



FURG

Dissertação de Mestrado

**Influência do sistema de cultivo no teor de micro e
macronutrientes minerais em amostras de Erva-mate (*Ilex
Paraguariensis*) por Espectrometria Atômica**

Monize Morgado Neves

PPGQTA

Rio Grande, RS - Brasil

2018

Influência do sistema de cultivo no teor de micro e macronutrientes minerais em amostras de Erva-mate (*Ilex Paraguariensis*) por Espectrometria Atômica

por

Monize Morgado Neves

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química Tecnológica e Ambiental da Universidade Federal do Rio Grande (RS), como requisito parcial para obtenção do título de MESTRE EM QUÍMICA, área de concentração: Química Analítica.

Rio Grande, RS – Brasil

2018

Universidade Federal do Rio Grande - FURG
Escola de Química e Alimentos
Programa de Pós-Graduação em Química Tecnológica e Ambiental

A comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação de Mestrado

**INFLUÊNCIA DO SISTEMA DE CULTIVO NO TEOR DE MICRO E
MACRONUTRIENTES MINERAIS EM AMOSTRAS DE ERVA-
MATE (*ILEX PARAGUARIENSIS*) POR ESPECTROMETRIA
ATÔMICA**

Elaborado por

Monize Morgado Neves

Como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Química Tecnológica e
Ambiental

Comissão Examinadora



Rodolfo Carapelli
(Presidente-Orientador)



Eliana Badiale Furlong - FURG



Márcia Foster Mesko - UFPel

Rio Grande, 17 de dezembro de 2018.

“Cada pessoa deve trabalhar para o seu aperfeiçoamento e, ao mesmo tempo, participar da responsabilidade coletiva por toda a humanidade”

Marie Curie

AGRADECIMENTOS

Em nossa caminhada, para alcançarmos nossos objetivos, sempre precisamos do apoio de outras pessoas. Por isso, agradeço imensamente pela ajuda na construção desta dissertação:

À Universidade Federal do Rio Grande (FURG), por me proporcionar um ensino de qualidade desde a graduação e a oportunidade de continuar a minha formação acadêmica.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química Tecnológica e Ambiental da FURG, pela qualificação proporcionada através deste trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro fornecido para o desenvolvimento desta pesquisa.

Ao meu orientador Prof. Dr. Rodolfo Carapelli, pela disponibilidade de orientação e dedicação durante o tempo de mestrado. Obrigada pelo exemplo de parceria científica!

À todos os docentes da FURG, que trabalham diariamente para nos ensinar a pensar, a formar conhecimento, compartilhando sua prática docente e contribuindo com a minha formação acadêmica.

A todos os amigos e colegas do LEEA, Ana Luíza Constantino, João Espinelli Jr., Michele Moraes, Awdrei Machado, Daniele Zarnott, Renan Branco, Guilherme Montzel, Bruna Furci, Cristiane Oliveira, Lainide Oliveira, Juliana Maciel, Mônica Heinneman, Milena Pacheco, Paloma Konzgen, Ana Munaretto, Sabrine Aquino pela troca diária de aprendizado, amizade e companheirismo.

Por último, mas não menos importante, ao meu esposo Maurício e à minha família, em especial a minha mãe Angela e minha vó Eli, pelo apoio, incentivo e confiança durante esses anos. Meu sucesso é pensando em vocês sempre, obrigada por sempre estarem presentes.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	8
LISTA DE TABELAS	9
LISTA DE APÊNDICES	10
LISTA DE SÍMBOLOS	11
RESUMO	13
ABSTRACT	14
1. INTRODUÇÃO	15
2. OBJETIVOS	18
2.1. Objetivo Geral.....	18
2.2. Objetivos Específicos	18
3. REVISÃO DA LITERATURA	19
3.1 Absorção e Transporte vegetal.....	19
3.2 Nutrição mineral das plantas.....	20
3.3 Cultura de alimentos	24
3.4 Erva-mate.....	28
3.4.1 Informações botânicas e de produção	28
3.4.2 Importância cultural, econômica e social	28
3.4.3 Processo de produção	30
3.4.4 Composição, propriedades químicas e princípios ativos	31
3.5 Determinação de nutrientes minerais por métodos espectrométricos.....	32
3.5.1 Determinação da concentração total dos analitos	32
3.5.2 Minerais presentes no extrato aquoso da amostra.....	33
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	38
4.1 Instrumentação.....	38
4.2 Reagentes	38
4.3 Vidrarias.....	39

4.4 Amostragem.....	39
4.5 Pré-tratamento da amostra	40
4.6 Procedimentos.....	41
4.6.1 Digestão úmida – Determinação do teor de metais totais	41
4.6.2 Perfil mineral no extrato aquoso	41
4.6.3 Determinação espectrométrica dos elementos	42
4.7 Desempenho analítico.....	42
4.7.1 Precisão	42
4.7.2 Exatidão.....	44
4.7.3 Linearidade.....	44
4.7.4 Limites de Detecção e Quantificação.....	45
4.7.5 Tratamento dos dados.....	45
6. RESULTADOS	47
6.1. Desempenho Analítico.....	47
6.1.1 Linearidade, Limite de Detecção e Limite de Quantificação.....	47
6.1.2 Exatidão.....	47
6.1.3 Precisão	51
6.2 Acumulação e metabolização dos minerais nas amostras.....	53
6.2.1 Teor de metais totais nas amostras.....	53
6.2.2 Metais solúveis na fração aquosa e as porcentagens de disponibilidade desses nos dois métodos de extração testados	63
6.2.3 Fração solúvel	70
7 CONCLUSÕES	74
REFERÊNCIAS	76
APÊNDICE 1	89
APÊNDICE 2	91
APÊNDICE 3	93

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Diagrama das etapas de produção dos diversos produtos obtidos a partir da erva-mate.

Figura 2: PC1 x PC2 gráficos de (a) scores e (b) loadings de amostras de erva-mate diferenciadas entre ramos (círculo) e folhas (quadrados) e cultivo orgânico (vazados) e convencional (preenchidos).

Figura 3: PC1 x PC3 gráficos de (a) scores e (b) loadings de amostras de erva-mate diferenciadas entre ramos (círculo) e folhas (quadrados) e cultivo orgânico (vazados) e convencional (preenchidos).

Figura 4: PC1 x PC2 gráficos de (a) scores e (b) loadings de amostras das folhas de erva-mate diferenciadas entre cultivo orgânico (quadrados vazados) e convencional (quadrados preenchidos).

Figura 5: PC1 x PC2 gráficos de (a) scores e (b) loadings de amostras de ramos de erva-mate diferenciadas entre cultivo orgânico (círculos vazados) e convencional (círculos preenchidos).

Figura 6: PC1 x PC2 gráficos de (a) scores e (b) loadings de amostras de folhas de erva-mate diferenciadas entre procedimentos de extração e cultivo. Infusões convencionais (quadrados preenchidos), decocções convencionais (quadrados quadriculados), infusões orgânicas (quadrados vazados) e decocções orgânicas (quadrados listrados).

Figura 7: PC1 x PC2 gráficos de (a) scores e (b) loadings de amostras de folhas de erva-mate diferenciadas entre procedimentos de extração e cultivo. Infusões convencionais (círculos preenchidos), decocções convencionais (círculos quadriculados), infusões orgânicas (círculos vazados) e decocções orgânicas (círculos listrados).

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Revisão das características fundamentais acerca do sistema convencional e orgânico de alimentos

Tabela 2: Descrição das amostras adquiridas a serem analisadas

Tabela 3: Condições instrumentais para determinação dos analitos

Tabela 4: Parâmetros de mérito para os elementos determinados por FAAS e FAES, para os metais totais

Tabela 5: Valores obtidos e certificados para Ca, Fe, K, Mn, Mg e Zn nos CRM NIST 1547 - *Peach leaves* (Valores expressos em média (mg kg^{-1}) \pm desvio padrão, exceto Ca, K e Mg em média (%) \pm desvio padrão, $n=2$) com os respectivos níveis de concordância em %

Tabela 6: Recuperações observadas (%) no teste de adição e recuperação para os metais totais nas amostras EMC4F (A) e EMC6R (B) ($n=4$)

Tabela 7: Recuperações observadas (%) no teste de adição e recuperação para os metais solúveis, na infusão e decocção.

Tabela 8: Concentração, desvio padrão e RSD dos elementos totais Fe, Zn, Mn, K, Mg e Ca obtidos para a mesma amostra processada em dias diferentes ($n=3$).

Tabela 9: Resultados das médias de pH nos extratos de erva-mate

Tabela 10: Resultados das médias da fração solúvel calculada para os extratos de erva-mate nas folhas

Tabela 11: Resultados das médias da fração solúvel calculada para os extratos de erva-mate nos ramos

Tabela 12: Concentração dos metais totais analisados em mg.kg^{-1} presentes nas folhas convencionais e orgânicas de amostras de erva-mate comercial

Tabela 13: Concentração dos metais totais analisados em mg.kg^{-1} nos ramos convencionais e orgânicos de amostras de erva-mate comercial

Tabela 14: Concentração dos metais analisados na decocção e infusão nas folhas em mg.L^{-1} de amostras de erva-mate comercial

Tabela 15: Concentração dos metais analisados na decocção e infusão nos ramos em mg.L^{-1} de amostras de erva-mate comercial

LISTA DE APÊNDICES

Apêndice 1: Relação das concentrações utilizadas dos analitos nos ensaios de exatidão dos métodos propostos	88
Apêndice 2: Concentração dos metais totais em mg.kg^{-1} nas folhas e nos ramos convencionais e orgânicos	90
Apêndice 3: Concentração dos metais na decocção e infusão nas folhas e nos ramos convencionais e orgânicos em mg.L^{-1}	92

LISTA DE SÍMBOLOS

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

Cfa – Clima subtropical, com verão quente

Cfb – Clima temperado, com verão ameno

CRM - Material de Referência Certificado

DCNT's - Doenças Crônicas Não Transmissíveis

EMC – Erva-mate Convencional

EMO – Erva-mate Orgânica

EQA - Escola de Química e Alimentos

FAAS - Espectrometria de Absorção Atômica por Chama

FAES - Espectrometria de Emissão Atômica por Chama

FS – Fração Solúvel

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

ICH - *International Conference on Harmonization*

INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia

INYM – Instituto Nacional do Mate

LD – Limite de Detecção

LQ – Limite de Quantificação

MAG – Ministério da Agricultura e Pecuária

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

PCA - Análises de Componentes Principais

pH – Potencial hidrogeniônico

PN 1- Padrão Nacional 1

PN 2 – Padrão Nacional 2

RSD – Desvio Padrão Relativo

RESUMO

Título: Influência do tipo de cultivo no teor de micro e macronutrientes minerais em amostras de Erva-mate (*Ilex Paraguariensis*) por Espectrometria Atômica

Autora: Monize Morgado Neves

Orientador: Prof. Dr. Rodolfo Carapelli

Este trabalho apresenta o estudo acerca da determinação analítica de micronutrientes minerais (Fe, Zn e Mn) e macronutrientes minerais (K, Mg e Ca) por espectrometria atômica por chama. Foram determinadas as concentrações dos elementos em diferentes partes (folhas e ramos) de amostras comerciais de erva-mate *Ilex Paraguariensis*, a fim de se estudar a absorção e metabolização dos minerais na matriz vegetal. Além disso, foi avaliada a relação desses elementos com o sistema de cultivo convencional e o orgânico, com o intuito de verificar a influência na concentração de micro e macronutrientes minerais em amostras de ervas-mate provenientes desses sistemas de manejo do solo. A determinação dos minerais totais se deu por meio de decomposição ácida em bloco digestor para amostras orgânicas e convencionais. Para a determinação dos minerais extraíveis nas amostras orgânicas e convencionais, foram aplicados os procedimentos de extração aquosa por decocção e infusão. Os resultados encontrados foram expressos através da Análise de Componentes Principais (PCA), nas quais mostraram que o perfil de absorção não é o mesmo que o de metabolização, uma vez que embora se tenha determinado uma diferença nos teores totais entre os dois sistemas de manejo, o elemento K caracterizou em todas as análises os produtos convencionais, enquanto que o Fe e Mn caracterizaram as amostras orgânicas, em todas as frações solúveis. Entretanto, os produtos convencionais demonstraram maiores concentrações da maioria dos minerais disponíveis para o consumo, provavelmente devido a diferenças na metabolização dos elementos minerais decorrentes da influência do sistema de cultivo.

Palavras chave: Sistema convencional, Sistema Orgânico, Erva-mate, metais totais e metais solúveis.

ABSTRACT

Title: Influence of the type cultivation in the content of micro and macronutrients minerals in samples yerba mate by Spectrometric Atomic

Author: Monize Morgado Neves

Advisor: Prof. Dr. Rodolfo Carapelli

This work presents the study on the analytical determination of mineral micronutrients (Fe, Zn and Mn) and mineral macronutrients (K, Mg and Ca) by flame atomic spectrometry. The concentrations of the elements in different parts (leaves and branches) of commercial *Ilex Paraguariensis* yerba mate samples were determined in order to study the absorption and metabolization of minerals in the plant matrix. In addition, it was evaluated the relationship of these elements with the conventional and organic cultivation system, in order to verify the influence on the concentration of micro and macronutrients minerals in samples of mate grass from these systems of soil management. The determination of the total minerals occurred by means of acidic digestion block decomposition for organic and conventional samples. For the determination of the extractable minerals in the organic and conventional samples, the procedures of aqueous extraction by decoction and infusion were applied. The results were expressed through Principal Component Analysis (PCA), in which they showed that the absorption profile is not the same as that of metabolization, since although a difference in total contents between the two management systems was determined, the element K characterized in all the analyzes the conventional products, whereas the Fe and Mn characterized the organic samples, in all the soluble fractions. However, conventional products showed higher concentrations of most minerals available for consumption, probably due to differences in the metabolism of the mineral elements due to the influence of the cultivation system.

Keywords: system conventional, system organic, yerba mate, metals total and metals soluble.

1. INTRODUÇÃO

De acordo com a Resolução nº 277 (BRASIL, 2005), a erva-mate é definida como sendo o produto constituído exclusivamente pelas folhas e ramos de *Ilex paraguariensis* St. Hil., obtido por processo de secagem e fragmentação, destinado ao preparo de "chimarrão" ou "tererê", podendo ser adicionado açúcar. É um produto oriundo de matéria-prima vegetal, tendo em sua composição nutrientes minerais, ou seja, íons inorgânicos absorvidos do solo, que são absorvidos e translocados para diversas partes das plantas, participando do seu ciclo evolutivo (TAIZ; ZEIGER, 2004).

