados como procedentes de diferentes regiões.

Pela análise multivariada de componentes principais entre as concentrações elementares médias das nove regiões de estudo, percebe-se a formação de grupos entre as regiões de produção (Figura 26). Estes grupos formam-se pela correlação entre as concentrações dos elementos químicos encontrados na erva-mate de cada região. A Figura 26 mostra que a variabilidade das características elementares de cada região é semelhante em cada grupo. Por exemplo, a variabilidade nas concentrações dos elementos encontrados na marca de BG é semelhante à variabilidade nas concentrações dos elementos encontrados na marca de BC, que é semelhante à variabilidade encontrada nas concentrações dos elementos na marca de VA e assim sucessivamente.

Esta separação de agrupamentos pode ser melhor visualizada pela Análise Hierárquica de Agrupamentos (HCA). Grupos não evidenciados por PCA são confirmados com HCA, como pode ser visto no dendograma da Figura 27.

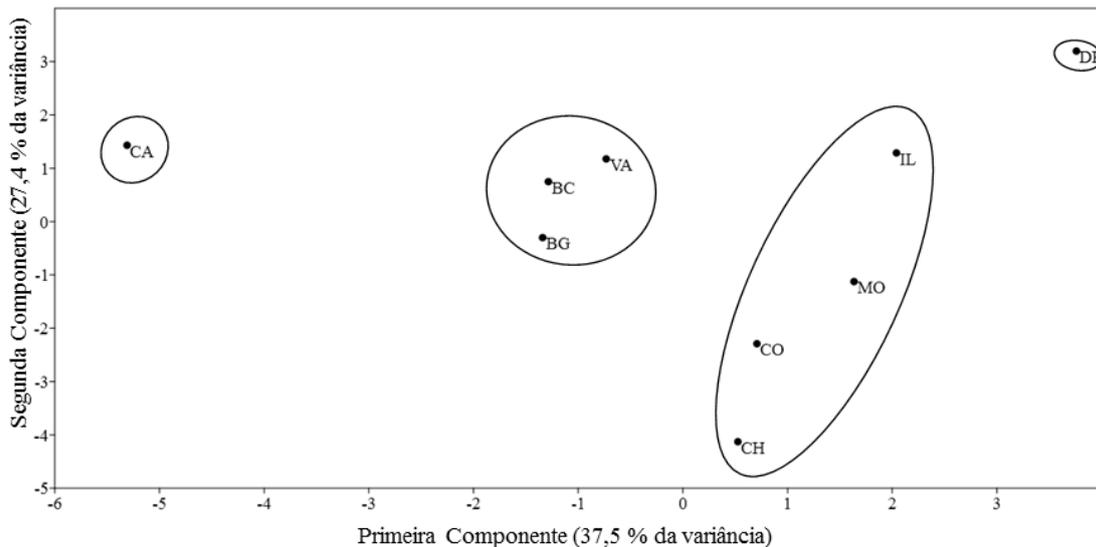


Figura 26. Gráfico de dispersão das regiões de produção da erva-mate para as duas primeiras componentes principais. Os grupos indicam a semelhança na variabilidade na concentração dos elementos químicos em cada região de produção.

Primeiramente, as menores distâncias (d_{ij}) ocorreram para as maiores semelhanças no comportamento da variabilidade das concentrações elementares padronizadas. Evidentemente as regiões BC e VA apresentaram maior semelhança, logo se agrupando a BG, o que confere similaridade por serem regiões produtoras do RS. Outra evidencia de similaridade no RS foi para DR e IL, porém estão afastadas de terem uma semelhança com BC, VA e BG.

Igualmente com BC, VA e BG a maior semelhança foi para as regiões MO e CO. Por serem marcas de erva-mate produzidas por meio de processos fabris talvez distintos de outras regiões, as mesmas se agruparam de acordo com a semelhança no comportamento de variabilidade dos conteúdos elementares. Nota-se também que CH, mesmo sendo de SC, ficou agrupada com algumas regiões do RS e as duas estrangeiras. Porém CH foi semelhante à DR e IL através da distância euclidiana. Na Tabela 9 do Anexo 3, são evidenciados os valores da distância euclidiana entre todas as regiões, no qual $(X_{ik} - X_{jk})$ da Equação 11, define a diferença de concentração do mesmo elemento para duas regiões diferentes.

Enfim, de acordo com os resultados de HCA nota-se que a erva-mate procedente de CA se distanciou das demais regiões. É possível que o comportamento do seu conteúdo elementar não tenha sido distinguido pela região de procedência, mas sim pelo tipo de cultivo de tal erva-mate, que neste caso foi do tipo nativo.

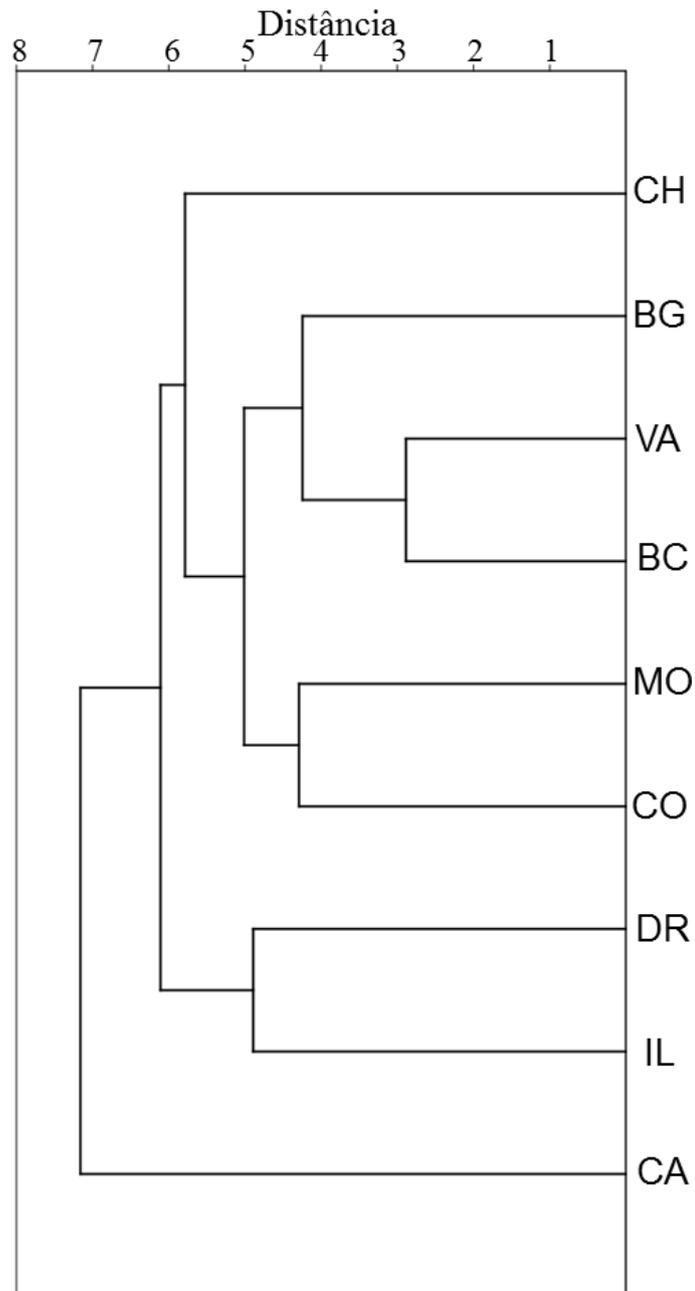


Figura 27. Dendrograma obtido de uma análise de agrupamentos entre as nove regiões de estudo deste trabalho demonstrando a semelhança na variabilidade entre as concentrações elementares médias das regiões.

Entretanto, torna-se necessário entender a correlação linear que pode haver entre as concentrações elementares de cada região de produção para verificar quais elementos influenciam mais significativamente para que haja a separação dos grupos (Figura 26).

A Tabela 8 demonstra a matriz de correlações de Pearson entre os dezoito elementos encontrados nas ervas-mate das nove regiões, a partir das concentrações

médias. A Figura 28 apresenta quatro exemplos extraídos desta tabela entre as correlações de alguns elementos, através de diagramas de dispersão. Uma correlação fraca e inversa, outra regular, outra forte e outra muito forte são evidenciadas entre os elementos Al e Mg, Ca e Si, Ti e Al, e K e P, respectivamente.