Os nutrientes que são essenciais podem ser classificados da seguinte forma: A) baseados na proporção de matéria seca acumulada nas plantas, nas quais são oriundos de três categorias: elementos não minerais (C, H e O), obtidos primariamente da água ou da atmosfera; elementos minerais, subdivididos em micronutrientes e macronutrientes, que se diferenciam apenas pela concentração necessária para a planta (TAIZ; ZEIGER, 2004). B) baseados em razão do papel bioquímico desempenhado, nesse viés Evans e Sorger (1966) e Mengel e Kirkby (1987), acham pertinente subdividir os nutrientes em quatro grupos, sendo o grupo 1 composto de elementos orgânicos de Nitrogênio (N) e Enxofre (S), assimilados por reações bioquímicas redox; o grupo 2 (Fósforo (P), Silício (Si) e Boro (B)) composto por elementos armazenadores de energia e responsáveis pela manutenção estrutural, comumente na forma de fosfato, borato e ésteres silicato ligados a hidroxilas de moléculas orgânicas; o grupo 3 (Potássio (K), Cálcio (Ca), Magnésio (Mg), Manganês (Mn), Sódio (Na) e Cloro (Cl)) que são nutrientes na forma iônica e desempenham papéis importantes como cofatores enzimáticos e na regulação osmótica; por fim o grupo 4 (Ferro (Fe), Zinco (Zn), Cobre (Cu), Níquel (Ni) e Molibdênio (Mo)) que são responsáveis pelo transporte de elétrons, por meio de reações redox.

A agricultura por sua vez depende da capacidade natural do solo de disponibilizar esses nutrientes às plantações (SANTIN, 2013). Cada tipo de produção tem suas características e necessidades próprias, fazendo com que as concentrações dos nutrientes em suas plantas variem muito, principalmente em função das condições do solo de plantio, da relação físico-química ali existente e da taxa de equilíbrio entre a exportação mineral necessitada e a reposição desses elementos ao solo. Muitas vezes a prática agrícola necessita de meios externos de adubação, para suprir a necessidade

mínima para a planta. A erva-mate, por exemplo, é uma cultura que necessita da reposição nutricional para manter a produtividade (GAIAD; LOPES, 1986), devido ao fato de que tem as folhas como parte do produto final, ou seja, é uma grande exportadora de nutrientes (FOSSATI, 1997). Assim, mesmo podendo ser produzida em solos de baixa fertilidade (CARVALHO, 2003), carece de adubação externa. No ano de 2004, a Comissão de Química e Fertilidade do Solo, lançou o plano de recomendação de adubação e calagem para essa cultura, nos Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina (CQFSRS/SC, 2004).

Quanto aos sistemas de manejo agrícolas atuais cabe destacar duas vertentes importantes, o sistema de manejo denominado convencional e o sistema orgânico. O sistema convencional caracteriza-se principalmente pela utilização de insumos químicos na plantação. O sistema orgânico, por outro lado, substituem fertilizantes químicos e agrotóxicos por adubação orgânica e manejo diferenciado, surgindo como uma alternativa de manejo sustentável. Assim, no sistema orgânico, além da nutrição da planta, são buscadas também a melhoria da fertilidade do solo e do sistema como um todo (DAROLT, 2018).

Nesse sentido, pesquisas vem sendo desenvolvidas ao longo dos anos, com relação ao estudo do teor de minerais em amostras provenientes de cultivo convencional e orgânico. Smith (1993), ao analisar maçãs e peras de ambos os sistemas de cultivo, comprovou que essas duas frutas apresentaram maiores teores de Ca, Mg, Fe, K, P, Zn, Na e Se quando produzidas em sistema orgânico. Igualmente, Stertz (2004), citado por Darolt (2009) apresentou uma comparação da composição nutricional de diferentes tipos de alimentos em cultivos convencionais e orgânicos, na qual elementos como Mg, Ca, K, Cu, Zn e Fe apresentaram concentrações maiores quando adubação orgânica foi empregada, enquanto elementos como Mn e Se apresentaram decréscimo na fonte orgânica. Lairon (2009) também reforça essa ideia e concluiu que as plantas orgânicas, de modo geral, possuem maiores teores de minerais, como Fe e Mg. Contudo, ainda não há ainda um consenso quanto a qualidade nutricional dos alimentos obtidos pelos diferentes tipos de cultivo, pois como relata Darolt (2009), a diversidade do agroecossistema é multifatorial, uma vez que condições de solo, clima e variabilidade genética promovem diferenças na composição. Alguns pesquisadores vêm relatando essa problemática na literatura, a partir do estudo da diferença composicional de alimentos frente ao sistema de cultivo empregado. Mais recentemente, Nascimento et al. (2013), estudando amostras de pepino e abobrinha, encontraram diferenças

estatísticas nos teores de Fe e Cu em diferentes frações ligadas a matriz, quando determinados por método de extração sequencial, onde o sistema convencional apresentou as maiores concentrações desses elementos em todas essas frações.

Para o presente estudo, foi considerado que a erva-mate é consumida como extrato aquoso e por isso é de fundamental importância determinar além dos níveis de metais totais (que possibilitam o conhecimento de como está se dando o processo de absorção mineral pela planta) a disponibilidade desses metais solúveis nessa fração (avaliando, dessa forma, como esses metais estariam ligados à matriz vegetal).

Frente ao contexto exposto acima, é de suma importância o estudo da relação existente entre a influência do manejo agrícola e as concentrações totais e extraíveis dos nutrientes para a erva-mate, produto de grande consumo diário não só no estado do Rio Grande do Sul, como em outros estados do Brasil e até em outros países da América Latina.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

O presente trabalho tem como objetivo avaliar a influência dos sistemas de manejo (convencional e orgânico), nas folhas e ramos de amostras de erva-mate comercial, por meio da análise dos teores totais e extratibilidade dos macronutriente (Ca, K e Mg) e micronutrientes (Fe, Mn e Zn) nessa matriz.

2.2. Objetivos Específicos

- Determinar as concentrações dos metais Ca, Fe, K, Mg, Mn, e Zn nas amostras estudadas;
- Comparar estatisticamente o efeito do manejo nos níveis de nutrientes metálicos nas folhas e ramos de erva-mate;
- Determinar as concentrações dos metais Ca, Fe, K, Mg, Mn, e Zn em extratos aquosos das amostras estudadas;
- Verificar o efeito do manejo da cultura na extratibilidade em meio aquoso de nutrientes metálicos em diferentes partes das plantas;
- Compreender para a compreensão do efeito que o manejo agrícola exerce tanto na absorção dos nutrientes pela planta quanto na sua metabolização.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Absorção e Transporte vegetal

As plantas são compostas de diferentes partes, sendo subdivididas entre parte aérea (ramos, folhas, frutos, sementes) e não aérea (raízes). O sistema que compõe cada parte da planta possui tecidos que diferem em sua estrutura, havendo uma diferença na maneira como absorvem, transportam e redistribuem os nutrientes. Nesse sentido, cada um deles possui mecanismos específicos e organizados, na qual primeiramente há a aquisição dos nutrientes (através do solo ou de soluções nutritivas), posterior movimentação desses, por meio do contato com as raízes ou folhas e liberação no xilema, seguindo para a distribuição nos órgãos e enfim a utilização desses nutrientes acumulados no metabolismo e crescimento da planta (MARSCHNER, 1986).

Em relação aos nutrientes minerais, após a absorção pelo contato solo-raiz, ocorre o transporte, que é definido como sendo o movimento do nutriente do local de absorção para outro local qualquer da planta (PRADO, 2008). A forma como o elemento é transportado na planta está intimamente ligada com a sua mobilidade e capacidade de translocação. Dentre os principais fatores que influenciam essa mobilidade, Malavolta (2006) propõe que: “1) a permanência na forma iônica e menor incorporação em moléculas grandes, favorece a mobilidade; 2) a formação de quelatos evita a precipitação nos vasos por OH^- , HCO_3^- ou $\text{H}_2\text{PO}_4^{-3}$, pois a carga negativa predominante do quelato dificulta a fixação do cátion na parede celular dos vasos e facilita a absorção; 3) a adsorção ou incorporação maior ou menor na cutícula (caso do Zn) ou parede celular (caso do B), dificulta o movimento, o que reduz sua translocação”.

A maioria dos elementos minerais são transportados no xilema para a parte aérea na forma inorgânica. Alguns micronutrientes como Fe, Zn, Mn, Cu, Ni, B, Mo e Cl têm suas concentrações afetadas por ácidos orgânicos presentes na estrutura vegetal e pelas condições de pH e potencial redox do meio. O Fe, por exemplo, só pode ser transportado quando complexado à ácidos orgânicos (ligado principalmente ao ácido cítrico), o Zn, Mn, Ca e Mg também ligam-se aos ácidos cítrico e málico (KERBAUY, 2004). Uma das classificações mais recentes em relação à mobilidade é conceituada por Epstein e Bloom (2006), listando como móveis os elementos K, N, Mg, P, S, Cl, B (o B

é móvel em algumas plantas, como, por exemplo, amendoim, trevo e noqueiras), intermediários Fe, Mn, Zn, Cu, Mo e imóveis Ca, Si, B.

Frente a isso, os nutrientes possuem relação direta entre a concentração e sua mobilidade, sendo que os elementos móveis tendem a ser redistribuídos nos órgãos da planta e os pouco móveis ou os imóveis permanecem no órgão em que se acumulam, não participando da redistribuição para as diferentes partes da planta (PRADO, 2008). De um modo geral, os nutrientes tendem a se acumular em órgão com maiores taxas de transpiração (folhas maduras) em detrimento a outros órgãos (brotações, frutos) (TAIZ; ZEIGUER, 2004), e segundo EPSTEIN e BLOOM (2004), elementos de alta mobilidade, como o N, P, K, Mg, tendem a se distribuir em teores semelhantes nos diversos compartimentos da planta. No outro extremo, a mobilidade restrita é gerada devido ao nutriente fazer parte de estruturas celulares, como paredes e membranas (PRADO, 2008).

3.2 Nutrição mineral das plantas

O estado nutricional e o desenvolvimento da planta condizem com os compostos minerais presentes no solo, oriundos principalmente de intemperismo das rochas (SUTCLIFFE; BAKER, 1989), sendo que os elementos nitrogênio, potássio e fósforo destacam-se como sendo os mais importantes, pelo fato de desempenharem as principais funções fisiológicas dos tecidos vegetais.

De acordo com Sutcliffe e Baker (1989), o conteúdo salino de uma planta é estabelecido pelos fatores ambientais ao qual está inserida, o que influi diretamente no seu crescimento, uma vez que sua salinidade aumenta na fase de rápido crescimento vegetativo e declina na fase de menor absorção. Ainda assim, as diferentes partes da planta podem ter variados conteúdos de sais minerais, visto que a dinâmica da relação planta-solo-atmosfera é de natureza complexa.

Segundo Barker e Pilbeam (2007) e Mesjaesz-Przubulowics e Przybylowicz (2002), são reconhecidos elementos essenciais para o desenvolvimento das plantas, classificados em macronutrientes (C, N, O, H, P, K, Ca, Mg e S) e micronutrientes (Cu, Zn, Fe, Mn, B, Cl, Mo e Ni), os quais apresentam diferentes mobilidades no solo, afetando sua disponibilidade para as plantas.

O K ocorre majoritariamente em compostos inorgânicos, encontrado nas rochas minerais e está presente em pequena parcela na forma trocável do solo, adsorvido às moléculas orgânicas do húmus, sendo liberado então pela troca catiônica do meio.

Assim, esse elemento apresenta dificuldade em deslocar cargas de H^+ e Al^{+3} em pH ácido, o que conseqüentemente compromete sua disponibilidade, uma vez que os sítios ativos da troca catiônica competirão com os íons de hidrogênio do solo ácido. Na planta, o K é o segundo nutriente mais exigido, sendo absorvido pelas raízes na forma catiônica (K^+), não participando da formação de compostos orgânicos, possuindo então uma alta mobilidade em todos os níveis dos tecidos vegetais. O K é importante na manutenção da atividade hídrica e está diretamente ligado ao processo de fotossíntese (SUTCLIFFE; BAKER, 1989). Esse elemento é importante por participar da ativação de mais de 50 enzimas, como por exemplo, as ATP-ases e na regulação osmótica, contudo, devido ao K ter baixíssima afinidade por proteínas, necessita-se de uma alta concentração para manter os complexos de proteína-potássio, essenciais para uma ótima atividade enzimática, como é o caso das piruvato quinases. Na sua falta, o crescimento da planta é afetado e há diminuição na produção de amido, acúmulo de carboidratos e compostos nitrogenados solúveis (aminoácidos, amidas e nitrato), bem como redução na síntese da redutase do nitrato (KERBAUY, 2004).

O Ca é considerado um macronutriente secundário e no solo é oriundo de rochas ígneas, que em solos ácidos das regiões úmidas é perdido por lixiviação (PRADO, 2008). Assim como o K, o Ca está associado em sua maior parte à fração trocável do solo, como partículas de argila ou componentes da matéria orgânica. Apenas o Ca presente na fração trocável é absorvido pela planta exclusivamente na forma de cátion bivalente (Ca^{+2}), sendo que, por ser maior que o Mg, porém com menor raio de hidratação, possui uma vantagem na absorção e na demanda seletiva pela planta (FAQUIN, 2005). A sua disponibilidade está diretamente ligada ao pH da solução do solo da cultura. Uma alta proporção de Ca encontra-se nas paredes celulares de folhas, predominantemente na forma de oxalato de Ca^{+2} (FAQUIN, 2005). Em concentrações elevadas pode ocasionar a diminuição do crescimento das plantas, podendo isto estar relacionado a inibição da assimilação de Zn, Mn e Fe (SANTIN, 2013). O Ca participa de diversos processos, a enzima amilase, por exemplo, é ativada especificamente na presença desse elemento, na forma de pectato de cálcio, que é um componente essencial na síntese das paredes celulares (SUTCLIFFE; BAKER, 1989), bem como é requerido para o funcionamento das membranas vegetais, além de ter a função de mensageiro secundário, uma vez que o cálcio complexado a proteína calmodulina regula alguns processos metabólicos (SANDERS et al., 1999) e aciona processos de defesa da planta (KERBAUY, 2004). A deficiência desse elemento resulta na morte de regiões do caule

e da raiz, assim como a má formação das folhas jovens, enquanto que na sua ausência total as raízes da planta não crescem bem, processo que é intensificado na presença de Mg (SUTCLIFFE; BAKER, 1989).

O Mg, assim como Ca, tem sua origem nas rochas ígneas. Esse elemento encontra-se disponível para troca catiônica nos sítios ativos das argilas do solo e componentes da matéria orgânica. Assim, é absorvido pela planta principalmente na forma de cátion (Mg^{+2}) (SUTCLIFFE; BAKER, 1989). Por ser o Mg^{2+} um pequeno íon, porém com grande raio de hidratação, sua absorção pode ser fortemente reduzida por K^+ , NH_4^+ , Ca^{2+} e Mn^{+2} e H^+ em baixo pH (KERBAUY, 2004). O Mg é constituinte essencial da molécula de clorofila (nas folhas essa molécula representa 20% do total de Mg), bem como está associado a diversas proteínas vegetais, atuando na estabilidade da conformação de proteínas e enzimas devido a sua capacidade de interagir fortemente com grupos de moléculas complexas, formando uma ponte iônica e estabelecendo uma geometria precisa entre as moléculas (KERBAUY, 2004), como, por exemplo, entre ADP e a enzima ATPase, além das enzimas glutationa-sintase, participando no ganho de energia para processos como a fotossíntese e síntese de macromoléculas como DNA e RNA (TAIZ; ZEIGUER, 2004). Sua deficiência causa a redução do crescimento da planta (SUTCLIFFE; BAKER, 1989), a taxa de fotossíntese diminui e os carboidratos se acumulam, pois o seu transporte para os órgãos de reserva fica prejudicado, assim como a proporção de N-protéico diminui, aumentando as frações de N-orgânico solúveis (aminoácidos livres), devido à sua função na síntese de proteínas (KERBAUY, 2004).