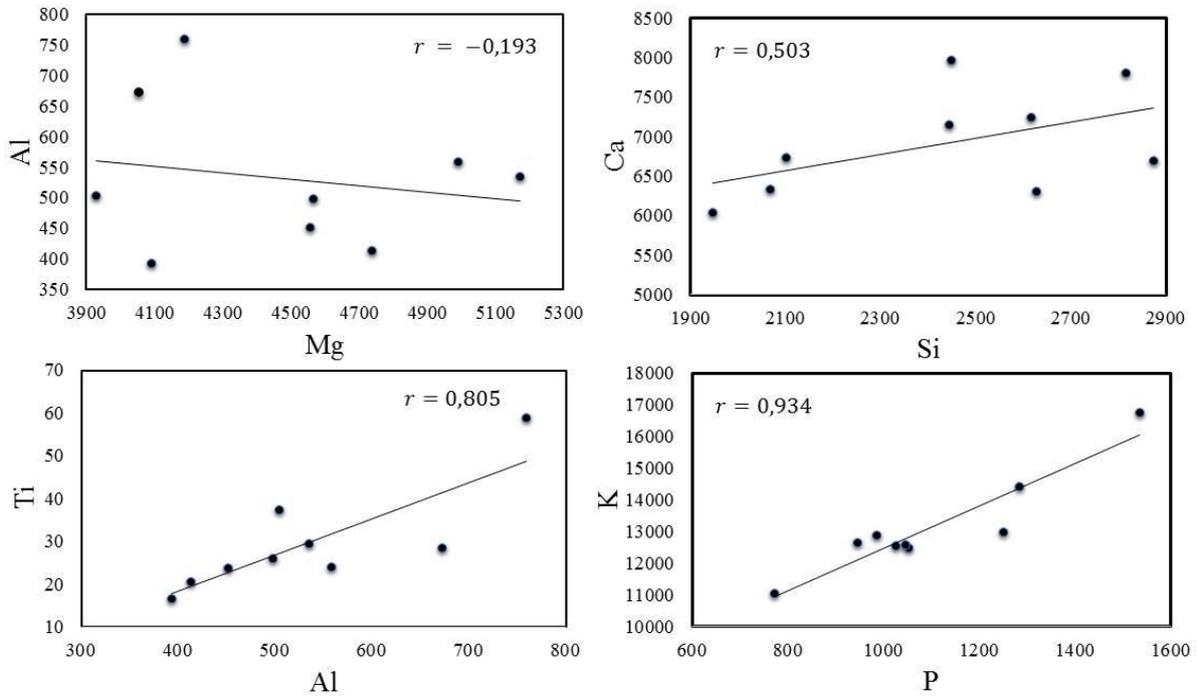


Figura 28. Exemplos de diagrama de dispersão. Para Al e Mg tem-se uma correlação fraca e inversa ou negativa. Para Ca e Si tem-se uma correlação regular. Para Ti e Al tem-se uma correlação forte. Para K e P tem-se uma correlação muito forte.

O comportamento na correlação linear entre os elementos encontrados nas nove regiões ocorre pelo fato de que as diferentes regiões de produção apresentam distintas concentrações elementares, a não ser para o S, como pode ser visto nas Figuras 23, 24 e 25. Torna-se possível interpretar os níveis de correlação entre os elementos através da visualização dos resultados dos gráficos de barra. O exemplo mais visível é entre K e P. Nota-se que a correlação entre o K e o P se dá pelo comportamento similar na comparação entre as regiões de cada gráfico, mesmo que as faixas de concentrações não

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Tabela 8. Matriz de correlações de Pearson entre os dezoito elementos encontrados nas ervas-mate das nove regiões, a partir das concentrações elementares médias. Os níveis de correlação estão apresentados por cores, sendo que vermelho corresponde a uma correlação fraca ($0 < r < 0,3$), roxo a uma correlação regular ($0,3 < r < 0,6$), azul a uma correlação forte ($0,6 < r < 0,9$) e verde a uma correlação muito forte ($0,9 < r < 1,0$).

	Mg	Al	Si	P	S	Cl	K	Ca	Ti	Mn	Fe	Ni	Cu	Zn	Br	Rb	Sr	Ba
Mg	1,000																	
Al	-0,193	1,000																
Si	0,171	-0,856	1,000															
P	-0,085	-0,405	0,334	1,000														
S	0,457	0,101	-0,186	-0,252	1,000													
Cl	-0,255	0,142	-0,358	0,623	-0,420	1,000												
K	-0,010	-0,414	0,411	0,934	-0,229	0,506	1,000											
Ca	0,195	-0,552	0,503	0,406	-0,221	0,091	0,273	1,000										
Ti	-0,302	0,805	-0,613	-0,170	0,204	0,099	-0,312	-0,251	1,000									
Mn	0,399	-0,024	0,039	-0,791	0,615	-0,810	-0,668	-0,161	-0,124	1,000								
Fe	-0,378	0,739	-0,773	-0,235	0,047	0,352	-0,444	-0,135	0,843	-0,139	1,000							
Ni	0,380	-0,034	-0,035	-0,709	-0,013	-0,393	-0,617	0,129	-0,357	0,669	-0,095	1,000						
Cu	0,693	-0,257	0,022	-0,241	0,267	-0,043	-0,259	0,422	-0,353	0,464	-0,050	0,699	1,000					
Zn	0,141	-0,176	0,159	0,778	-0,417	0,654	0,811	0,473	-0,226	-0,685	-0,209	-0,257	0,043	1,000				
Br	-0,519	0,678	-0,733	-0,104	-0,502	0,539	-0,213	-0,217	0,448	-0,459	0,663	-0,0007	-0,272	0,131	1,000			
Rb	-0,221	-0,227	0,127	0,622	-0,088	0,399	0,745	-0,352	-0,326	-0,490	-0,427	-0,617	-0,487	0,374	-0,092	1,000		
Sr	0,202	-0,273	0,265	-0,671	0,265	-0,744	-0,649	0,274	-0,229	0,839	-0,120	0,743	0,506	-0,575	-0,374	-0,685	1,000	
Ba	-0,236	0,092	0,127	0,703	-0,368	0,369	0,724	0,176	0,189	-0,739	-0,095	-0,651	-0,612	0,704	0,212	0,439	-0,683	1,000

estejam associadas entre si (Figuras 23 e 24). É possível notar que todas as regiões, se comparadas com respeito a esses elementos, apresentam comportamento praticamente igual, por isso o coeficiente de correlação muito forte encontrado ($r = 0,934$).

O mesmo acontece na comparação entre Al e Si. O comportamento na concentração entre esses dois elementos ocorre de forma inversa, pois enquanto o teor de um elemento encontrado numa região cresce, o outro elemento na outra região diminui (Figura 23). Por isso, o coeficiente de correlação forte e inverso encontrado ($r = -0,856$).

Portanto, as correlações encontradas entre as concentrações elementares não significam que as mesmas são dependentes entre si. Significam apenas que estão associadas e podem variar conjuntamente.

É possível também combinar o gráfico da Figura 26 com os autovetores extraídos da matriz de correlação (Figura 29). Estes autovetores são denominados de *cargas*, pois indicam o quão fortemente estão correlacionados os elementos químicos de acordo com a região de produção e indicam também quais dos mesmos influenciam para formar os grupos.