O metal Fe está presente no solo em quantidades apreciáveis, na forma de óxidos hidratados, como limonita ($Fe_2O_3 \cdot 3H_2O$) e como sulfetos insolúveis, que são liberados lentamente na forma de íons solúveis (SUTCLIFFE; BAKER, 1989). O ferro pode chegar às raízes das plantas como Fe^{2+} , Fe^{3+} e como quelato, mas a planta só o absorve como Fe^{+2} . Algumas plantas excretam substâncias que acabam por baixar o pH da solução, possibilitando a redução do Fe^{+3} à Fe^{+2} , que posteriormente dentro da planta é complexado com ácidos orgânicos, principalmente o ácido cítrico, formando citrato-Fe, comumente encontrado no xilema (KERBAUY, 2004). Concentrações elevadas de outros cátions na solução diminuem a absorção de ferro, como por exemplo, o aumento da disponibilidade do Mn em solos ácidos (FAQUIN, 2005). O ferro celular em sua maioria (até 80%) se encontra localizado nos cloroplastos, o que é coerente com sua função principal no processo de fotossíntese, que por meio da Ferredoxina participa

como um transferidor de elétrons. Participa de diversas maneiras no ciclo evolutivo da planta, sendo componente de uma série de enzimas, a maioria das quais participam de reações de oxi-redução no metabolismo, em que há mudança reversível de valência, assim como no processo de respiração mitocondrial, síntese de hormônios e na produção e eliminação de espécies reativas de oxigênio (HÄNSCHA; MENDEL, 2009). Tem também papel na síntese da clorofila, onde forma um composto ferro-proteína intermediário, que não ocorre naturalmente na molécula de clorofila, bem como participa, junto com a proteína ferredoxina do transporte de elétrons na fosforilação fotossintética e na assimilação de nitrogênio por meio da heme proteína hemoglobina. Sua deficiência causa o amarelamento das folhas devido a menor síntese da clorofila, deixando apenas as nervuras das folhas verdes por mais tempo. Folhas mais jovens são mais afetadas, devido ao fato de o Fe não se mover prontamente das folhas mais velhas (SUTCLIFFE; BAKER, 1989; TAIZ; ZIGUER, 2004).

O Zn está presente no solo na forma de mineral esfarelita e sulfeto de zinco (ZnS), encontrado nas rochas ígneas. Estima-se que 30–60% do Zn adsorvido nas partículas de argila do solo esteja preso a minerais de Fe e essa retenção aumenta com a elevação do pH, reduzindo a sua disponibilidade às plantas. Contudo, esses minerais são facilmente decompostos, liberando Zn^{+2} , sendo que, parte permanece adsorvido nas partículas de argila, mas a maioria (cerca de 60%) passa para a forma de complexos orgânicos solúveis (SUTCLIFFE; BAKER, 1989). Esse elemento é muito importante para a composição de enzimas da planta, uma vez que auxilia na síntese proteica, estima-se que mais de 1.200 proteínas contém, se ligam ou transportam Zn^{+2} . Além disso, participa da produção de energia e manutenção da integridade estrutural das membranas. Em relação ao desenvolvimento de sementes, a deficiência de zinco retarda a maturidade da planta (HÄNSCHA; MENDEL, 2009). Além disso, sua deficiência faz com que suas folhas não se expandam e seus caules não se alonguem, devido a um distúrbio no metabolismo de auxinas, uma vez que plantas deficientes em Zn tem baixo nível do ácido indolil-3-acético que é utilizado na síntese do triptofano (precursor de auxinas) (SUTCLIFFE; BAKER, 1989), assim como provoca a redução da síntese proteica e acúmulo de aminoácidos e amidas (FAQUIN, 2005).

O Mn no solo é o segundo micronutriente mais abundante na crosta terrestre (perdendo apenas para o Fe). Ocorre em três valências: Mn^{2+} , Mn^{3+} ($Mn_2O_3.nH_2O$) e Mn^{4+} ($MnO_2.nH_2O$), que ficam em equilíbrio por reações de oxidação-redução. A principal forma extraída do solo e que é absorvida pela planta é na sua forma divalente

(+2), sendo transportado para o corpo vegetativo, uma vez que nos estados de oxidação +3 e +4 não é biodisponível para a planta (PITTMAN, 2005). O Mn^{2+} encontra-se adsorvido aos coloides, solúvel na solução do solo na forma iônica (pequena concentração) ou na forma de quelato, sendo que, análises da solução do solo têm demonstrado que mais de 90% do Mn está complexado a compostos orgânicos (FAQUIN, 2005). O Mn na planta é considerado um micronutriente importante, pois desempenha funções essenciais como participação na síntese da Adenosina Trifosfato (ATP), síntese de proteínas, lipídeos acilados, ácidos graxos, que muitas vezes, o Mn^{2+} pode substituir o Mg^{2+} , agindo como um cofator enzimático (PITTMAN, 2005). Além disso, tem participação, juntamente com o cloro, na evolução do O_2 no processo fotossintético (quebra fotoquímica da água no fotossistema II). Em casos de deficiência, ocorre acúmulo de nitrato, devido à redução ineficiente à nitrito. Diferente dos demais nutrientes citados, o Mn está mais associado a sua toxidez que a sua deficiência, visto que dada a sua interação com outros nutrientes, o seu excesso pode manifestar-se como deficiência induzida de cálcio, magnésio e, em especial, de ferro. Em caso de sua acumulação à nível de toxidez, o silício é capaz de diminuir o efeito tóxico do Mn, por proporcionar uma distribuição mais uniforme do micronutriente na lâmina foliar, impedindo a formação das pontuações marrons (FAQUIN, 2005).

3.3 Cultura de alimentos

Na produção de matéria-prima para alimentos, é de extrema importância a avaliação do estado nutricional das culturas. Essa avaliação se dá por procedimentos indiretos (estimativa da concentração de um nutriente, cujos valores possam ser correlacionados com a amostra) ou diretos (análise visual e/ou real, nesse último caso, a análise da massa seca denominada análise foliar) (FONTES, 2001). O cuidado com a deficiência nutricional, de forma a prevenir a falta de nutrientes e as consequentes alterações no metabolismo e crescimento da planta, tais como o retardamento dos processos metabólicos em que o nutriente participa diretamente e, se a deficiência for agravada, outras etapas do metabolismo serão afetadas indiretamente (EPSTEIN; BLOOM, 2006).

Quando a região de plantio não tem a capacidade de suprir o teor necessário desses nutrientes, emprega-se a adubação, adicionando fontes externas de nutrientes, como fertilizantes químicos ou biológicos (GONÇALVES; POGGIANI, 1996). A aplicação dos adubos deve levar em conta a mobilidade dos elementos. Para os pouco

móveis e imóveis, o suprimento contínuo é feito mais eficientemente pelo solo e para os muito móveis pode-se realizar pela aplicação foliar, uma vez que esses têm grande afinidade pela estrutura vegetal e maior mobilidade também.

De acordo com o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2018), os dados do ano de 2017 revelaram que a maior área de produção agropecuária brasileira ainda é convencional (cerca de 240 milhões de hectares). Para garantir essa demanda produtiva que o setor tem, faz-se o uso de produtos que controlem/diminuam a presença de pragas nas plantações. Nesse cenário o Brasil é um dos líderes mundiais no consumo de substâncias químicas usadas na agricultura (SANTOS; MONTEIRO, 2004). À esse sistema de plantio, denomina-se manejo convencional, sistema que tem característica a agroquímica (controle da fertilidade dos solos, bem como de pragas, doenças e ervas invasoras), a manipulação genética e a mecanização, o que leva a tendência da prática de monocultura intensiva e extensiva, que seria praticamente impossível, sem esse aparato industrial (AQUINO; ASSIS, 2005).

Contudo, práticas de agricultura convencional acarretam em danos irreversíveis ao meio ambiente como um todo, levando a maiores taxas de desmatamento, salinidade, e desertificação, perda da biodiversidade (FOLEY et al., 2011), erosão dos solos (STOCKING, 2003) e contaminação dos recursos naturais (BARBOZA et al., 2012). Os fertilizantes químicos e pesticidas utilizados nas práticas convencionais contaminam o solo, o ar, a água e o agricultor (pois na rotina diária boa parte não faz uso correto dos equipamentos de proteção individual), além de causar resistência das pragas e aumentar as emissões de gases de efeito estufa, pois cerca de 70% das emissões antropogênicas de óxido nitroso (N_2O) são atribuídas à agricultura (LANA, 2009). Para o consumidor, esses impactos também são preocupantes, de acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2008), o consumo de alimentos com resíduo de agrotóxicos, durante médio e longo prazo, pode levar à problemas hepáticos (cirroses) e distúrbios do sistema nervoso central, como também aumentar a incidência de doenças como: alergias alimentares, cânceres, ingestão de substâncias tóxicas por alimentos, doenças cardiovasculares, diabetes, hipertensão arterial, entre outras DCNT's (doenças crônicas não transmissíveis).

De acordo com Barros e Silva (2010), em meados dos anos 80, com o surgimento de Organizações não Governamentais (ONG's), houve um crescimento na preocupação com diversos impactos ambientais antrópicos e um deles relativo ao uso indiscriminado de agroquímicos, dando notoriedade cada vez mais crescente ao sistema

de cultivo orgânico. Segundo o MAPA (2018), até o ano de 2017, o Brasil possuía 940 mil hectares ocupados com o sistema orgânico de produção, cerca de 22% de seus municípios, caracterizando-se como um mercado promissor e que obteve taxas de crescimento de 30% a 50% nos últimos anos, sendo a quinta maior área de agricultura orgânica do mundo.

O cultivo orgânico é aquele que faz uso de fertilização biológica, ou seja, a não utilização de fertilizantes químicos, tendo como exemplos positivos o uso de calcário e pó de rochas, biofertilizantes, bem como corretivos e defensivos naturais para o combate das pragas, obedecendo o plano de manejo orgânico disposto na Portaria nº 990 do MAPA (BRASIL, 2013). Esse sistema, segundo Aquino e Assis (2005), se fundamenta em princípios agroecológicos, como a diversificação de culturas, independência dos sistemas de produção, tratamento do solo com organismos vivos e tratamento das pragas com produtos naturais. Nesse sistema, devido a adição de fonte de carbono ao solo (principal fonte de macro e micronutrientes essenciais às plantas), tem-se o aumento da atividade dos microorganismos do solo, pois é fonte de energia e de nutrientes, bem como melhora da disponibilidade dos minerais, devido à elevação do pH, há um aumento da capacidade de retenção dos nutrientes, evitando perdas, e ainda diminuição do efeito nocivo do alumínio trocável.

Na tabela 1 são dispostas algumas observações, mencionadas em publicações científicas recentes, a respeito desses dois tipos de cultivo (orgânico e convencional).

Tabela 1: Revisão das características fundamentais acerca do sistema convencional e orgânico de alimentos

Propriedades	Convencional	Orgânico
Fertilização do solo	Fertilizantes químicos a base de N, P e K (DAROLT, 2003)	Fertilizantes biológicos a base de húmus e esterco e até mesmo os subprodutos industriais (pós e palitos) da erva-mate (BRISOLARA et al., 2004).
Qualidade nutricional	Declínio na concentração de proteínas, cálcio, fósforo, ferro, riboflavina (DAVIS et al., 2004), menor teor de sólidos solúveis (NASCIMENTO et al., 2013), atividade antioxidante menor (ROCHA; SILVA, 2011), maior	Menor teor de nitratos e maior teor de massa de matéria seca (cinzas) (MOOZ; SILVA, 2014), maior valor energético e umidade, maior teor de compostos fenólicos (ARBOS et al., 2010), menor acidez dos alimentos (Nascimento

	concentração de nitrato e menor teor de ácido ascórbico (SILVA et al., 2011)	et al., 2013), aumento dos níveis de ácido ascórbico (TOOR et al., 2006)
Custo benefício para o produtor	Não precisa de certificação	Certificação e assim seu produto no mercado é vendido mais caro (4x mais), trazendo um retorno financeiro maior na venda (BITTENCOURT et al., 2004)
Custo benefício para o consumidor	Maior produtividade do plantio (REMBIALKOWSKA, 2009), logo o produto com menor custo	Maior segurança alimentar (DULLEY, 2018)
Impactos Ambientais	Reposição maior dos elementos mais escassos	Favorece a rotação de cultura, aproveitamento de resíduos sólidos orgânicos, controle biológico mais definido (GUADAGNIN et al., 2005), menor contaminação do solo e da água, produção menor dos gases do efeito estufa (DAROLT, 2009)

Como pode ser observado na tabela 1, há informações levantadas quanto a qualidade nutricional comparativa entre produtos orgânicos e convencionais. De modo geral, pode ser apontado que a produção orgânica traz alimentos mais fibrosos e com maior concentração de matéria seca, conferindo uma qualidade superior (SOUZA; RESENDE, 2006), devido a uma quantidade maior de fitoquímicos, compostos bioativos e com ação antioxidante capazes de combater radicais livres (CINTRA, 2010). Outra característica pertinente é relacionada ao efeito do manejo do solo, realizado com maior frequência, na dinâmica do solo, especificamente no aumento da produção de microorganismos (HENIS, 1986). A quantidade desses microorganismos está relacionada com a produção de alguns compostos que ajudam na absorção mineral, principalmente, o citrato ($[\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7]^{-3}$) e lactato ($[\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_3]$), os quais se combinam com os minerais presentes no solo tornando-os mais disponíveis para as raízes das plantas (STEVENSON; ARDAKANI, 1972).

3.4 Erva-mate

3.4.1 Informações botânicas e de produção

A erva-mate é pertencente ao gênero *Ilex* e a espécie *Paraguariensis* (SANTOS, 2004), denominados por seu nome científico *Ilex paraguariensis* A. St. Hil. em homenagem ao naturalista francês Auguste de Saint-Hilaire que descreveu essa árvore pela primeira vez em 1822 e publicou nas *Mémoires Du Muséum d'Histoire Naturelle*, Paris – France (SAINT-HILAIRE, 1822). Em sua descrição, apontou como sendo uma árvore de porte médio, com bastantes ramos e folhas (LESSA, 1953), sendo que suas folhas eram uma mescla de coloração verde claro/escuro, sem odor e com um sabor amargo característico (LINHARES, 1969).

O crescimento da planta é considerado lento e condicionado a uma interação entre temperatura e precipitação, com distribuição predominante nos tipos climáticos Cfb (temperado úmido, com temperatura média do mês mais quente inferior a 22°C), seguido pelo Cfa (temperado úmido, com temperatura média do mês mais quente superior a 22°C). A erva-mate, para a sua ocorrência natural efetiva, é tolerável solos de baixa fertilidade natural, com baixo teor de nutrientes trocáveis e com alto teor de alumínio, contudo, é necessário solos úmidos permeáveis e bem drenados, profundos, argilosos (teores de argila superior a 35%) e com textura média (15 a 35% de argila), com pH ácido em torno de 5,0, altos teores de matéria orgânica, baixa saturação por bases (MACCARI JUNIOR, 2000; ROTTA; OLIVEIRA, 2005).

A região de distribuição natural da *Ilex Paraguariensis* ocupa uma área da América do Sul de aproximadamente 540.000 km², situada entre o noroeste Argentino, o leste do Paraguai e sul do Brasil (ROTTA; OLIVEIRA, 2005). Em relação ao Brasil, a zona ervateira possui aproximadamente 450.000 km², correspondendo a 5% do território nacional, tendo uma produção agroindustrial com safra no período de maio a agosto, que abrange majoritariamente os estados produtores do Paraná, Santa Catarina, Rio Grande do Sul (MACCARI JUNIOR, 2000) e também, mas de forma reduzida, no Mato Grosso do Sul, Minas Gerais e Rio de Janeiro (DARTORA, 2010).

3.4.2 Importância cultural, econômica e social

A bebida popularmente conhecida como chimarrão ou mate (no termo *mati* que significa cuia, porongo ou cabaça, que é o recipiente utilizado para acondicionar as folhas secas da erva-mate e beber a infusão preparada com água quente) era conhecida

pelos índios guaranis e foi reconhecida como um valioso complemento alimentar pelos jesuítas por volta do séc. XVI (LIMA, 2010).

Nos estados do sul do Brasil, nordeste da Argentina, parte oriental do Paraguai e em pontos isolados no Uruguai, a forma de ingestão mais comum é o chimarrão (BOGUSZEWSKI, 2007), que é quando se bebe a infusão quente e a erva possui a classificação de Produção Nacional 1 (PN 1), ou seja, uma proporção de 70% de folhas e 30% de ramos (BRASIL, 2002), enquanto que em outras regiões brasileiras se dá preferência à utilização na forma de tererê e chás, que apresentam uma gama de variedades e sabores (DANIEL, 2009), sendo consumida a infusão na forma gelada (tererê) e/ou quente (chá-mate), cuja rotulação de PN 2, que é quando se tem uma proporção 60/40, de folha e ramo, respectivamente (BRASIL, 2002). Frente a isso, essa cultura se difundiu em países da América do Sul (SOUZA, 1947; LINHARES, 1969), com importante papel social para caracterização da região sulina do Brasil e alguns países sul-americanos, uma vez que é compartilhada na roda de familiares, amigos e vizinhos em diversos momentos do dia (MACCARI JUNIOR, 2005), tendo significado cultural comparado à cerimônia do chá na cultura japonesa.

No que tange ao poder socioeconômico, a produção brasileira é praticamente toda comercializada internamente (80%) (ESMELINDRO et al., 2002), sendo que essa planta é explorada financeiramente em cerca de 600 municípios dos estados do Paraná, Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Mato Grosso do Sul, totalizando 180 mil propriedades rurais envolvidas. A erva-mate abastece 750 indústrias, gerando 710 mil empregos, com uma produção de aproximadamente 700 mil toneladas por ano do produto industrializado, consistindo o seu principal fim a produção de bebidas na forma de chás e chimarrão, contudo devido às suas diversas propriedades fitoquímicas presentes no extrato das folhas, a clorofila, os compostos voláteis, a cafeína, os flavonóides e as saponinas (MIRANDA; URBAN, 1998), apresenta potencial para outras aplicações no setor industrial como em corantes, conservantes alimentares, medicamentos, produtos de higiene e cosméticos (MACCARI JUNIOR, 2000).

Em nível mundial, a produção de erva-mate está presente na Argentina com 690 mil toneladas de erva-mate verde (INYM – Instituto Nacional do Mate, 2013) e no Paraguai com 85 mil toneladas (MAG – Ministério da Agricultura e Pecuária, 2013). Em dimensão nacional, com base em levantamentos estatísticos, segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2011), a erva-mate apresentou produtividade no ano de 2010 cerca de 430 mil toneladas de erva-mate verde, sendo o

estado do Rio Grande do Sul o maior produtor, seguido de São Paulo, Minas Gerais e Paraná.

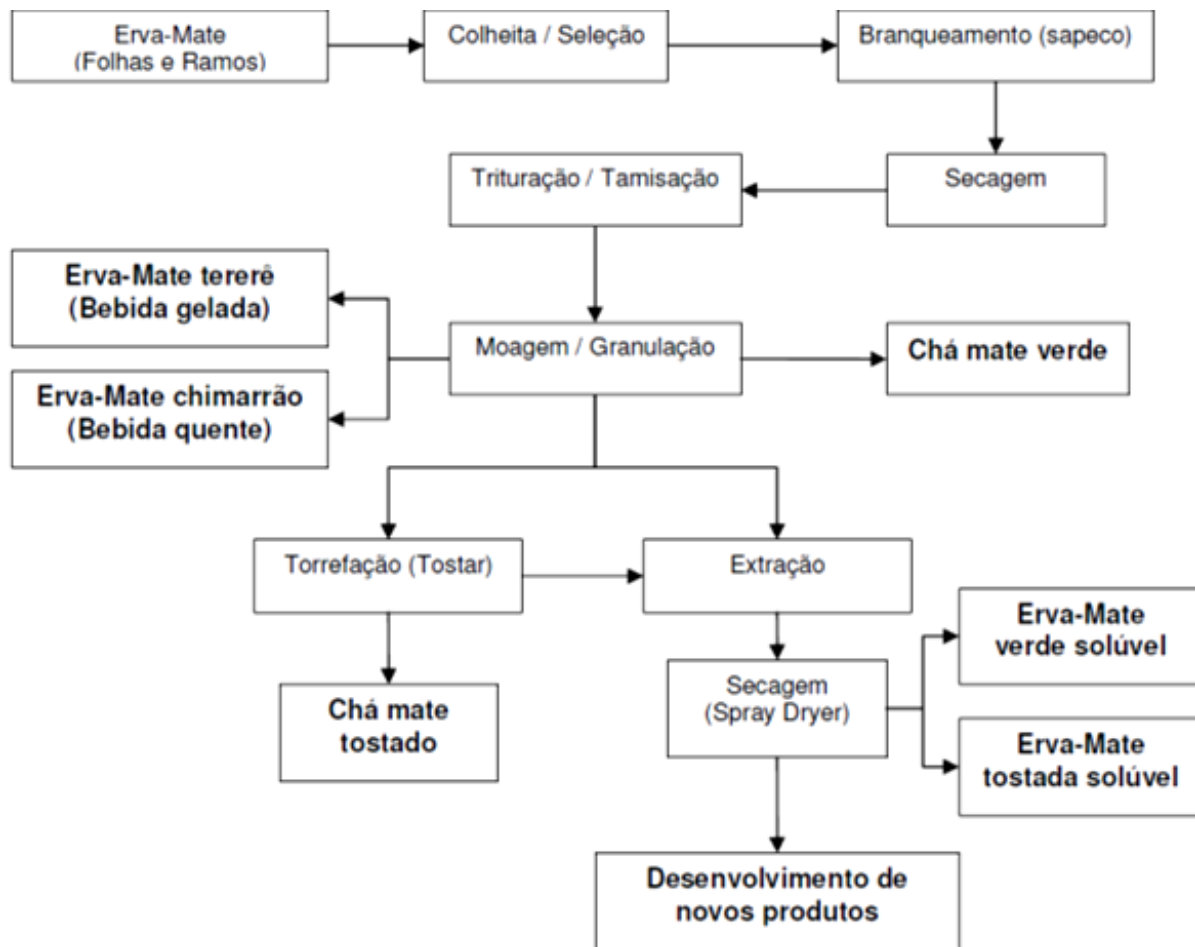
3.4.3 Processo de produção

Considerando que as condições do ambiente interferem nos componentes físico-químicos da erva mate (REISSMANN; RADOMSKI; QUADROS, 1999), é importante refletir sobre os sistemas de processamento do mate, que ocasionam consequências na qualidade do produto e suas características organolépticas (DONADUZZI, 2000).

No âmbito agroindustrial, as amostras de erva-mate são submetidas a uma sequência de processos, que levam a confecção de diversos produtos comerciais. Esse sistema então se baseia no processo de cancheamento das folhas e ramos (o corte da erva, o sapecamento, a desidratação, a moagem e a peneiração) e no beneficiamento (a erva cancheada passa por nova secagem, limpeza, trituração e classificação por peneiras), durante o período de safra (MACCARI JUNIOR, 2005).

As principais etapas, conforme sistematiza a Figura 1, são o branqueamento conhecido como sapeco (uma das etapas mais cruciais, devido à indispensável desidratação das folhas e ramos igualmente, sem queimá-los nem deixá-los crus), a trituração e tamisação (essas duas últimas etapas permitem obter uma granulometria padrão) e por fim, a etapa de moagem que dependendo da intensidade e o tipo de moagem utilizado resultam em produtos com diferentes formas de consumo, frisando que na erva-mate exportada se tem na composição apenas a folha pura, ou seja, 0% de palito, enquanto na do mercado nacional se aceita em torno de 30% de palito (VALDUCA. FINZER; MOSELE, 2003; MACCARI JUNIOR, 2005).

Figura 1: Diagrama das etapas de produção dos diversos produtos obtidos a partir da erva-mate.



Fonte: Adaptado de BERTÉ (2011)

3.4.4 Composição, propriedades químicas e princípios ativos

Acredita-se que a erva-mate promove uma série de benefícios no corpo humano, justamente pelo fato de ser uma bebida que atua sobre os nervos e músculos, acaba por estimular o intelecto e a prática de atividades físicas, bem como eliminar a fadiga (DARTORA, 2010).

Diversos grupos de pesquisas relatam benefícios do consumo de erva mate à saúde. Arçari et al. (2011) realizaram estudos com camundongos e verificaram o efeito anti-inflamatório, além da restauração da sinalização hepática à insulina. Kang et al.

(2012), observaram ação anti-obesidade *in vivo* e efeitos sobre os níveis de glicose. Lückemeyer et al. (2012) avaliaram a atividade anti-herpes de extratos de erva mate, sendo que todos os extratos apresentaram atividade em concentrações não citotóxicas. Pimentel et al. (2013) observaram a reversão dos efeitos pró-inflamatórios em ratos submetidos a dietas altamente calóricas. Na medicina popular, vem sendo utilizada no tratamento de artrite, enxaqueca, prisão de ventre, reumatismo, hemorroidas, obesidade, fadiga, retenção de líquido, hipertensão, e para o tratamento de enfermidades no fígado e estômago (BASTOS; TORRES, 2003).

Os benefícios oriundos da erva-mate são decorrentes da sua composição química, rica em compostos ativos importantes para a nutrição humana como, por exemplo, alcaloides, como a cafeína, teobromina e a teofilina (CLIFFORD; RAMIREZ-MARTINEZ, 1990; SALDANA et al., 1999), taninos e flavonoides (De SOUZA et al., 2011), vitaminas A, B1, B2 e C e minerais, que agem sobre o sistema cardiovascular, respiratório, tecido muscular, trato gastrointestinal. Também apresenta propriedades estimulantes sobre o sistema nervoso central, função antirreumática e atividade antioxidante (PAGLIOSA et al., 2010) e função diurética (MACCARI JUNIOR, 2000). É rica em aminoácidos, como o ácido aspártico e glutâmico, lipídios como os ácidos palmítico, oleico e linoleico e saponinas (GOSMANN et al., 2012; COELHO et al., 2010; GNOATTO; SCHENKEL; BASSANI, 2005), além de enzimas e material nitrogenado, como as xantinas (De SOUZA et al., 2011), carotenoides, celulose, lignina, clorofila e ácidos orgânicos (LIMA, 2010).

O estudo mineral em amostras de erva-mate é bem rotineiro na literatura, tanto na determinação de minerais totais (HEINRICHS; MALAVOLTA, 2001, OLIVA et al., 2014; PANDOLFO et al., 2003; SOUZA et al., 2008; PEREIRA et al., 2016) quanto na determinação de minerais solúveis (HEINRICHS; MALAVOLTA, 2001; KASEKER et al., 2010; PEREIRA et al., 2016). Cabe salientar que nenhum desses trabalhos pesquisa sobre o cultivo orgânico, sendo as amostras sempre provenientes de sistema convencional. Por isso, é importante realizar mais estudos sobre o assunto e a relação mineral entre ervas-mate orgânicas e convencionais.

3.5 Determinação de nutrientes minerais por métodos espectrométricos

3.5.1 Determinação da concentração total dos analitos

Como a erva-mate é uma matriz complexa, a análise por métodos espectrométricos, na maioria dos casos, necessita de um adequado procedimento de

preparo da amostra. Esse preparo objetiva a homogeneidade da amostra, a concentração dos elementos em uma faixa adequada à determinação, a eficiência na digestão e a reprodutibilidade da mesma, levando em conta o tempo de trabalho investido e o consumo consciente dos reagentes (SOYLAK et al., 2007).

Dentre os procedimentos mais utilizados, a digestão via úmida é uma das mais abordadas na literatura, tanto em sistema aberto, com o uso de HNO_3 (IPEAIYEDA; DAWODU, 2011; KARA, 2009, PILGRIM et al., 2010) $\text{HNO}_3 + \text{HCl}$ (NARIN et al., 2004) e $\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4$ (QIN; CHEN, 2007; SALAHINEJAD; AFLAKI, 2010; AKSUNER et al., 2012), quanto em sistema fechado HNO_3 (HAN et al., 2005; SHEN; CHEN, 2008), $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$ (NOOKABKAEW et al., 2006; SOYLAK et al., 2007; MCKENZIE et al., 2010), $\text{HNO}_3 + \text{HCl} + \text{HF}$ (MIERZWA et al., 1998) e $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2 + \text{HClO}_4 + \text{HF}$ (CAO et al., 1998). Todos levam à decomposição e destruição dos complexos formados com a matéria orgânica, pela oxidação pela ação de ácidos, facilitando a extração dos elementos na solução, uma vez que as cinzas ou os digeridos obtidos podem ser facilmente dissolvidos em água ou soluções ácidas.

Em virtude disso, escolher o procedimento de preparo é crucial, visto que deve-se garantir a confiabilidade dos dados apresentados (AKSUNER et al., 2012). Assim, alguns critérios de qualidade do método analítico proposto são levados em conta, tais como: a precisão pela reprodutibilidade do procedimento; a exatidão; a eficiência de recuperação e o grau de contaminação.

3.5.2 Minerais presentes no extrato aquoso da amostra

Sabendo que os métodos de preparo de amostra com ácidos são destrutivos e que o consumo de erva-mate é feito por meio do extrato aquoso, cabe avaliar a disponibilidade dos elementos minerais nessa fração, uma vez que cada um está ligado de maneira única e diferentemente na matriz da amostra, espera-se que apresentem um comportamento específico, tendo uma solubilização baseada na sua força de ligação química com os componentes da erva (WELNA; SZYMCZYCHA-MADEJA; POHL, 2013).

Assim, no extrato com água quente, tem-se o lixiviamento dos elementos durante o contato com o solvente. A vantagem desse tipo de procedimento é que esses extratos podem ser analisados diretamente no equipamento, com pouco ou sem qualquer preparo da amostra, porém a extratibilidade dos minerais é dada com base no teor de totais da matéria seca (WELNA; SZYMCZYCHA-MADEJA; POHL, 2013).

Essa extração possibilita a separação de metabólitos secundários solúveis das plantas, mas não tem a capacidade de extrair o resíduo celular insolúvel. Esses extratos contém uma mistura complexa de metabólitos, nas quais estão inclusos os alcaloides, glicosídeos, fenóis e flavonoides. No caso dos extratos aquosos de *Ilex*, esses são fonte de minerais essenciais e vitaminas (STAGG; MILLIN, 1975), bem como são ricos em ácido cafeico, ácido clorogênico e saponinas (PAGLIOSA et. al, 2010). Os metais presentes em amostras vegetais estão complexados com flavonoides, catecóis, taninos e polifenóis (TASCIOGLU; KOK, 1998). Taninos são estabilizados por ligações fortes com Al, Cr, Cu e Fe (COSTA; GOUVEIA; NOBREGA,2002).