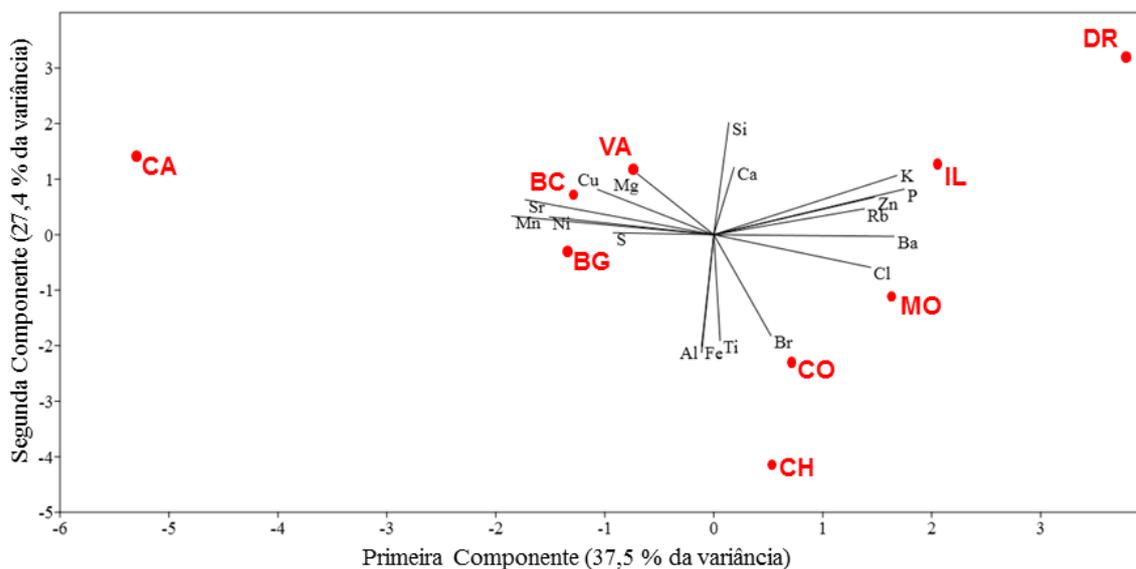


Figura 29. Gráfico de dispersão das nove regiões de produção da erva-mate analisadas para as duas primeiras componentes principais. Os autovetores indicam a correlação dos elementos químicos encontrados na erva-mate, com a sua região de procedência.

Uma PCA extrai todas as possibilidades de variância entre as regiões correlacionando os elementos encontrados na erva-mate através da Equação 10. O *coeficiente de proporção* (a_{ix}) contido nesta equação, demonstra o quanto daquela variável (X_x), neste caso concentração elementar, contribui em termos de proporção, para a componente principal (Z_i).

Os parâmetros que deram origem aos autovetores (Figura 29) são os próprios coeficientes de proporção combinados através das duas primeiras componentes principais. Sabe-se que a variância da componente principal é o autovalor associado a aquela componente. A importância das duas primeiras componentes principais se dá pelo fato de que juntas extraem a maior parte da variância entre as regiões, através das concentrações elementares padronizadas. Todas as variâncias extraídas pela PCA, pela matriz de dados das concentrações elementares médias padronizadas para as nove regiões de estudo, bem como os autovalores associados, estão apresentados na Tabela 10 do Anexo 3. Sendo assim, o primeiro componente principal explica $(6,74/18) \times 100\% = 37,5\%$ da variância total e o segundo componente explica $(4,94/18) \times 100\% = 27,4\%$ da variância total, os quais entre eles explicam 64,9% da variação dos dados deste trabalho.

As Equações 12 e 13 representam as duas primeiras componentes principais da matriz de dados de concentração elementar das nove regiões de estudo, e dão origem aos resultados da Figura 29. Os valores dos coeficientes de proporção (a_{ix}) de determinado elemento estão sublinhados em cada componente, nos quais participaram da maior extração de variação dos dados. Além disso, a combinação de dois valores do parâmetro a_{ix} , um de Z_1 e outro de Z_2 , indica a direção do autovetor no gráfico da Figura 28. Os pontos das regiões são calculados inserindo nas Equações 12 e 13 os valores de concentração elementar média padronizada. A Tabela 11 no Anexo 3 mostra os valores de Z_1 e Z_2 , também chamados de *scores* para as nove regiões. A combinação de Z_1 e Z_2 organiza os pontos das regiões na Figura 29.

$$\begin{aligned}
 Z_1 = & \underline{-0,136}(Mg) - 0,0215(Al) + 0,027(Si) + \underline{0,340}(P) - \underline{0,179}(S) \\
 & + \underline{0,280}(Cl) + \underline{0,327}(K) + 0,036(Ca) + 0,011(Ti) - \underline{0,361}(Mn) \\
 & - 0,021(Fe) - \underline{0,294}(Ni) - \underline{0,207}(Cu) + \underline{0,287}(Zn) + 0,102(Br) \\
 & + \underline{0,269}(Rb) - \underline{0,337}(Sr) + \underline{0,322}(Ba)
 \end{aligned} \tag{12}$$

$$\begin{aligned}
Z_2 = & 0,213(Mg) - \underline{0,413}(Al) + \underline{0,393}(Si) + 0,159(P) + 0,006(S) \\
& - 0,114(Cl) + 0,207(K) + \underline{0,235}(Ca) - \underline{0,371}(Ti) + 0,065(Mn) \\
& - \underline{0,392}(Fe) + 0,062(Ni) + 0,158(Cu) + 0,131(Zn) - \underline{0,354}(Br) \\
& + 0,091(Rb) + 0,122(Sr) - 0,006(Ba)
\end{aligned} \tag{13}$$

Nota-se que os elementos sublinhados no componente Z_1 são aqueles em que os autovetores tiveram uma importância maior na formação dos grupos, e não são tão significativos para Z_2 , pois estão muito próximos da origem (Figura 29). A mesma regra vale para os elementos sublinhados no componente Z_2 . Porém, existe uma correlação entre os elementos, descrita na Tabela 8, a qual pode ser explicada através da proporcionalidade do coeficiente de correlação pelo ângulo θ entre os autovetores de cada elemento ($r = \cos \theta$). Sendo assim, quando o ângulo entre dois autovetores for próximo de 0° , a correlação entre os elementos aproxima-se de um nível muito forte. O mesmo acontece quando o ângulo entre dois autovetores for próximo de 180° , porém a correlação será inversa. Mas quando o ângulo entre dois autovetores for próximo de 90° , a correlação entre os elementos aproxima-se de um nível fraco.

O exemplo do Si e Al demonstra uma correlação forte e inversa $r = -0,856$. Logo, o ângulo correspondente a esses dois elementos é de $148,9^\circ$ (Figura 29). Outro exemplo, como Cl e Ba, demonstra uma correlação regular $r = 0,369$. Logo o ângulo correspondente a esses dois elementos é de $68,3^\circ$, como pode ser visto na Figura 29.

Portanto, analisando os resultados de agrupamentos, correlação e componentes principais foi possível notar que a associação entre os elementos químicos encontrados na erva-mate empacotada de cada região, através de suas concentrações, pode indicar características de procedência. Os elementos Mg, Cu, Sr, Mn, Ni e S correlacionaram-se entre si e diferiram as regiões BG, BC, VA e CA das outras regiões. Os elementos Si, Ca, Al, Fe, Ti e Br correlacionaram-se entre si e diferiram as regiões CO e CH das outras regiões. E os elementos Rb, Zn, K, P, Ba e Cl correlacionaram-se entre si e diferiram as regiões MO, IL e DR das outras regiões. Porém a correlação inversa entre os autovetores influenciaram da mesma maneira a separação entre as regiões. Sugere-se que este conjunto de elementos que diferem as regiões são os marcadores geoquímicos para a matriz de dados contendo as nove regiões.

No entanto, neste trabalho levou-se em consideração que mesmo sem analisar o solo onde a planta foi cultivada, as análises foram feitas com base na informação do

rótulo do produto de erva-mate. A partir disso, sabe-se que duas marcas analisadas são distintas das demais. A erva-mate analisada de CA é produzida com matéria prima nativa, e a erva-mate de BG além de ser produzida pelo método barbaquá, a matéria prima utilizada na produção dos lotes é oriunda de diferentes regiões do RS. Por estas razões foi feita a PCA novamente, porém excluindo da matriz de dados, as concentrações elementares da erva-mate de CA e BG, obtendo assim a partir de uma nova matriz de correlações, novos coeficientes de proporção. A Figura 30 demonstra um novo gráfico a partir das duas primeiras componentes principais considerando as outras sete regiões.