Dentre os métodos de extração em meio aquoso quente, cita-se a infusão e a decocção. Esses dois são baseados no princípio de quebra da parede celular da planta, a fim de liberar os compostos solúveis. A infusão utiliza geralmente menores tempos de maceração e a amostra é mantida em contato com um volume determinado de água por um tempo determinado, enquanto que na decocção a amostra é aquecida juntamente com o solvente, tornando-se mais adequada para extrações de compostos termicamente estáveis, ou aqueles mais difíceis, encontrados nas raízes e cascas de plantas, resultando na maior solubilidade de compostos oleosos, quando comparado a infusão (RATHI; BODHANKAR; BAHETI, 2006).

Em geral, maiores rendimentos de extração dos elementos são observados na decocção, comparado a infusão. Isso é relativo ao efeito de preparo, pois nesse método há o aumento no contato entre a planta e a solução extratora, levando à maiores concentrações, principalmente dos micronutrientes (B, Cu, Fe, Mn e Zn), mas não tanto nos macronutrientes (Ca, K, Mg e P) (KARTIKA et. al, 2011). Nos extratos, Mg, Mn e Rb estão presentes como cátions e Ca, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Sr e Ba principalmente presentes na forma catiônica e também na fração não catiônica. Para Fe, Ni, Cu e Zn, as espécies não catiônicas estão ligadas à complexos orgânicos (PRADO, 2008).

De forma geral, o nível de concentração dos elementos extraídos é fortemente afetado por alguns parâmetros, como por exemplo, a composição da amostra, o pH da água usado para preparar o extrato, a solubilidade do mineral extraído e dos outros componentes da matriz, como os compostos polifenólicos, que são facilmente extraídos em meio aquoso (PYTLAKOWSKA et. al, 2012; BASGEL, 2006).

A taxa de transferência dos elementos é diferente na infusão e na decocção e isso se deve às propriedades fisiológicas da planta, o nível de substâncias fenólicas, elementos quelantes e/ou componentes ligados ao metal e pH tanto da água quanto do

extrato final. Nesse contexto, nos extratos vegetais, o elemento K é o único que apresenta altíssimas taxas de solubilidade, devido à estar disponível na forma iônica livre, enquanto que elementos como Al, Ca, Cu, Ba, Fe, Mn, Sr, Ti e V, apresentam lixiviabilidades menores, uma vez que estão mais fortemente ligados ou imobilizados na matriz orgânica extraída durante o procedimento (JUNIOR; DANTAS, 2016; PYTLAKOWSKA et. al, 2012). No que tange ao procedimento adotado para a extração, elementos como Al, Cu, Mn e Fe apresentam um decréscimo em suas concentrações pelo fato de formarem de complexos insolúveis com substâncias orgânicas ou também participar de reações de hidrólise e precipitação (SZYMCZYCHA-MADEJA; WELNA; ZYRNICKI, 2013). Elementos como Ca, Ba e Sr podem ser acumulados dentro das células vegetais da planta, tornando-se indisponíveis no extrato (PYTLAKOWSKA et. al, 2012).

Quanto à extratibilidade, cabe ainda salientar que: 1) o conteúdo mineral nos extratos aumenta proporcionalmente com longos tempos de extração, porém a solubilidade é maior nos primeiros 5 minutos (ZHOU et. al, 1996); 2) há uma relação inversa entre o pH e a extração dos elementos, sendo que em pH menores observa-se maiores concentrações de metais nas folhas, devido a presença de mais espécies catiônicas solúveis (MOSSION, et. al, 2008); 3) temperaturas acima de 60° C podem afetar a solubilidade de Fe das folhas, devido a insolubilidade de complexos de compostos polifenólicos (TASCIOGLU; KOK, 1998).

Em virtude do exposto, além dos componentes da amostra, os principais parâmetros que influenciam o método de extração metálica são:

- ✓ **Temperatura:** Linares et al. (2010) demonstraram que temperaturas na faixa de 40-70 °C não alteram o rendimento de extração de compostos em infusão de erva-mate. Extrações acima de 60 °C tendem a reduzir a transferência de Cu e Fe das folhas, devido a insolubilidade dos complexos polifenólicos desses elementos (TASCIOGLU; KOK, 1998). Temperaturas superiores a 100 °C proporcionam a redução no teor de oxigênio dissolvido na água, prejudicando a qualidade da infusão (XIA; SHI; WAN, 2006). Segundo Da Silveira e colaboradores (2014), para 2 g de erva-mate, um volume de 100 mL e temperatura de 72 °C são as condições ótimas para a extração. Para a maioria dos elementos, o aumento da temperatura do extrato proporciona o aumento da solubilidade e do coeficiente de difusão dos compostos fenólicos, o que resulta numa maior taxa de extração (KOMES et al., 2010);

- ✓ **Tempo:** O aumento do tempo do procedimento experimental favorece a extração dos elementos, sendo que alguns minerais (Al, Ba, Ca, Cr, Cu, Fe, K, Mn, Ni, P, Pb, Rb, S, Sr, Ti e Zn) tem maior solubilidade nos primeiros cinco minutos (ZHOU et al., 1996; COSTA; GOUVEIA; NOBREGA, 2002). Lee e colaboradores (2008) em sua pesquisa levam a crer que temperatura e tempo de extração são variáveis inversamente proporcionais, ao passo que aumentando a temperatura se diminui o tempo de extração e vice-versa. Essa relação pode não ser linear para os compostos termosensíveis, pois elevados valores de temperatura e tempo, podem levar à perda de compostos, diminuindo assim o rendimento de extração;
- ✓ **pH:** O decréscimo do pH da água tende a aumentar a extração dos elementos, devido a presença de mais espécies solúveis catiônicas (MOSSION et. al, 2008).

Baseado no exposto, com relação a eficiência de extração, os elementos podem se encaixar em três grupos: 1) altamente extraíveis (>55%): Co, Cs, K, Na, Ni, Rb e Tl; 2) moderadamente extraíveis (20-55%): Al, B, Cu, Cr, Mg, Mn, P e Zn e 3) pobremente extraíveis (<20%): Ba, Ca, Fe, Mo, Sn, Sr, V, Y, Zr, e lantanídeos. Esse poder de extração varia conforme a força de ligação que o elemento tem com a matriz orgânica e da sua solubilidade no solvente (COSTA; GOUVEIA; NOBREGA, 2002).

Para expressar os resultados obtidos, a Quimiometria se apresenta como uma ótima alternativa, sendo de grande importância na interpretação e análise dos dados obtidos pelos diversos métodos instrumentais, devido a se tratar de uma área da Química que possibilita o desenvolvimento e a aplicação de métodos estatísticos e matemáticos no planejamento, otimização de procedimentos ou na obtenção de informações químicas através da análise de dados (VOGEL, 2002).

Assim, nos experimentos laboratoriais, há a produção de uma gama de dados experimentais, que muitas vezes envolvem diversas variáveis, dificultando a extração de informações. Nesse sentido, uma análise multifatorial é de suma importância e pode contribuir muito na análise dos resultados. Nesse sentido, a Análise de Componentes Principais (PCA) é uma técnica estatística multivariada de modelagem da estrutura de covariância, descrita inicialmente por Pearson em 1901, sendo considerada como uma das principais utilizadas na Quimiometria (HONGYU; SANDANIELO; OLIVEIRA JUNIOR, 2015).

A PCA transforma linearmente um conjunto original de variáveis, correlacionadas entre si, num conjunto substancialmente menor de variáveis não correlacionadas que contém a maior parte da informação do conjunto original, gerando uma menor perda de informações. Na prática, essa técnica redistribui a variação observada em dois eixos originais, de forma a se obter um conjunto de eixos ortogonais não correlacionados, transformando em um conjunto de variáveis de mesma dimensão, denominadas componentes principais (MANLY, 1986).

Sendo assim, o objetivo principal da Análise de Componentes Principais é o de explicar a estrutura da variância e covariância de um vetor aleatório, composto de p -variáveis aleatórias, por meio de combinações lineares das variáveis originais (SANDANIELO, 2008). De acordo com Regazzi (2000), as técnicas de análise multivariada, como a PCA, podem ser utilizadas para resolver outros tipos de problemas como redução da dimensionalidade das variáveis, agrupar os indivíduos (observações) pelas similaridades, em diversas áreas do conhecimento, por exemplo, agronomia, fitotecnia, zootecnia, ecologia, biologia, psicologia, medicina, engenharia florestal, etc.

Na área da Química, algumas pesquisas vêm sendo desenvolvidas fazendo o uso da PCA como técnica para análise dos resultados. Mais precisamente quanto ao estudo de amostras de erva-mate, Cozzolino e colaboradores (2010) e Marcelo et.al (2014) foram capazes de separar o produto comercial de Ilex por país de origem, mediante o perfil dos espectros obtidos por reflexão na região do infravermelho, com o auxílio da PCA, bem como Márquez e colaboradores (2013) realizaram a caracterização dos compostos voláteis presentes em amostras comerciais de erva-mate, através de espectrometria de massas acoplada à cromatografia gasosa. Com relação à determinação de minerais nessas amostras, Marcelo, Pozebon e Ferrão (2015) determinaram 24 elementos (micronutrientes e macro minerais e metais tóxicos) presentes em 54 amostras de erva-mate comercializadas no Mercosul, provenientes de quatro países diferentes, sendo um deles o Brasil. realizando assim, por meio da PCA, a visualização das características distintas de cada país de produção no produto final, além de evidenciar algumas propriedades singulares.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Instrumentação

No presente trabalho, os seguintes equipamentos e acessórios foram utilizados:

- ✚ Estufa com circulação e renovação de ar forçado (SP Labor, modelo SP-102/100, Brasil);
- ✚ Bloco Digestor de alumínio fundido com tubos de vidro borossilicato (Marconi, modelo MA4025, Brasil) e caixa elétrica externa em aço inoxidável AISI 304, acabamento polido;
- ✚ Espectrômetro de absorção atômica por chama (PerkinElmer, modelo AAnalyst 800, USA);
- ✚ Balança semi-analítica com resolução de 0,001 g (Shimadzu, modelo BL320H, Brasil);
- ✚ Destilador de ácidos sub-ebulição de quartzo (Milestone, modelo DuoPur, USA);
- ✚ Sistema de purificação de água (Millipore, modelo Milli-Q Direct-Q UV3®, Alemanha)
- ✚ pHmetro (Methrom, modelo 888 Titrand, Brasil)

4.2 Reagentes

- ✚ Água ultrapura purificada em sistema Direct-Q UV3 Millipore (resistividade 18,2 M Ω cm);
- ✚ Ácido Nítrico 65% (Vetec, Brasil);
- ✚ Ácido Perclórico concentrado 37% (Dinâmica, Brasil);
- ✚ Gás acetileno de alta pureza (>99,6%) (White Martins, Brasil);
- ✚ Soluções Padrão de Ca, Fe, Mg, Mn, K e Zn 1000 mg L⁻¹ (Assurance SprexCertiprex, EUA);
- ✚ Material de Referência Certificado (CRM, do inglês *Certificatted Reference Material*) **NIST 1547 - Peach leaves** (Materiais botânicos, alimentos agrícolas, produtos e materiais de matriz semelhante para metais traço e outros constituintes, (NRCC, Ottawa, Canadá)).

Cabe salientar que todos os resíduos produzidos nos métodos realizados foram recolhidos e armazenados em frascos devidamente identificados, seguindo as

orientações descritas na norma definida pela comissão de resíduos da Escola de Química e Alimentos (EQA), mantidos em segurança para posterior recolhimento e enviados para o devido tratamento, feito por empresa terceirizada a ser contratada em edital público pela FURG.

4.3 Vidrarias

Uma vez que se trabalha com determinações de sensibilidades expressivas, devido às baixas concentrações dos analitos, principalmente os micronutrientes, algumas medidas foram adotadas, com intuito de evitar contaminações que possam vir a invalidar a análise do material.

Dessa forma, as vidrarias utilizadas foram todas limpas de acordo com o mesmo procedimento, onde foram lavadas com detergente neutro, enxaguadas com água corrente em abundância e posteriormente com água destilada, para finalmente passar por descontaminação residual em banho de ácido nítrico 10% (v/v) por 24 horas, seguido de lavagem com água ultrapura ($18,3\text{M}\Omega\cdot\text{cm}^1$) (EMBRAPA, 2000).

4.4 Amostragem

Um total de 12 amostras foram selecionadas para este estudo, devido à serem as encontradas no comércio local de Rio Grande/RS, o que decorre da dificuldade em encontrar amostras certificadas por produção orgânica. Essas então foram distribuídas em 5 de cultivo orgânico e 7 de cultivo convencional, sendo consideradas amostras orgânicas aquelas certificadas pelo MAPA e que apresentassem o selo de produto orgânico. Na tabela 2 são sumarizadas as principais características dos produtos.

Tabela 2: Descrição das amostras adquiridas a serem analisadas

Amostra	Código de identificação	Proporção Folha/Ramo (%)	Origem	
			Produção**	Fabricação
Erva-mate Convencional	EMC1	ne	A	Brasil/RS
	EMC2	ne	B	Brasil/RS
	EMC3	ne	A	Brasil/RS
	EMC4	PN 1	C	Brasil/SC

	EMC5	Ne	D	Brasil/SC
	EMC6	PN 1	E	Brasil/RS
	EMC7	PN 1	A	Brasil/RS
Erva-mate Orgânica	EMO1	ne	F	Brasil/RS
	EMO2	ne	G	Brasil/PR
	EMO3	ne	D	Brasil/SC
	EMO4	ne	H	Brasil/RS
	EMO5	ne	I	Brasil/RS

ne = não especificado na embalagem do produto;

*Cada letra significa um local de produção. Assim, letras iguais indicam que as ervas provêm da mesma empresa de produção e fabricação.

4.5 Pré-tratamento da amostra

Com intuito de ponderar a ocorrência e distribuição dos metais nas diferentes partes aéreas da planta, tanto na determinação de minerais totais quanto na de extraíveis, as amostras de erva-mate comerciais passaram por processo prévio de tratamento, a fim de realizar a separação de sua composição entre folhas e ramos.

Assim, partindo de uma massa representativa de 300 gramas de cada amostra comercial, foi realizada a separação física manual dos ramos, sendo posteriormente a massa resultante peneirada em peneira com diâmetro de 32 mesh, sucessivamente, até total homogeneidade da amostra a ser analisada. Após isso, tanto as folhas quanto os ramos foram moídos em blender e peneirados novamente, até toda a massa pesada inicialmente ter o mesmo tamanho de partícula. As amostras então divididas em folhas e ramos, foram secas em estufa com circulação forçada de ar a 40 °C até o momento de se obter peso constante. Após a secagem, as matrizes de estudo foram guardadas individualmente e identificadas em frascos de polietileno, para posteriores análises de metais totais e metais solúveis.