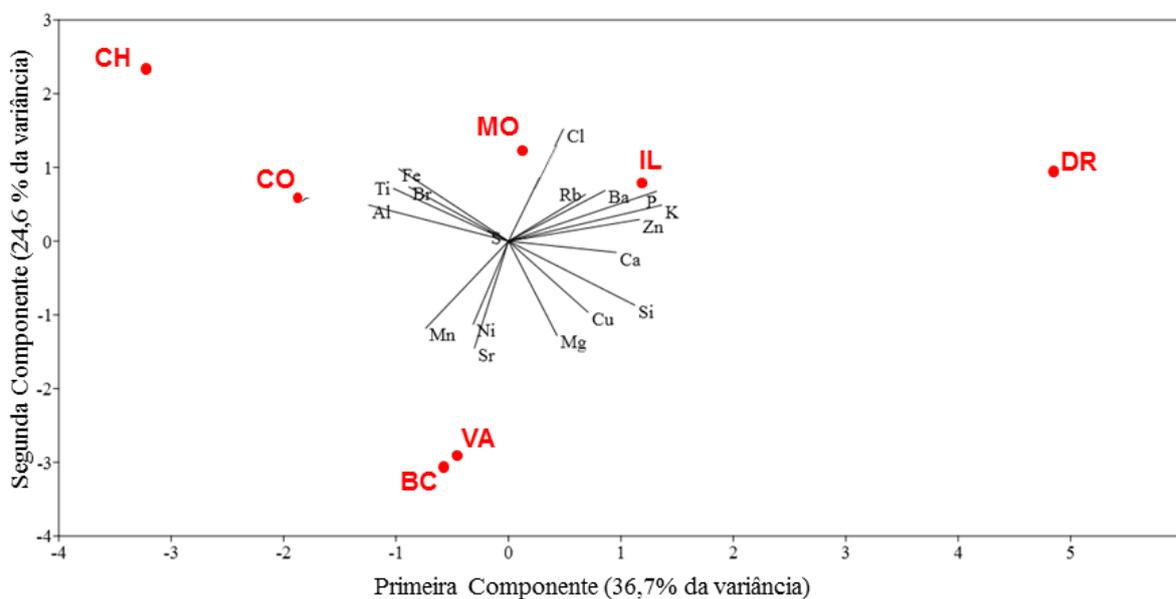


Figura 30. Gráfico de dispersão das sete regiões de produção da erva-mate, excluindo CA e BG, para as duas primeiras componentes principais. Os autovetores indicam a correlação dos elementos químicos encontrados na erva-mate, com a sua região de procedência.

Analisando o gráfico da Figura 30 primeiramente nota-se que ao excluir as regiões CA e BG da análise, apenas a região de MO passou a se agrupar com BC e VA, enquanto que CH e CO mantiveram-se agrupadas e IL e DR também. Ao analisar os marcadores geoquímicos, nota-se que o Cl passou a fazer parte do grupo de BC, VA e MO. Isto provavelmente se deve pelo fato de que MO mudou-se de grupo. Outra alteração foi que ao excluir BG e CA, que estavam associados a BC e VA, nota-se que Mg, Cu e S passaram a ser marcadores de CH e CO. Portanto, os elementos Sr, Mn, Ni e Cl correlacionaram-se entre si e diferiram as regiões BC, VA e MO das outras regiões. Os elementos Si, Ca, Al, Fe, Ti, Br, Mg, Cu e S correlacionaram-se entre si e diferiram

as regiões CO e CH das outras regiões. E os elementos Rb, Zn, K, P e Ba correlacionaram-se entre si e diferiram as regiões IL e DR das outras regiões. Pode-se então sugerir que este conjunto de elementos que diferem as regiões são os marcadores geoquímicos para a matriz de dados contendo as sete regiões.

5 CONCLUSÕES

Neste trabalho, foi realizado o estudo da composição elementar da erva-mate comercializada procedente de diferentes regiões de produção, utilizando como principal técnica analítica a de feixes de íons PIXE. Os elementos Mg, Al, Si, P, S, Cl, K, Ca, Ti, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Br, Rb, Sr e Ba foram determinados em diferentes concentrações nas ervas-mate produzidas em BC, IL, BG, DR, VA, CA, CH, MO e CO.

A partir da análise estatística univariada entre os lotes, pode-se concluir que a região de IL apresentou um número menor de elementos com diferença estatística, enquanto que os lotes procedentes de BG apresentaram um número maior de elementos com tal diferença. Além disso, pela análise estatística multivariada foi possível identificar a homogeneidade do conteúdo elementar entre todos os lotes analisados, e a partir disso diferenciar a região de procedência através da variabilidade do conteúdo elementar. Conclui-se que os lotes de BG possuem uma heterogeneidade na produção dos mesmos a partir dos elementos químicos, e que isto pode estar atrelado à origem da matéria prima.

Pela análise estatística univariada entre as regiões, conclui-se que a partir da comparação de um elemento químico encontrado na erva-mate de várias regiões, as mesmas apresentam algumas características peculiares. Por exemplo, o S não apresentou diferença de concentração entre nenhuma região de produção, enquanto que as concentrações de Mn, Sr, P e Cl foram diferentes na erva-mate de CA (nativa) com relação as outras regiões.

A partir da análise estatística multivariada HCA, conclui-se que o método distinguiu regiões produtoras do RS das regiões estrangeiras, porém as regiões de SC não foram discriminadas, devido a sua heterogeneidade nas concentrações elementares, enquanto a região de CA se afastou das demais regiões, por ser uma marca do tipo nativa.

Além disso, a variabilidade das concentrações elementares entre as regiões de estudo foi um parâmetro essencial para, através de PCA, caracterizar a análise de procedência do produto de erva-mate através de marcadores geoquímicos. Foram determinados dois conjuntos de marcadores geoquímicos, um a partir da matriz de dados contendo as nove regiões estudadas e o outro a partir da matriz de dados contendo apenas sete regiões estudadas, excluindo os dados de BG e CA.

Por fim, a técnica PIXE, complementada por RBS, mostrou-se aplicável para estudos como este, uma vez que possibilitou determinar a composição elementar e, com análises estatísticas, identificar elementos químicos que podem ser considerados marcadores geoquímicos do produto disponível comercialmente. Em geral, estudos como estes são realizados por técnicas baseadas em princípios químicos, e pelo baixo limite de detecção que possuem, determinam elementos traço que atuam como marcadores geoquímicos. No entanto, através deste trabalho mostrou-se que é possível a diferenciação de regiões de procedência de um determinado produto através de elementos majoritários ou de concentrações intermediárias, sem o uso de produtos químicos para preparação de amostras, e utilizando-se majoritariamente uma única técnica analítica, como PIXE.

ANEXO 1 – Calibração e padronização do sistema de PIXE

Pela obtenção do espectro do padrão de folhas de maçã, fez-se uma calibração de energia (E) de emissão dos raios X (valores tabelados em unidades de keV), em função do respectivo canal, representado pelo centróide (X_c) de cada pico de raios X, bem como da largura a meia altura (W/2, em que W representa a largura) dos picos de tal espectro em função da energia (E). Para tal, valores de X_c e de W foram obtidos através do ajuste dos picos do espectro de PIXE com uma função gaussiana ⁶⁸. Obtidos os valores de X_c e fazendo uso dos respectivos de E, foi plotado um gráfico de E versus X_c (Figura 31) e realizado um ajuste linear, do qual resultou a equação $E = 0,10423+0,01622*X_c$. Obtida a equação de calibração de energia é possível gerar os espectros de contagens dos raios X característicos e também inseri-la no programa GUPIXWIN ⁶⁴ para a quantificação dos elementos das amostras de erva-mate. Também foi plotado um gráfico de X_c versus E, no qual feito um ajuste linear foram extraídos os parâmetros A_1 e A_2 , expressos na Equação 1 no subcapítulo 2.2.1.4, que também serão necessários para a quantificação dos espectros de erva-mate com o programa GUPIXWIN ⁶⁴. Este procedimento de calibração foi seguido em todas as datas de medições de PIXE ⁴⁷ no LII.

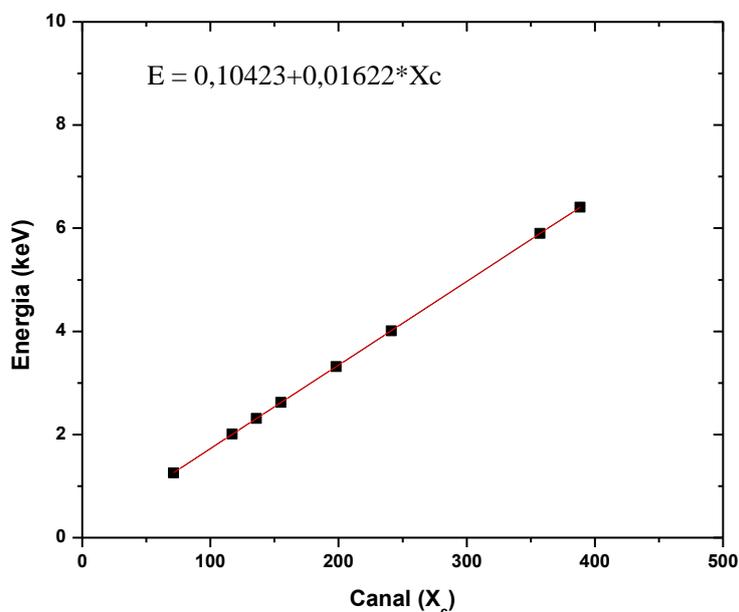


Figura 31. Gráfico da calibração de energia (E) dos raios X característicos em função do canal (X_c), e sua respectiva equação de calibração para uma amostra de padrão de folhas de maçã.

A Figura 32 mostra a calibração de largura à meia altura ($W/2$) dos picos de raios X, obtida para a mesma amostra padrão de folhas de maçã utilizada anteriormente. O objetivo de realizar esta calibração foi obter dois parâmetros, A_4 e A_5 , expressos na equação da Figura 32, que são necessários para a quantificação dos espectros de ervamate com o programa GUPIXWIN⁶⁴. Estes parâmetros estão na Equação 2 no subcapítulo 2.2.1.4, na qual está expressa na forma genérica.

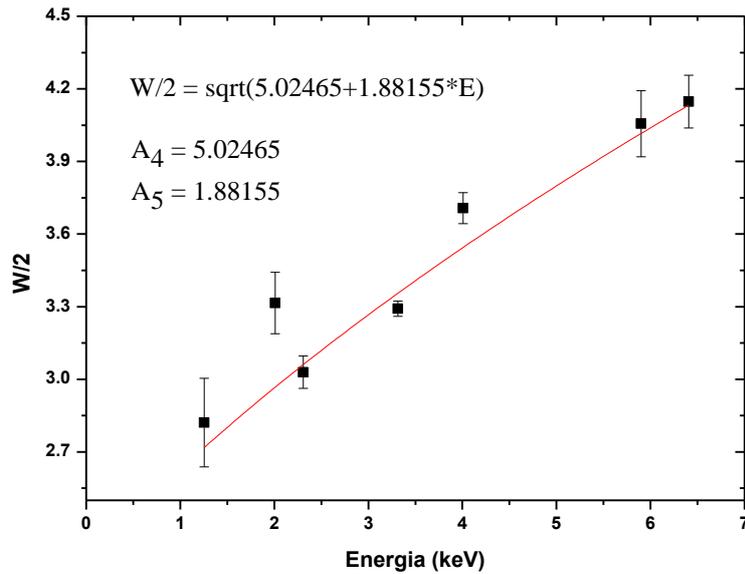


Figura 32. Gráfico da largura a meia altura ($W/2$) em função da energia (E) dos raios X do espectro de PIXE obtido para o padrão de folhas de maçã. A equação de calibração de largura está apresentada no gráfico.

Realizadas as calibrações, procedeu-se com a padronização do sistema, pela determinação de H , conforme descrito em 2.2.1.4. Este também foi um procedimento adotado para cada data de medição de PIXE⁴⁷. Para tanto, após a obtenção do espectro PIXE de padrão de folhas de maçã, assume-se um fator de padronização com valor constante, tal como $H_F = 1$. As concentrações elementares (C_F) obtidas pelo programa GUPIXWIN⁶⁴, considerando $H_F = 1$, obedecem à equação $H_F C_F = H_V C_V$. Com isso, a razão entre as concentrações elementares determinadas por PIXE, pelas concentrações elementares certificadas pelo fabricante da amostra de padrão de folhas de maçã, pode ser relacionada com o fator de padronização H , através da Equação 14.

$$H = \frac{C_F}{C_V} \quad (14)$$

ANEXO 2 – Calibração do sistema de RBS

Para os espectros obtidos da amostra de padrão de ouro (Au), foram determinados os centroides (X_c) dos picos dos espectros de contagens de íons retroespalhados em função do canal ⁶⁸, utilizando a Equação 15. O ajuste de um espectro de Au é exemplificado na Figura 33.

$$y = a + b \times \left[\operatorname{erf} \left(\frac{x - x_c}{1,4142 \times s} \right) \right] \quad (15)$$

Alguns parâmetros como massa dos íons do feixe, massa dos átomos do alvo, energia de incidência do feixe e ângulo de espalhamento, são importantes para se obter o fator cinemático K descrito em 2.2.2, pela Equação 6. Através de um aplicativo computacional, foram obtidos os valores de K para os quatro valores de energia de incidência do feixe, utilizados em cada irradiação da amostra de padrão de Au. Sabendo-se esses valores, foi possível determinar os respectivos valores de energia dos íons espalhados (E_f). Considerando os valores de X_c e respectivos valores de E_f , foi construído um gráfico de E_f versus X_c , que foi ajustado linearmente para determinação da equação de calibração de energia (Figura 34).

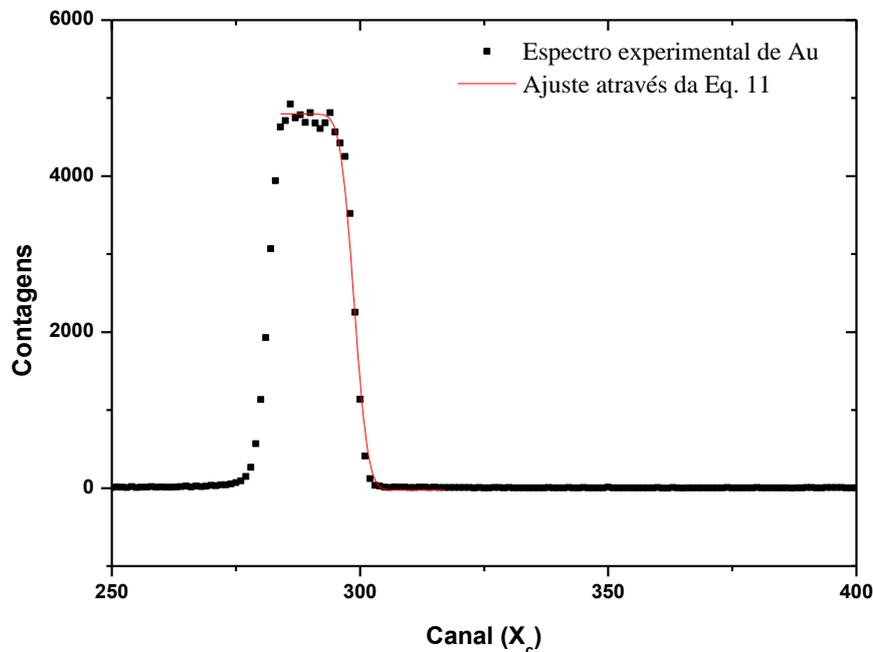


Figura 33. Ajuste do espectro de RBS de uma amostra de padrão de Au, obtido pela incidência de um feixe de hélio de energia de 1500 keV.