4.6 Procedimentos

4.6.1 Digestão úmida – Determinação do teor de metais totais

O método consistiu na pesagem de uma massa de 200 mg de amostra previamente tratada, após, realizada a adição de 2,5 mL de solução nitro-perclórica ($\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4$) na proporção de 2:1 (v/v) e 1 mL de água ultrapura. A mistura foi mantida em repouso por 3 h e após foi submetida à aquecimento gradativo em bloco digestor, de acordo com o seguinte programa de aquecimento. Temperatura inicial de 60 °C por 20 minutos, após 90 °C por 20 min e então 120 °C por mais 20 min, para o desprendimento dos vapores de NO_x . Na sequência dessa primeira rampa de aquecimento, a solução foi aquecida, até o extrator ficar incolor, até 210 °C, nas temperaturas de 150 °C, 180 °C e 210 °C ambas por 20 minutos cada. Por fim, após o resfriamento, aferiu-se o volume a 30 mL com água ultrapura (EMBRAPA, 2000).

4.6.2 Perfil mineral no extrato aquoso

Com base no exposto na literatura (ASSIS et al., 2015; PEREIRA JUNIOR; DANTAS, 2016; RANDELOVIĆ et al., 2013), foram aplicados dois métodos para avaliação de metais na fração solúvel em água (tanto para folhas quanto para ramos), a fim de avaliar o potencial de disponibilidade dos metais nas ervas-mate comerciais, sendo:

1 – DECOCÇÃO: Para esse método as seguintes condições foram fixadas: volume de 50 mL de água deionizada, previamente fervida (100 °C), foi adicionada à uma massa de 1 g de amostra e mantida em chapa térmica de aquecimento. A partir do momento em que a mistura começou a ebulir com a água, foram marcados 15 minutos. Após, a mistura foi retirada da chapa térmica, sendo submetida a centrifugação à 17.920 G por 3 minutos. Assim, com a fase sólida decantada, foi realizada a filtração do sobrenadante. Por fim, os extratos foram armazenados em frascos de polietileno sob refrigeração para posterior análise em F AAS e F AES.

2 – INFUSÃO: A mesma proporção massa de amostra/água utilizada no procedimento da decocção foi empregada para a infusão, contudo, nesse procedimento a água foi aquecida a 100° C e vertida sobre a erva-mate, homogeneizada e então contabilizados 15 minutos de contato. Após, a solução foi centrifugada para posteriormente ser realizada a filtração do sobrenadante. Por fim, os extratos foram

armazenados em frascos de polietileno sob refrigeração para posterior análise em F AAS e F AES.

4.6.3 Determinação espectrométrica dos elementos

A quantificação elementar das amostras foi realizada pela técnica de Espectrometria de Absorção Atômica por Chama (FAAS, do inglês *Flame Atomic Absorption Spectrometric*) para os metais Fe, Mg, Mn, e Zn e Espectrometria de Emissão Atômica por Chama (FAES, do inglês *Flame Atomic Emission Spectrometric*) para os elementos Ca e K. As curvas de calibração para cada elemento foram elaboradas a partir de diluições dos respectivos padrões. Foram utilizadas as condições operacionais recomendadas pelo fabricante, sumarizadas na tabela 3.

Tabela 3: Condições instrumentais para determinação dos analitos

Analito	Comprimento de onda(nm)	Slit (nm)	Mistura de Gases (Oxidante/Combustível)
Ca	422,7	0.2	Ar – Acetileno
Fe	248,3	0.2	Ar – Acetileno
K	766,5	0.4	Ar – Acetileno
Mg	285,2	0.7	Ar – Acetileno
Mn	279,5	0.2	Ar – Acetileno
Zn	213,9	0.7	Ar – Acetileno

4.7 Desempenho analítico

Para a verificação do desempenho analítico dos procedimentos mencionados anteriormente, foram avaliados os parâmetros: precisão, exatidão, linearidade, limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ), seguindo os critérios estabelecidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2017) e pelo Instituto Nacional de Metrologia (INMETRO, 2016).

4.7.1 Precisão

A avaliação da precisão do método se dá por meio da repetitividade e precisão intermediária. É um parâmetro que avalia a dispersão dos resultados entre ensaios independentes, repetidos de uma mesma amostra, semelhantes ou padrões, sob

condições definidas pela ICH (do inglês, *International Conference on Harmonization*, 1995). Neste trabalho foi avaliada pelo Desvio Padrão Relativo (RSD, do inglês *Relative Standard Deviation*), também conhecido como Coeficiente de Variação (CV), que é calculado a partir da equação 1, a fim de verificar o quão próximos ou distintos estão os valores de média obtidos (RIBANI, 2004). Nas análises traço, o RSD é considerado inadequado quando ultrapassa o valor máximo de 20% (HUBER, 1998).

$$RSD (\%) = (\sigma/X) \times 100\% \quad \text{Equação 1}$$

Onde:

σ é o desvio padrão absoluto das medidas;

X é a média das concentrações das medidas.

Conceitualmente, tanto a repetitividade (termo abordado pelo INMETRO) quanto a repetibilidade (termo usado pela ANVISA) são as medidas que representam a concordância entre os resultados de medições sucessivas de um mesmo método, fazendo uso do mesmo procedimento experimental, mesmo analista, mesmo instrumento de medição e mesmas condições de operação, com medições repetidas no mesmo objeto ou em objetos similares durante um curto período de tempo, sendo os valores expressos pelo RSD. A precisão intermediária se baseia em medidas da mesma amostra ou padrões, utilizando o mesmo método, no mesmo laboratório, mas variando condições como, por exemplo, analistas, equipamentos ou tempos (ICH, 1995), podendo ser expressa também pelo RSD (ANVISA, 2017)

Dessa forma, nesse estudo, para a comprovação da precisão, fez-se a seguinte avaliação:

- ✚ Repetibilidade/Repetitividade: Digestão todas as amostras em triplicata (n = 3), juntamente com as respectivas análises de branco (n = 3), em cada batelada de análise;
- ✚ Precisão intermediária: Digestão de uma mesma amostra (fixa) de erva-mate em triplicata (n= 3) em cada batelada de análise, quatro no total, durante dias diferentes.

4.7.2 Exatidão

A exatidão de um procedimento analítico é definida a fim de predizer o quão exata estão as medidas realizadas, ou seja, a concordância entre os valores obtidos experimentalmente e os valores aceitos como verdadeiros (ICH, 1995), devendo seguir um limite de confiança, ou seja, deve acompanhar os resultados de precisão. Os processos mais utilizados para avaliar a exatidão de um método são: Materiais de referência certificados (CRM), comparação com método de referência validado, adições padrão ou ainda pela realização de ensaios de recuperação.

Assim, neste estudo, foram realizados os testes de exatidão tanto por meio da análise do CRM de folha de pessegueiro (do inglês, *Peach leaves*) (NIST 1547), quanto através dos ensaios de adição e recuperação de padrão em amostra selecionada aleatoriamente, ambos seguindo os mesmos procedimentos experimentais das amostras, sob as mesmas condições.

A concordância em relação ao CRM foi expressa em termos de porcentagem da recuperação analítica, calculado pela Equação 2:

$$(\text{concentração determinada} / \text{concentração certificada}) \times 100\% \quad \text{Equação 2}$$

A recuperação do analito no ensaio de adição se deu conforme as concentrações estipuladas previamente (APÊNDICE 1). Os resultados de recuperação, foram calculados aplicando a Equação 3, onde segundo a ANVISA (2017) têm-se os intervalos aceitáveis de recuperação para testes que hajam dissolução de +/- 20% da concentração esperada.

$$\text{Recuperação (\%)} = ((C1 - C2) / C3) \times 100\% \quad \text{Equação 3}$$

Onde:

C1 é a concentração do analito na amostra fortificada;

C2 é a concentração do analito na amostra não fortificada;

C3 é a concentração do analito adicionada à amostra fortificada.

4.7.3 Linearidade

A linearidade do método é definida como sendo a habilidade em obter resultados que são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, dentro de uma faixa de trabalho específica (ICH,1995). Essa proporcionalidade é expressa pela

equação da reta, chamada de curva analítica, que deve ser composta de pelo menos cinco pontos de concentração (BARROS; PIMENTEL; ARAÚJO, 2002).

Nesta pesquisa, os intervalos de concentração adotados para a determinação dos elementos por FAAS e FAES foram os indicados pelo fabricante. A adequação desse intervalo foi avaliada por meio do coeficiente de correlação linear (r), sendo considerados valores de ajuste ideal dos dados de regressão acima de 0,90 (INMETRO, 2016). As curvas de calibração foram preparadas diariamente a fim de minimizar erros.

4.7.4 Limites de Detecção e Quantificação

O limite de detecção (LD) é definido como a menor quantidade de analito que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada sob as condições estabelecidas. O LD pode ser estimado através de três maneiras diferentes: 1) Método visual; 2) Método da relação sinal/ruído; 3) Método baseado em parâmetros da curva analítica. Neste trabalho, optou-se por avaliar o LD segundo o método 3. A equação que demonstra o cálculo do LD é apresentada na Equação 4.

$$LD = 3,3 \sigma / a \quad \text{Equação 4}$$

O limite de quantificação (LQ) corresponde à menor concentração de analito que pode ser quantitativamente determinada com precisão e exatidão aceitáveis. Da mesma forma, o LQ calculado foi a partir do método 3, levando em consideração a Equação 5.

$$LQ = 10 \sigma / a \quad \text{Equação 5}$$

Onde:

σ : corresponde ao desvio padrão de dez medidas dos brancos;

a : é o coeficiente angular da curva analítica.

No presente estudo, os limites foram determinados de acordo com o descrito por Ribani et al. (2004), utilizando o método da curva analítica, que é tido como o mais confiável estatisticamente, empregando as equações 4 e 5. Os LD e LQ de cada método, foram calculados levando em consideração a massa da amostra pesada nas digestões e o volume final (30 mL) da solução resultante das amostras.

4.7.5 Tratamento dos dados

Para maximização das informações obtidas com os resultados, esses foram submetidos a tratamento estatístico multivariado por meio de Análise de Componentes

Principais (PCA). Para isso, utilizou-se o software SciLab 6.0.1 (GNU General Public License 2.0), seguindo o tutorial descrito por Ferreira e colaboradores (1999). Os dados foram auto escalados devido as diferentes ordens de magnitudes entre as variáveis.

6. RESULTADOS

6.1. Desempenho Analítico

6.1.1 Linearidade, Limite de Detecção e Limite de Quantificação.

Primeiramente foram avaliadas as figuras de mérito referentes ao desempenho analítico do método. Na Tabela 4 são apresentadas as faixas lineares, os coeficientes de correlação linear (R^2), os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) tanto instrumentais quanto do método, para os analitos investigados.

Tabela 4: Parâmetros de mérito para os elementos determinados por FAAS e FAES, para os metais totais

Analito	Faixa de trabalho (mg L ⁻¹) 1)	R ²	Instrumental (mg L ⁻¹)		Método (mg kg ⁻¹)	
			LD	LQ	LD	LQ
Ca	1,00 – 3,00	0,99	0,34	1,00	19,93	60,40
Fe	0,75 – 6,00	0,99	0,23	0,70	8,00	24,25
K	0,10 – 1,50	0,99	0,03	0,09	13,21	40,04
Mg	0,06 – 0,30	0,99	0,02	0,05	3,72	11,26
Mn	0,15 – 1,50	1,00	0,04	0,12	23,64	71,62
Zn	0,20 – 0,75	1,00	0,06	0,19	8,39	25,42

Pode se observar que as faixas de trabalho dos analitos apresentaram boa linearidade, levando em conta as curvas de calibração, que apresentaram coeficiente de correlação linear (r) maiores que 0,90 (INMETRO, 2016).

6.1.2 Exatidão

A avaliação da exatidão do método proposto, conforme a Tabela 5, foi dada pela análise de material de referência certificado *Peach leaves* (NIST 1547). Por conseguinte, são apresentados os níveis de concordância (expressos em porcentagem) do valor obtido no estudo frente ao valor certificado.

Tabela 5: Valores obtidos e certificados para Ca, Fe, K, Mn, Mg e Zn nos CRM NIST 1547 - *Peach leaves* (Valores expressos em média (mg kg^{-1}) \pm desvio padrão, exceto Ca, K e Mg em média (%) \pm desvio padrão, (n=2)) com os respectivos níveis de concordância em %

Analito	CRM		
	Valor Certificado	Valor obtido	Concordância (%)
Ca	77,95 \pm 2,00	66,40 \pm 3,84	85,2
Fe	218,00 \pm 6,80	186,60 \pm 0,20	85,6
K	121,65 \pm 0,38	114,08 \pm 0,20	93,8
Mg	21,60 \pm 1,20	22,88 \pm 0,20	105,9
Mn	97,80 \pm 1,80	90,28 \pm 0,20	92,3
Zn	17,97 \pm 0,53	16,20 \pm 0,20	90,2

Os resultados de concordância obtidos variaram de 85,2 até 105,9. Tais estão dentro da faixa aceitável de 80 à 120% (ANVISA. 2017). Em estudos específicos a matrizes vegetais é comum encontrar recuperações de exatidão em uma faixa de 90-106% (ASHRAF & MIAN, 2008; IPEAIYEDA & DAWODU, 2011; QIN & CHEN, 2007; YEMANE et al., 2008).

Adicionalmente, a fim de verificar a possível interferência da matriz erva mate nas determinações por FAAS e FAES, foram realizados testes de adição e recuperação nos procedimentos de metais totais e disponíveis, nas diferentes frações, ou seja, nas folhas e nos ramos, conforme apresenta a tabela 6 e 7, respectivamente. As concentrações adicionadas foram escolhidas a partir de estudos prévios, no qual optou-se por trabalhar com a adição da concentração de cada analito referente ao ponto médio de sua faixa de trabalho.

Tabela 6: Recuperações observadas (%) no teste de adição e recuperação para os metais totais nas amostras EMC4F (A) e EMC6R (B) (n=4)

Analito		[] amostra	[] adicionada	[] amostra fortificada	Recuperação (%)
Ca	A	6.060 ± 85,77	16.252 ± 635,32	22.313 ± 635,32	108,5
	B	4.880 ± 26,02	17.255 ± 868,67	22.135 ± 868,67	115,4
Fe	A	217,94 ± 5,35	362,48 ± 18,37	580,43 ± 18,37	96,9
	B	78,45 ± 10,81	390,24 ± 24,12	468,69 ± 24,12	104,3
K	A	10.077 ± 7,84	60.830 ± 217,77	70.907 ± 217,77	101,5
	B	5.388 ± 1,52	56.164 ± 15,21	61.552 ± 15,21	93,7
Mg	A	1.896 ± 158,64	3.474 ± 173,43	5.371 ± 173,43	96,7
	B	1.377 ± 157,59	3.364 ± 103,46	4.742 ± 103,46	93,6
Mn	A	1.976 ± 1,54	887,20 ± 351,90	2.863 ± 351,90	94,7
	B	599,11 ± 0,17	767,72 ± 56,85	1.366 ± 56,85	82,0
Zn	A	53,97 ± 0,74	44,54 ± 2,47	98,51 ± 2,47	119,0
	B	32,84 ± 1,40	43,62 ± 2,06	76,45 ± 2,06	116,5

*Alíquotas de 1 mL de solução padrão de cada elemento foram adicionadas previamente ao processo de decomposição (vide APÊNDICE 1).

Tabela 7: Recuperações observadas (%) no teste de adição e recuperação para os metais solúveis, na infusão e decocção.

Analito		[] amostra	[] adicionada	[] amostra fortificada	Recuperação (%)
Ca*	A	916,00±150,37	88,84±65,19	1.004±81,82	91,2
	B	590,08±26,30	30,27±22,54	620,36±58,17	95,2
Ca**	A	947,70±117,04	27,03±25,03	974,73±81,64	97,2
	B	685,45±47,97	59,22±19,12	744,68±75,01	92,1
Fe*	A	0,36±0,03	1,34±0,02	1,69±0,05	80,1
	B	0,31±0,05	1,29±0,03	1,60±0,09	81,8
Fe**	A	6,27±0,20	2,46±0,02	8,73±0,20	83,3
	B	5,61±0,20	2,25±0,18	7,86±0,46	84,1
K*	A	10.434±618,95	2.450±276,03	12.885±1.009,32	81,0
	B	10.758±197,13	1.007±65,01	11.765±105,18	91,4
K**	A	2.649±64,00	493,96±40,06	3.143±108,04	118,7
	B	9.762±514,13	1.186±243,61	10.948±169,61	112,2
Mg*	A	851,66±16,08	125,94±10,56	977,59±31,02	114,8
	B	654,08±35,69	0,88±12,50	654,96±18,02	100,1
Mg**	A	458,07±23,44	37,92±14,22	495,99±43,54	92,4
	B	474,38±14,87	4,53±1,79	478,91±40,11	99,1
Mn*	A	827,20±56,83	39,66±23,44	866,86±32,69	95,4

	B	806,97±33,31	17,75±10,42	824,72±65,17	102,2
Mn**	A	2.625±77,26	23,56±6,18	2.649±164,69	100,9
	B	1.464±75,58	27,64±0,96	1.492±75,94	101,9
Zn*	A	7,64±0,49	0,10±0,02	7,74±0,27	104,5
	B	3,96±0,47	1,08±0,17	5,04±0,23	83,3
Zn**	A	7,86±0,27	0,68±0,22	8,53±0,58	92,4
	B	18,62±0,24	1,57±0,53	20,19±4,03	99,1

*Alíquotas de 1 mL de solução padrão de cada elemento foram adicionadas previamente ao extrato aquoso (vide APÊNDICE 1).

* amostras EMO1F (A) e EMO5R (B) (n=4) usadas na infusão

** amostras EMO1F (A) e EMC7R (B) (n=4) usadas na decocção

Quanto às adições dos analitos na digestão dos metais totais (tabela 6), as porcentagens de recuperação situaram-se entre 82,0 e 119,0% enquanto que os metais extraídos em água (tabela 7), a variação percentual de recuperação observada nos ensaios de adição ficou em uma faixa de 80,1 até 114,8%. Esses resultados de recuperação demonstram a concordância entre os teores de metais obtidos pelos métodos e a faixa estabelecida, que se situa de 80 à 120% (ANVISA, 2017). Assim, os resultados apresentados demonstram que tanto o método de preparo de amostra quanto a detecção analítica estão adequados para as análises propostas, não havendo interferência da matriz nas determinações.

6.1.3 Precisão

A precisão do método foi avaliada pela repetibilidade/repetitividade e precisão intermediária, a partir de um total de quatro bateladas de digestão, sendo que em cada uma dessas havia tubos de branco, tubos contendo a amostra de folha de erva-mate (EMC4F) e três tubos com as fortificações na amostra de folha. Os resultados notados para a precisão intermediária são apresentados na tabela 8.

Tabela 8: Concentração, desvio padrão e RSD dos elementos totais Fe, Zn, Mn, K, Mg e Ca obtidos para a mesma amostra processada em dias diferentes (n=3).

Batelada de decomposição	Fe mg kg⁻¹	Zn mg kg⁻¹	Mn mg kg⁻¹	K mg kg⁻¹	Mg mg kg⁻¹	Ca mg kg⁻¹
1	192,71	57,12	1.943	9.809	4.329	6.475
2	187,68	51,08	1.865	9.940	3.895	5.142
3	166,98	57,88	1.946	9.212	3.898	5.369
4	157,29	58,03	2.102	10.171	4.764	6.492
5	167,93	57,44	2.185	9.329	4.333	6.940
6	147,05	52,69	2.184	9.937	4.769	6.035
7	157,29	55,99	2.585	9.948	3.898	5.567
8	167,93	55,28	2.344	9.696	4.333	5.682
9	147,05	56,69	2.347	9.707	3.900	5.608
10	206,18	57,64	2.899	7.850	4.714	6.120
11	190,569	58,313	2.978	8.705	3.839	5.476
12	190,67	56,32	2.980	6.997	4.278	5.751
Média	189,12	56,91	2.264	9.702	4.304	5.717
Desv. Padrão	26,56	2,23	407,34	969,52	361,16	533,45
RSD (%)	14,1	3,9	17,9	9,9	8,4	9,3

A precisão para esse tipo de matriz vegetal, expressa por valores de RSD, comumente encontra-se com valores menores que 10% e essa porcentagem de variação se dá devido às digestões, que na maioria dos casos, se realizam em sistema aberto ou que faça uso de vidraria aberta, além de utilizar massas relativamente pequenas, o que leva a uma maior incerteza (ASHRAF & MIAN, 2008; KARA, 2009; M;

SALAHINEJAD; AFLAKI, 2010). No estudo em questão, os valores de precisão ficaram entre 3,9 e 17,9% de RSD entre as médias de uma mesma amostra, ou seja, valores menores que 20% que é o estabelecido na resolução 166 da ANVISA (2017). Assim, os resultados observados para a precisão intermediária, mostraram que o método de preparo da amostra em dias diferentes, de forma geral, não alterou as concentrações dos analitos e por tanto, demonstrou ser confiável e reprodutível.

6.2 Acumulação e metabolização dos minerais nas amostras

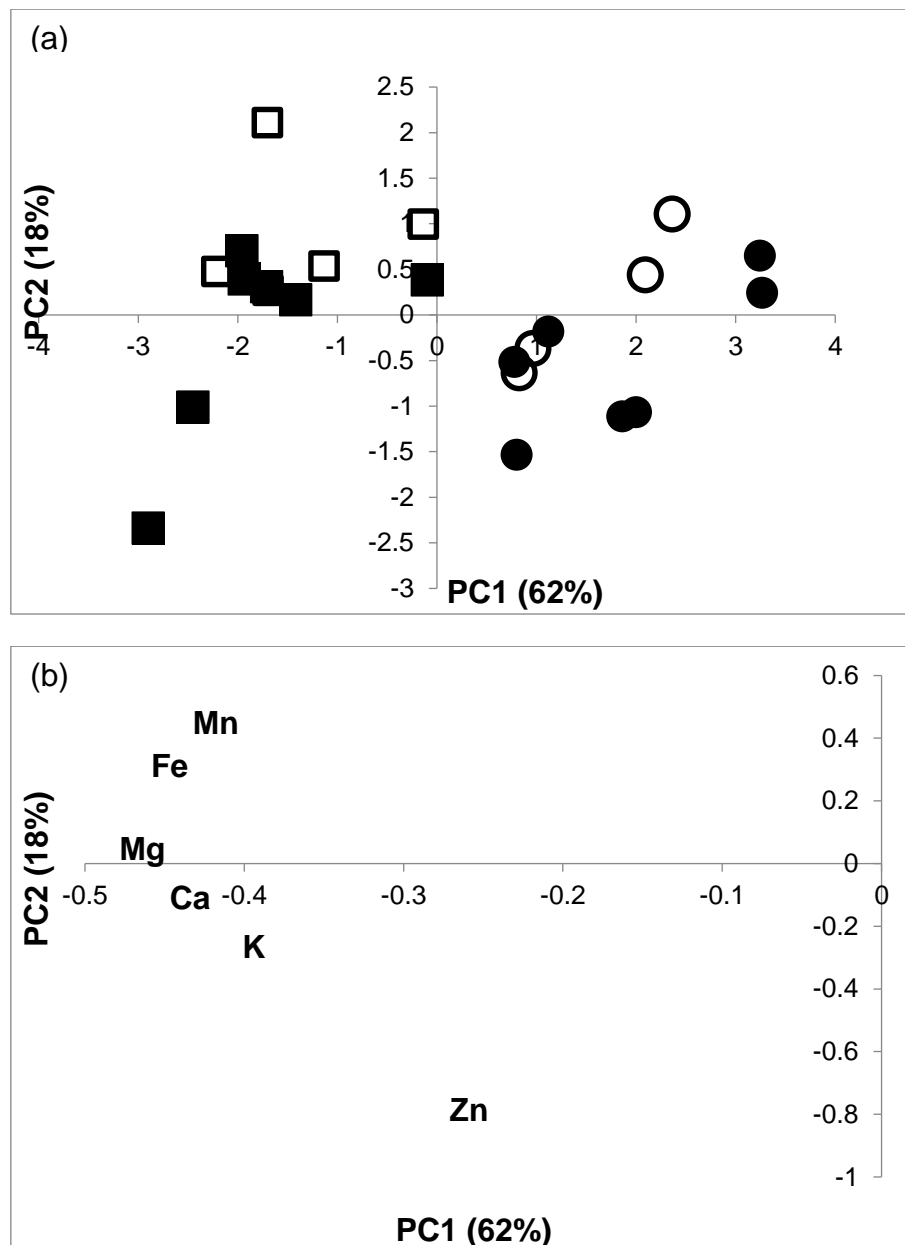
6.2.1 Teor de metais totais nas amostras

Para melhor visualização e correlação dos resultados obtidos, baseado nos valores de concentrações determinados experimentalmente (APÊNDICE 2), foram realizadas Análises de Componentes Principais (PCA, do inglês *Principal Component Analysis*).

As Análises de Componentes Principais foram realizadas em três conjuntos de dados. Primeiramente foi utilizado o conjunto total, na sequência, folhas e ramos foram analisadas separadamente. Para facilitar o entendimento, em todos os gráficos de scores, ramos estão representados como círculos e folhas como quadrados, adicionalmente, amostras com cultivos convencionais estão representadas por símbolos (círculos ou quadrados) preenchidos e as amostras com cultivos orgânicos por símbolos (círculos ou quadrados) vazados. Utilizando o conjunto total dos dados, observou-se que as três primeiras componentes principais representaram 62, 18 e 12% da variância total dos dados, respectivamente, portanto, essas três componentes explicam cerca de 92% da variância total dos dados.

A figura 2 mostra os gráficos de scores e loadings da PC1 versus PC2. Foi possível observar uma clara separação dos dados entre folhas e ramos, com o grupo composto por folhas (quadrados) localizados no quadrante negativo da PC1 e o grupo composto por ramos no quadrante positivo da PC1. Ao analisar o gráfico de loadings observa-se que todos os elementos se agrupam no quadrante negativo da PC1, sugerindo que há um maior armazenamento desses nutrientes nas folhas em detrimento aos ramos. Contudo, a separação entre amostras de cultivo orgânico e convencional não ficou evidente nessa análise.

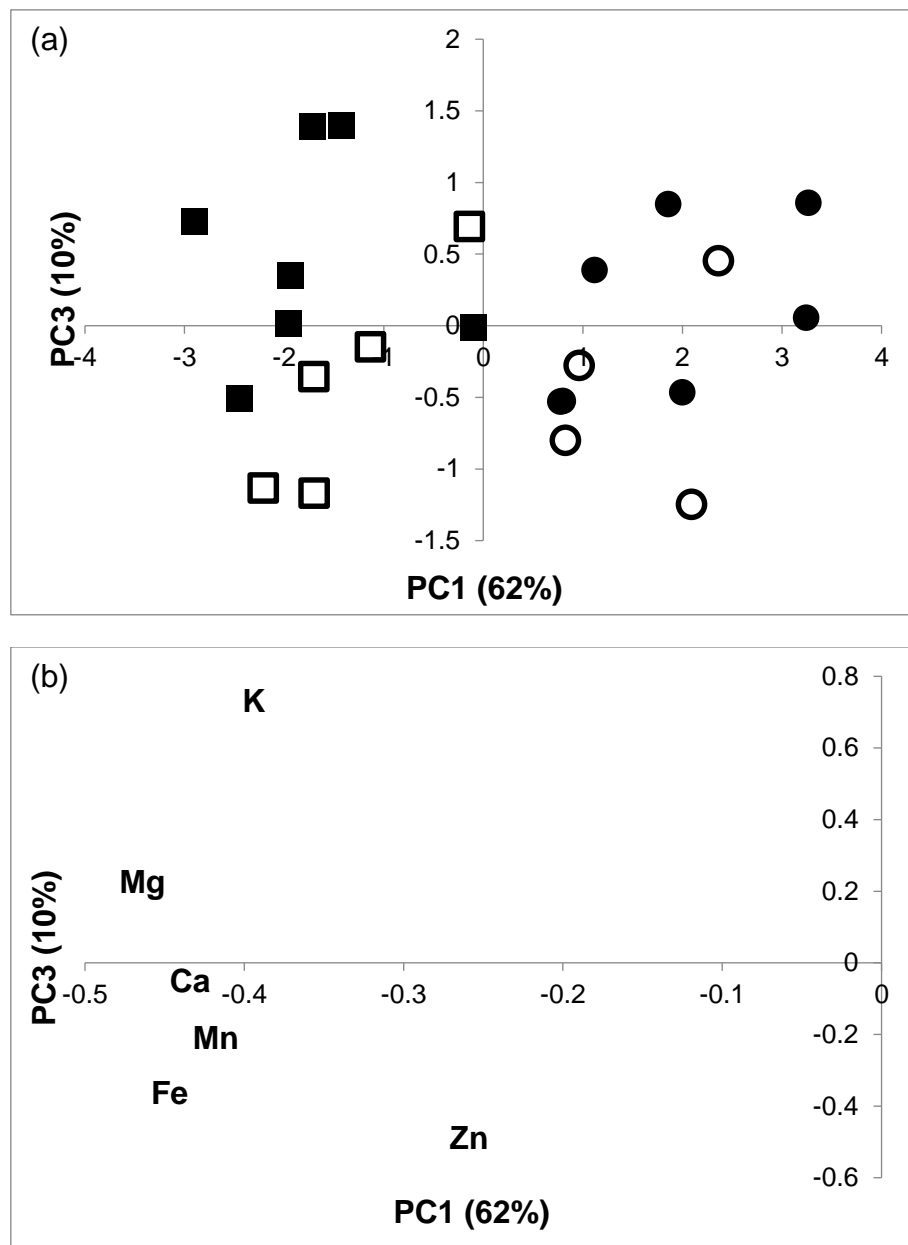
Figura 2: PC1 x PC2 gráficos de (a) scores e (b) loadings de amostras de erva-mate diferenciadas entre ramos (círculo) e folhas (quadrados) e cultivo orgânico (vazados) e convencional (preenchidos).



Dessa forma, foram avaliados os gráficos de scores e loadings de PC1xPC3 (figura 3). Nessa análise os grupos de folhas e ramos mantiveram-se separados em função da PC1, com os todos elementos descrevendo o grupo das folhas, porém foi perceptível uma melhora na separação entre os cultivos para o grupo das folhas, sendo

observada uma caracterização das amostras convencionais por K e Mg enquanto Ca, Mn, Fe e Zn caracterizaram o grupo de amostras orgânicas. A separação entre as amostras de ramos, entretanto, não ficou tão evidente, mas é possível observar uma tendência de separação semelhante ao grupamento das folhas.