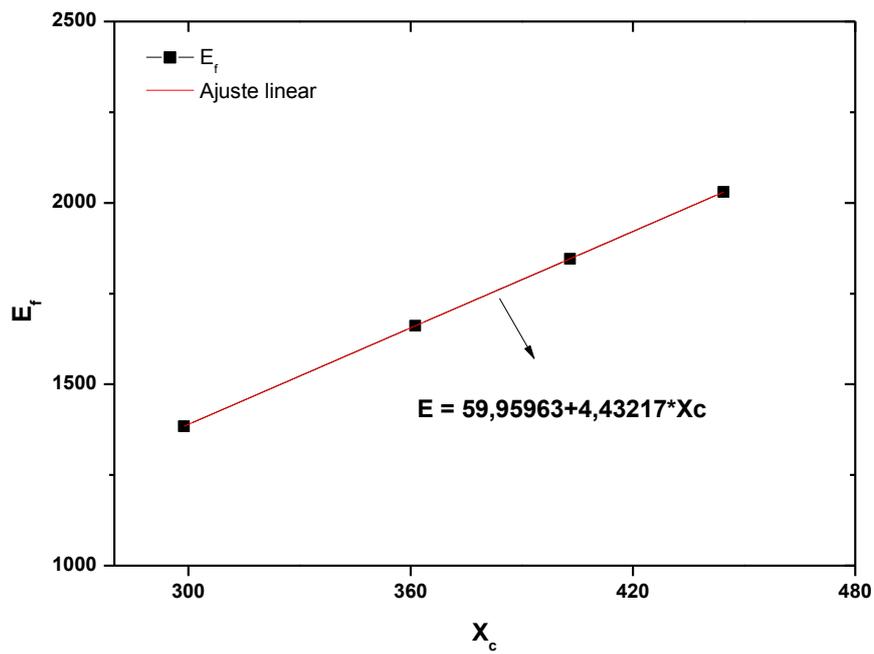


Figura 34. Gráfico da energia dos íons retroespalhados (E_f) em função do canal (X_c). Os dados foram obtidos pelas medições de uma amostra do padrão de Au, com energias de 1500, 1800, 2000 e 2200 keV. O ajuste linear forneceu a equação de calibração de energia em função do canal para posterior ajuste dos espectros de RBS ⁶⁶ obtidos para a erva-mate.

ANEXO 3 – Tabelas dos resultados de HCA e PCA

Tabela 9. Distâncias euclidianas entre as nove regiões de produção de erva-mate.

	BC	IL	BG	DR	VA	CA	CH	MO	CO
BC	0								
IL	5,28	0							
BG	3,68	6,12	0						
DR	5,83	4,89	6,92	0					
VA	2,88	4,20	4,81	5,81	0				
CA	4,83	7,89	5,89	9,46	5,15	0			
CH	5,73	6,47	6,19	8,34	6,33	8,40	0		
MO	5,29	5,82	5,41	5,99	5,02	7,99	5,84	0	
CO	4,94	5,42	4,84	7,09	4,56	7,65	4,83	4,29	0

Tabela 10. Resultados de autovalores e respectiva percentagem da variância para as oito (08) componentes nas quais juntas explicam a variação na concentração dos dezoito elementos encontrados nas regiões de estudo deste trabalho.

Componentes	Autovalor	Porcentagem da variância
Z_1	6,74	37,5%
Z_2	4,94	27,4%
Z_3	2,20	12,2%
Z_4	1,60	8,9%
Z_5	1,29	7,1%
Z_6	0,79	4,4%
Z_7	0,30	1,7%
Z_8	0,14	0,8%
Total	18	100%

Tabela 11. Valores dos pontos das duas primeiras componentes principais para as nove (09) regiões de estudo deste trabalho, obtidos a partir das concentrações elementares médias padronizadas.

Regiões	Scores das componentes principais	
	Z_1	Z_2
BC	-1,28	0,75
IL	2,04	1,29
BG	-1,34	-0,30
DR	3,76	3,19
VA	-0,73	1,17
CA	-5,31	1,43
CH	0,53	-4,13
MO	1,63	-1,12
CO	0,71	-2,29

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ¹ MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. **Produtos madeireiros e não madeireiros.** Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/florestas/manejo-florestal-sustent%C3%A1vel/produtos-madeireiros-e-n%C3%A3o-madeireiros>> Acessado em: 18/11/2016.
- ² SINDIMATE'RS. Disponível em: <<http://www.sindimaters.com.br/index.php?sel=1>> Acessado em: 01/11/2016.
- ³ MEDRADO, M. J. S. **A evolução do setor florestal brasileiro no século XXI.** Disponível em: <<http://www.agrosoft.org.br/br/a-evolucao-do-setor-florestal-brasileiro-no-seculo-xxi/artigos>> Acessado em: 18/11/2016.
- ⁴ INPI. **Indicação Geográfica no Brasil.** Disponível em: <<http://www.inpi.gov.br/menu-servicos/indicacao-geografica/indicacao-geografica-no-brasil>> Acessado em: 21/11/2016.
- ⁵ VALENTE, M. E. R.; PEREZ, R.; RAMOS, A. M.; CHAVES, J. B. P. **Indicação geográfica de alimentos e bebidas no Brasil e na União Europeia.** Ciência Rural, Santa Maria, SciELO, v. 42, n. 3, p. 551-558, Mar., 2012.
- ⁶ INYM. **Yerba Mate Argentina.** Disponível em: <<http://yerbamateargentina.org.ar/yerba-mate/indicacion-geografica/>> Acessado em: 21/11/2016.
- ⁷ MARCELO, M. C. A. **Identificação da procedência geográfica da erva mate (*Ilex paraguariensis*) mediante análise elementar, reflexão no infravermelho próximo e quimiometria.** 2013. 103 f. Trabalho de conclusão de curso (Dissertação) – Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, Porto Alegre, 2013.
- ⁸ REISSIG, G. N. **Fraudes em alimentos: tipos e detecção.** 2009. 38 f. Trabalho Acadêmico – Curso de Bacharelado em Química de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas – UFPEL, Pelotas, 2009.

- ⁹ MASSA NEWS. **Sebrae apoia o 1º encontro da associação dos amigos da erva-mate.** Disponível em: <<http://massanews.com/noticias/plantao/sebrae-apoia-o-1-encontro-da-associacao-dos-amigos-da-erva-mate-AJPjp.html>> Acessado em: 19/09/2016.
- ¹⁰ LONDERO, A.; LOPES, F.; SAGGIN, K. D. **Erva-mate: legislações atuais e futuras em busca da segurança alimentar.** SEAPA – Informativo técnico do DDA, Dez., 2014.
- ¹¹ BERTÉ, K. A. S.; FREITAS, R. J. S. de; RUCKER, N. G. de A.; RAPACCI, M. **Vida-De-Prateleira: Microbiologia da Erva-Mate Chimarrão.** Acta Farmacéutica Bonaerense, v. 25, n. 1, p. 95-98, 2006.
- ¹² SECRETARIA DA CULTURA. **Museu paranaense.** Disponível em: <<http://www.museuparanaense.pr.gov.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=62>> Acessado em: 01/11/2016.
- ¹³ WIKILIVROS. **Mate/história.** Disponível em: <<https://pt.wikibooks.org/wiki/Mate/Hist%C3%B3ria>> Acessado em: 08/12/2016.
- ¹⁴ ZAMPIER, A. C. **Avaliação dos Níveis de Nutrientes, Cafeína e Taninos após Adubação Mineral e Orgânica, sua Relação com a Produtividade na Erva-Mate (Ilex paraguariensis St. Hill).** 2001. 114 f. Trabalho de conclusão de curso (Dissertação) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, Universidade Federal do Paraná – UFPR, Curitiba, 2001.
- ¹⁵ CARMEAN, W. H. **Forest Site Quality Evaluation in The United States.** Advances in Agronomy, Minnesota, ELSEVIER, v. 27, p. 209-269, 1975.
- ¹⁶ MUNDO REAL – NOTÍCIAS COM RELEVÂNCIA. **Copa da árvore de erva-mate.** Disponível em: <<http://www.mundoreal.xyz/flores-e-arvores-tipicas-de-cada-regiao/arvore-de-erva-mate-folhas/>> Acessado em: 09/12/2016.
- ¹⁷ APREMAVI. Disponível em: <<http://www.apremavi.org.br/noticias/apremavi/583/ervamate-uma-arvore-de-tradicao/>> Acessado em: 09/12/2016.

- ¹⁸ FOSSATI, L. C. **Avaliação do estado nutricional e da produtividade de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.), em função do sítio e da dioicia.** 1997. 126 f. Trabalho de conclusão de curso (Dissertação) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, Universidade Federal do Paraná – UFPR, Curitiba, 1997.
- ¹⁹ MUTINELLI, A. **Biometria foliar de la yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hill. var. *paraguariensis*).** INTA, Misiones, n. 43, p. 16, 1990.
- ²⁰ BERTÉ, K. A. dos S. **Tecnologia da erva-mate solúvel.** 2011. 160 f. Trabalho de conclusão de curso (Tese) – Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná – UFPR, Curitiba, 2011.
- ²¹ BERTÉ, K. A. dos S.; ISIDORO, D. R.; DUTRA, F. L. G.; ROSEMARY, H. R. **Desenvolvimento de gelatina funcional de erva-mate.** Ciência Rural, Santa Maria, v. 41, n. 2, p. 354-360, Fev., 2011.
- ²² GOMES, L. F. **Efeito da erva-mate (*Ilex paraguariensis*) sobre o metabolismo de ratos tratados com dieta hiperlipídica.** 2012. 74 f. Trabalho de conclusão de curso (Dissertação) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, Porto Alegre, 2012.
- ²³ CANTERLE, L. P. **Erva-mate e atividade antioxidante.** 2005. 100 f. Trabalho de conclusão de curso (Dissertação) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria – UFSM, Santa Maria, 2005.
- ²⁴ SAIDELLES, A. P. F.; KIRCHNER, A. M.; SANTOS, N. R. Z. dos; FLORES, É. M. de M.; BARTZ, F. R. **Análise de metais em amostras comerciais de erva-mate do sul do Brasil.** Alimentos e Nutrição, Araraquara, v. 21, n. 2, p. 259-265, abr./jun., 2010.
- ²⁵ HEINRICHS, R.; MALAVOLTA, E. **Composição mineral do produto comercial da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.).** Ciência Rural, Santa Maria, v. 31, n. 5, p. 781-785, 2001.

- ²⁶ DORNELES, R. C. **Produtos florestais - erva-mate**. SEAB – Informativo, Dez., 2013.
- ²⁷ GIULIAN, R. **Estudo da composição elementar da erva-mate (*Ilex paraguariensis*)**. 2005. 109 f. Trabalho de conclusão de curso (Dissertação) – Mestrado em Física, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, Porto Alegre, 2005.
- ²⁸ ESMELINDRO, M. C.; TONIAZZO, G.; WACZUK, A.; DARIVA, C.; OLIVEIRA, D. de. **Caracterização físico-química da erva-mate: influência das etapas do processamento industrial**. *Ciencia e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, SciELO, v. 22, n. 2, p. 193-204, maio/ago., 2002.
- ²⁹ MALHEIROS, G. C. **Estudo da alteração da cor e degradação da clorofila durante armazenagem de erva-mate tipo chimarrão**. 2007, 104 f. Trabalho de conclusão de curso (Dissertação) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria – UFSM, Santa Maria, 2007.
- ³⁰ NIETSCHE, K.; DOMINGOS, D. M.; GOMES, D. S. **Qualidade de erva mate cancheada e sua relação com o ambiente de cultivo**. X Semana de Estudos Florestais, Paraná, Anais da X Semana de Estudos Florestais e I Seminário de Atualização Florestal, UNICENTRO, 2010.
- ³¹ MALHEIROS, G. C.; HECKTHEUER, L. H. R.; CANTO, M. W. do; BALSAMO, G. M. **O tempo e o tipo de embalagem sobre a erva-mate tipo chimarrão durante armazenagem em condições ambientais**. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 40, n. 3, p. 654-660, mar., 2010.
- ³² MELO, I. B. de. **Mapeamento da cadeia produtiva da erva-mate no município de Machadinho: desafios e propostas**. 2010, 48 f. Trabalho de conclusão de curso (Monografia) – Gestão do Agronegócio, Universidade do Vale do Rio dos Sinos – UNISINOS, São Leopoldo, 2010.
- ³³ BRANDT, M.; SILVA, N. S. **A coleta da erva-mate pela população cabocla do vale do rio do peixe e oeste de Santa Catarina: apropriação privada da terra e**

- rupturas (décadas de 1900 a 1940).** Sociedade & Natureza, Uberlândia, SciELO, v. 26, n. 3, p. 459-469, 2014.
- ³⁴ JUNIOR, A. M. **Análise do pré-processamento da erva-mate para chimarrão.** 2005. 215 f. Trabalho de conclusão de curso (Tese) – Faculdade de Engenharia Agrícola, Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, Campinas, 2005.
- ³⁵ BENDLIN, R. de C. da S. **Secagem convectiva de erva-mate (*Ilex paraguariensis*).** 2003, 93 f. Trabalho de conclusão de curso (Dissertação) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, Florianópolis, 2003.
- ³⁶ BRASIL. Portaria nº 234, de 25 de março de 1998. **Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade para erva-mate.**
- ³⁷ BRASIL. Resolução - RDC nº 303, de 07 de novembro de 2002. **Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade do composto de erva-mate.**
- ³⁸ BRASIL. Resolução - RDC nº 360, de 23 de dezembro de 2003. **Rotulagem nutricional obrigatória de alimentos embalados.**
- ³⁹ REISSMANN, C. B.; ROCHA, H. O. da; KOEHLER, C. W.; CALDAS, R. de L. e S.; HILDEBRAND, E. E. **Bio-elementos em folhas e hastes de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hill.) sobre cambissolos na região de mandirituba.** Revista Floresta, v. 14, n. 2, p. 49-54, 1983.
- ⁴⁰ WRÓBEL, K.; WRÓBEL, K.; URBINA, E. M. C. **Determination of total aluminum, chromium, copper, iron, manganese, and nickel and their fractions leached to the infusions of black tea, green tea, *Hibiscus sabdariffa*, and *Ilex paraguariensis* (mate) by ETA-AAS.** Biological Trace Element Research, v. 78, n. 1, p. 271-280, Dez., 2000.
- ⁴¹ LOPES, F.; CUNHA, R. M. da S. e; FILHO, V. F do N.; APPOLONI, C. R. **Fluorescência de Raios X por Reflexão Total Aplicada a Análise de Elementos Químicos em Chá de Erva-Mate (*Ilex paraguariensis*).** Trabalho acadêmico, Universidade Estadual de Londrina – UEL, Londrina.

- ⁴² GIULIAN, R.; SANTOS, C. E. I. dos; SHUBEITA, S. de M.; SILVA, L. M. da; DIAS, J. F.; YONEAMA, M. L. **Elemental Characterization of Commercial Mate Tea Leaves (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hill) before and after Hot Water Infusion Using Ion Beam Techniques.** Journal of AGRICULTURAL AND FOOD CHEMISTRY, v. 55, n. 3, p. 741-746, 2007.
- ⁴³ MAIA, S. M. **Determinação de metais traço em carvão na forma de suspensão por espectrometria de massa com fonte de plasma indutivamente acoplado com introdução da amostra por vaporização eletrotérmica.** 2001. 141 f. Trabalho de conclusão de curso (Tese) – Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, Florianópolis, 2001.
- ⁴⁴ WELZ, B.; SPERLING, M. **Atomic absorption spectrometry Uhdlingen.** WILEY-VCH, Germany, 1999.
- ⁴⁵ GARCIA, R.; BÁEZ, A. P. **Atomic Absorption Spectrometry (AAS).** Centro de Ciências de la Atmósfera, Universidad Nacional Autónoma de México, 2012.
- ⁴⁶ SANTOS, E. S.; GAMA, E. M.; FRANÇA, R. S. da; SOUZA, A. S.; MATOS, R. P. **Espectrometria de fluorescência de raios-X na determinação de espécies químicas.** Enciclopédia Biosfera, Goiânia, Centro Científico Conhecer, v. 9, n. 17, p. 3413-3432, 2013.
- ⁴⁷ JOHANSSON, S. A. E.; CAMPBELL, J. L.; MALMQVIST, K. G. **Particle-Induced X-Ray Emission Spectrometry (PIXE).** John Wiley & Sons, New York, 1995.
- ⁴⁸ SANTOS, C. E. I. dos. **Estudo da influência do processo de cultivo, vinificação e envelhecimento na composição elementar do vinho utilizando a técnica PIXE.** 2011. 92 f. Trabalho de conclusão de curso (Tese) – Programa de Pós-Graduação em Física, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, Porto Alegre, 2011.
- ⁴⁹ EISBERG, R.; RESNICK, R. **Física Quântica - Átomos, Moléculas, Sólidos, Núcleos e Partículas.** Campus, Elsevier, 1979.

- ⁵⁰ KEMP, K.; JENSEN, F. P.; MOLLER, J. T.; GYRD-HANSEN, N. **Multi-element analysis of biological tissue by proton-induced X-ray emission spectroscopy.** *Physics in Medicine & Biology*, v. 20, n. 5, Denmark, 1995.
- ⁵¹ KEMP, K.; DANSCHER, G. **Multi-element analysis of the rat hippocampus by proton induced X-ray emission spectroscopy (phosphorus, sulphur, chlorine, potassium, calcium, iron, zinc, copper, lead, bromine, and rubidium).** *Histochemistry*, Springer, v. 59, n. 3, p. 167-176, 1979.
- ⁵² MANGELSON, N. F.; HILL, M. W. **Recent advances in particle-induced X-ray emission analysis applied to biological samples.** *Nuclear Instruments and Methods*, Elsevier, v. 181, p. 243-254, March, 1981.
- ⁵³ MARTINS, E.; INAMURA, K.; THEMNER, K.; MALMQVIST, K. G.; SIESJÖ, B. K. **Accumulation of calcium and loss of potassium in the hippocampus following transient cerebral ischemia: a proton microprobe study.** *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, Lund, SAGE Publications, v. 8, n. 4, p. 531-538, Aug., 1988.
- ⁵⁴ MCCORMICK, L. D. **Bound trace element content of bovine retinal disk membranes as determined by particle-induced x-ray emission.** *Biophysical Journal*, Elsevier, v. 47, n. 3, p. 381-385, March, 1985.
- ⁵⁵ JOHANSSON, S. A. E.; JOHANSSON, T. B. **Analytical application of particle induced X-ray emission. Nuclear Instruments and Methods.** *Nuclear Instruments and Methods*, Lund, Elsevier, v. 137, n. 3, p. 473-516, Sep., 1976.
- ⁵⁶ SIMÕES, F. da C.; **Estudo da Relação Sinal/Ruído na Aquisição de Dados de Sensores de Alta Impedância.** 2008. 101 f. Trabalho de conclusão de curso (TCC) – Engenharia de Controle e Automação, Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, Campinas, 2008.
- ⁵⁷ GRIFFITHS, D. J. **Introduction to Quantum Mechanics.** Upper Saddle River, New Jersey, 1994.

- ⁵⁸ TABACNIKS, M. H. **Análise de Filmes Finos por PIXE e RBS**. Trabalho acadêmico, Instituto de Física, Universidade Federal de São Paulo – USP, São Paulo 1997.
- ⁵⁹ BERTOL, A. P. L. **Determinação experimental de seção de choque de produção de raios X de Ru e Ag, induzida por feixe de íons**. 2013. 88 f. Trabalho de conclusão de curso (Dissertação) – Programa de Pós-Graduação em Física, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, Porto Alegre, 2013.
- ⁶⁰ SANTOS, C. E. I. dos. **Caracterização elementar do vinho gaúcho**. 2008. 101 f. Trabalho de conclusão de curso (Dissertação) – Programa de Pós-Graduação em Física, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, Porto Alegre, 2008.
- ⁶¹ JACKSON, J. D. **Classical Eletrodynamics**. America Library, Sydney, 1962.
- ⁶² CAMPBELL, J. L.; HOPMAN, T. L.; MAXWELL, J. A.; NEJEDLY, Z. **The Guelph PIXE software package III: Alternative proton database**. Nuclear Instruments and Methods in Physics, Guelph, Elsevier, v. 170, n. 2000, p. 193-204, Oct., 1999.
- ⁶³ CAMPBELL, J. L.; BOYD, N. I.; GRASSI, N.; BONNICK, P.; MAXWELL, J. A. **The Guelph PIXE software package IV**. Nuclear Instruments and Methods in Physics, Guelph, Elsevier, v. 268, p. 3356-3363. Aug., 2010.
- ⁶⁴ GUPIXWIN. **Manual and user-guide**. Disponível em:
<<http://pixe.physics.uoguelph.ca/home/>> Acessado em: 20/01/2017.
- ⁶⁵ SORTICA, M. de A. **Caracterização estrutural de nanocristais compostos via espalhamento de íons de alta resolução**. 2013. 86 f. Trabalho de conclusão de curso (Tese) – Programa de Pós-Graduação em Física, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, Porto Alegre, 2013.
- ⁶⁶ CHU, W.; MAYER, J. W.; NICOLET, M. **Backscattering Spectrometry**. Academic Press, Pasadena, 1978

- ⁶⁷ JANA, M. R. **Dynamics and kinetics of ion impact dissociation of molecules**. 2013. Trabalho de Conclusão de Curso (Thesis). Department of Physics – University of Calcutta, Kolkata, 2013.
- ⁶⁸ ORIGINLAB. Disponível em: <<http://www.originlab.com/>> Acessado em: 04/07/2017.
- ⁶⁹ MAYER, M. **SIMNRA User's Guide**. Max-planck-institut für plasmaphysik, München, 1997.
- ⁷⁰ CALLEGARI-JACQUES, S. M. **Bioestatística: princípios e aplicações**. Artmed, Porto Alegre, 2003.
- ⁷¹ IBM ANALYTICS. **SPSS**. Disponível em: <<https://www.ibm.com/analytics/us/en/technology/spss/>> Acessado em: 24/03/2017.
- ⁷² MINGOTI, S. A. **Análise de dados através de métodos de estatística multivariada: uma abordagem aplicada**. UFMG, Belo Horizonte, 2007.
- ⁷³ MANLY, B. J. F. **Métodos estatísticos multivariados: uma introdução**. Artmed, Laramie, 2008.
- ⁷⁴ PALAEONTOLOGIA ELECTRONICA. **Past Software**. Disponível em: <http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm > Acessado em: 25/06/2017.
- ⁷⁵ CARNEIRO, C.; REISSMANN, C. B.; MARQUES, R. **Comparação de métodos de análise química de K, Ca, Mg e Al em folhas de erva-mate (Ilex paraguariensis St. Hil.)**. Cerne, Lavras, v. 12, n. 2, p. 113-122, Mar., 2006.
- ⁷⁶ REISSMANN, C. B.; CARNEIRO, C. **Crescimento e composição química de erva-mate (Ilex paraguariensis st. hill.), transcorridos oito anos de calagem**. Floresta, Curitiba, v. 34, n. 3, p. 381-386, Set./Dez., 2014.
- ⁷⁷ SANTIN, D.; BENEDETTI, E. L.; BASTOS, M. C.; KASEKER, J. F.; REISSMANN, C. B.; BRONDANI, G. E.; BARROS, N. F. de. **Crescimento e**

- nutrição de erva-mate influenciados pela adubação nitrogenada, fosfatada e potássica.** Ciência Florestal, Santa Maria, v. 23, n. 2, p. 363-375, Abr./Jun., 2013.
- ⁷⁸ JACQUES, R. A. **Caracterização química da erva-mate (ilex paraguariensis): aplicação de diferentes processos de extração e influência das condições de plantio sobre a composição química.** 2005. 158 f. Trabalho de conclusão de curso (Tese) – Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS, Porto Alegre, 2005.
- ⁷⁹ CAMPOSTRINI, E. **Fluorescência da clorofila a: considerações teóricas e aplicações práticas.** Trabalho Acadêmico, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, Universidade Estadual do Norte Fluminense, Rio de Janeiro.
- ⁸⁰ FALQUETO, A. R.; CASSOL, D.; JÚNIOR, A. M. de M.; OLIVEIRA, A. C. de; BACARIN, M. A. **Características da fluorescência da clorofila em cultivares de arroz com ciclo precoce, médio e tardio.** Revista Brasileira de Biociências, Porto Alegre, v. 5, n. 2, p. 579-581, 2007.