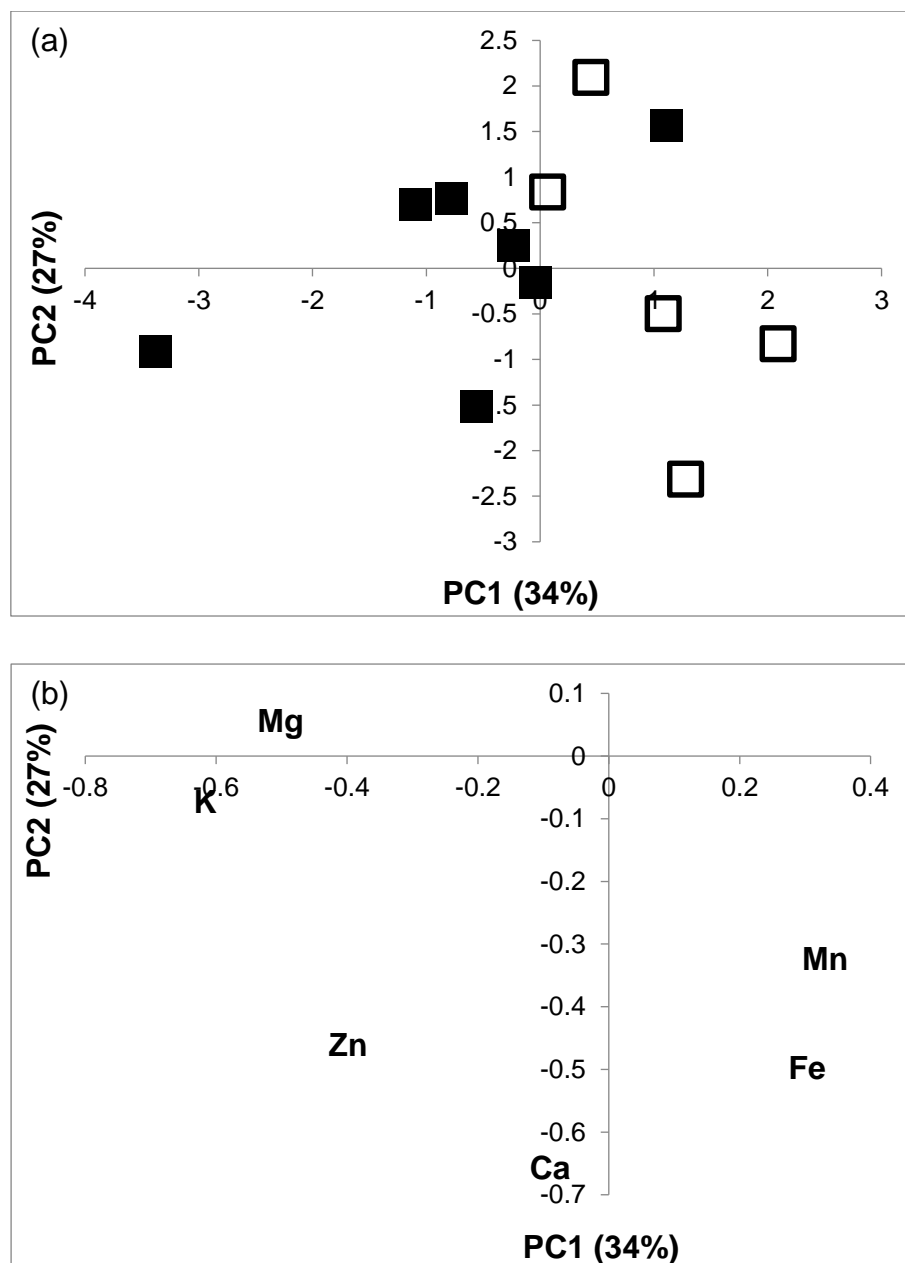
Figura 3: PC1 x PC3 gráficos de (a) scores e (b) loadings de amostras de erva-mate diferenciadas entre ramos (círculo) e folhas (quadrados) e cultivo orgânico (vazados) e convencional (preenchidos).



Como se pode observar uma clara diferença no comportamento entre folhas e ramos, optou-se por analisar separadamente os grupos. Primeiramente avaliando o grupo composto pelas amostras de folhas (figura 4), as duas primeiras componentes

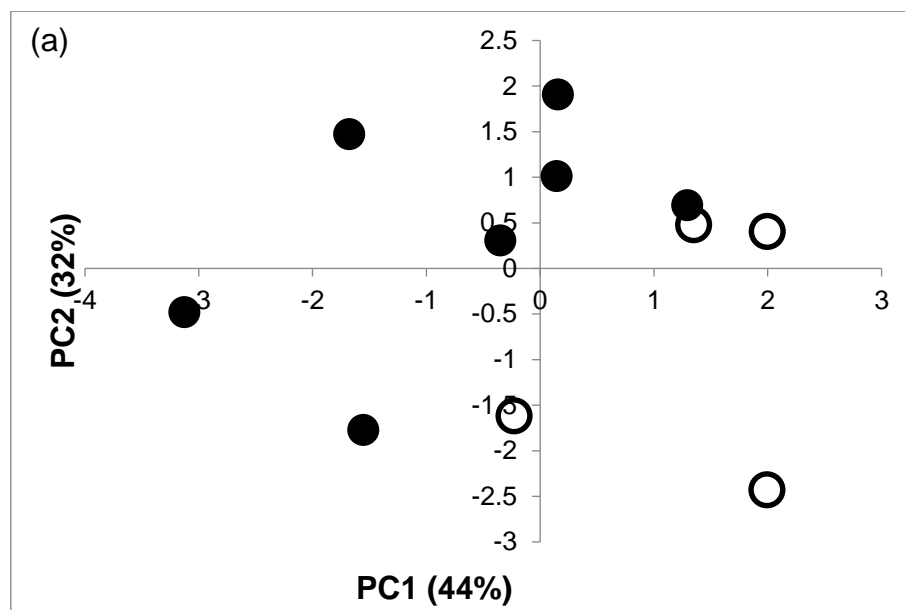
principais representaram 34 e 27% da variância total dos dados, respectivamente, explicando cerca de 61% da informação total. Nessa análise a separação decorrente dos diferentes cultivos ficou mais evidente, onde as amostras orgânicas se agruparam no quadrante positivo da PC1 sendo caracterizadas por Mn e Fe enquanto as amostras convencionais, no quadrante negativo, foi caracterizada por Ca, K, Mg e Zn.

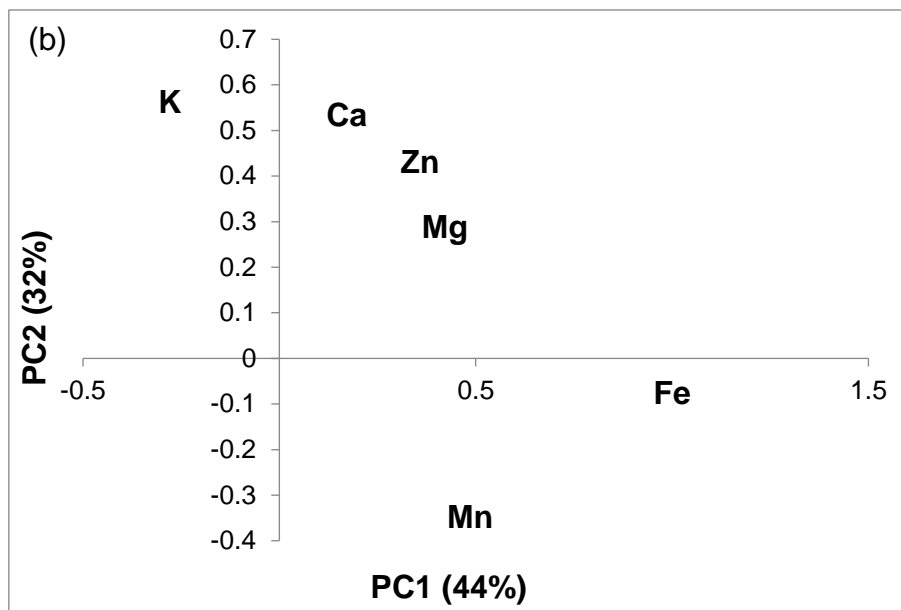
Figura 4: PC1 x PC2 gráficos de (a) scores e (b) loadings de amostras das folhas de erva-mate diferenciadas entre cultivo orgânico (quadrados vazados) e convencional (quadrados preenchidos).



Na análise do grupo composto pelas amostras de ramos (figura 5), as duas primeiras componentes principais representaram 44 e 32% da variância total dos dados, respectivamente, explicando cerca de 76% da informação total. Nessa análise a separação decorrente dos diferentes cultivos ficou mais evidente que na análise do grupo das amostras das folhas, sendo as amostras convencionais agrupadas no quadrante negativo da PC1 e as amostras orgânicas ao redor quadrante positivo da PC1 e negativo da PC2. Nos ramos então, os elementos Fe e Mn continuam caracterizando o sistema orgânico, porém as amostras convencionais são caracterizadas apenas por K, sendo que, nessa análise, evidenciou-se que Ca, Mg e Zn passam a caracterizar os dois tipos de cultivo.

Figura 5: PC1 x PC2 gráficos de (a) scores e (b) loadings de amostras de ramos de erva-mate diferenciadas entre cultivo orgânico (círculos vazados) e convencional (círculos preenchidos).





Os resultados apresentados para os metais totais são semelhantes aos relatados na literatura (REISSMANN et al., 1985; HEINRICHS e MALAVOLTA, 2001; SAIDELLES et al., 2010; PEREIRA et al, 2016). Essas concentrações características dos elementos minerais se dão justamente pelo fato que a erva-mate, por ser produzida em solos argilosos, possuir uma grande facilidade em reter água e cátions (COLOMBO, 2010). Os cátions retidos nas partículas de argila (fração silicatada) são posteriormente liberados para o solo, através da troca catiônica, ou seja, é um solo rico em minerais, o que conseqüentemente favorece o melhor desenvolvimento da planta.

Há uma tendência de acúmulo dos minerais nas folhas em detrimento aos ramos, essa observação é corroborada por Zöttl (1973), que relata que com exceção dos frutos, são as folhas que detém o maior teor de nutrientes, devido ao maior fluxo transpiratório. Quanto ao cultivo, podemos observar que em todas as análises realizadas, o elemento K caracterizou as amostras convencionais e os elementos Fe e Mn as amostras orgânicas. Os elementos Ca, Mg, e Zn variaram em função da parte da planta analisada, enquanto caracterizaram as amostras convencionais na análise das folhas, não apresentaram diferença entre os cultivos na análise dos ramos. De acordo com Prado (2008), os elementos após serem absorvidos e transportados pela planta, podem se redistribuir de forma igual ou diferente da absorvida, variando conforme a sua mobilidade no sistema vegetal.

Dessa maneira, é necessário investigar a absorção e a redistribuição dos nutrientes metálicos, conforme a tendência individual de cada um no corpo vegetativo, bem como se o sistema de cultivo provoca diferenças nesses processos, devido à

formação de compostos metabólicos secundários ou a partir da própria disponibilidade do elemento na solução do solo para as raízes das plantas. Para isso, discutiu-se cada elemento separadamente a seguir.

FERRO:

Os teores de Fe encontrados nas amostras de folhas e ramos de erva-mate convencionais e orgânicas (APÊNDICE 2), mostraram-se semelhantes aos mencionados na literatura. Heinrichs e Malavolta (2001) relatam em seu trabalho valores entre 103 e 286 mg kg⁻¹.

As concentrações de Fe total encontradas neste trabalho mostram-se superiores nos produtos orgânicos, tanto nas folhas quanto nos ramos, visto que quanto maior for o pH do solo e a concentração de P (ambos, em geral, mais expressivos em cultivo convencional), menor a disponibilidade do Fe para as raízes das plantas (PRADO, 2008) Resultados semelhantes já foram observados por Schuphan (1974), que percebeu um aumento de 77% na concentração de Fe em espinafre orgânico frente ao convencional, além disso, Worthington (2001) indicou em uma revisão da literatura científica sobre produtos orgânicos, a tendência de teores de ferro 21% superiores em produtos orgânicos. Ainda de acordo com Worthington (2001), um outro possível fator de influência para essa melhor absorção de Fe por plantas orgânicas pode estar relacionada com o maior desenvolvimento de microorganismos, favorecidos pelo manejo do solo. Esses microorganismos, responsáveis pela síntese de ácidos orgânicos, promovem uma redução do pH do solo, que leva a uma maior disponibilização do ferro e outros elementos, bem como aumentam a complexação com o Fe, sendo mais aproveitado então pela planta (WORTHINGTON, 2001).

ZINCO:

O zinco apresentou-se em concentrações bem menores que o Fe, sendo as concentrações encontradas nesse trabalho (APÊNDICE 2) superiores aos valores encontrados por Heinrichs e Malavolta (2001), de 38 à 43 mg kg⁻¹. Essas baixas concentrações são devido ao fato de que a maior fração de Zn presente no solo está associada a compostos de Fe e ácidos húmicos, pouco disponíveis para absorção da planta (PRADO, 2008). Apenas uma pequena fração de Zn restante no solo fica efetivamente disponível para absorção pela planta. Além disso, sua disponibilidade é afetada pelo pH de cultivo, podendo diminuir cerca de 100 vezes com o aumento de

uma unidade de pH, devido a sua adsorção ou precipitação como carbonatos presentes no solo. Nos casos em que ocorrem a adsorção, o Zn é adsorvido mais facilmente na estrutura do carbonato de magnésio, uma vez que ocupa o lugar do Mg na superfície do cristal e quando há precipitação, o Zn precipita na forma de hidróxido ou carbonato de zinco (TISDALE; NELSON; BEATON, 1985).

Assim, como mencionado acima, além da dificuldade em ser absorvido pela planta, cerca de 60% do Zn absorvido passa para a forma de complexos orgânicos solúveis na planta (SUTCLIFFE; BAKER, 1989), contudo, como esses complexos apresentam baixa constante de estabilidade, o Zn que é absorvido pela planta é transportado na forma de Zn^{2+} . Por estar na forma iônica, atua como um bom substrato, encontrando-se na composição de enzimas da planta, estando presente na síntese de mais de 1.200 proteínas, que o contém, se ligam ou o transportam, sendo então muito pouco aproveitado pelo xilema e por isso as baixas concentrações encontradas na planta (SUTCLIFFE; BAKER, 1989).

No presente estudo, foi observado, nas amostras de folhas, diferenças relacionada a cultivo, sendo a sua concentração maior nas amostras de cultivo convencional. Isso pode ser justificado devido ao maior teor de matéria orgânica, característico ao sistema orgânico, incidência maior de ácidos húmicos e fúlvicos que formam complexos estáveis com o Zn, levando a uma maior retenção e acarretando uma indisponibilização para a absorção da planta (PRADO, 2008). Nos ramos essa diferença não foi observada, possivelmente devido à baixa translocação desse elemento pela planta.

✚ MANGANÊS

O Mn foi o micronutriente analisado mais abundante nas amostras, mostrando sua alta tendência à absorção vegetal. Em geral, a concentração de Mn nas folhas situa-se entre 30-500 mg kg⁻¹, porém, algumas espécies de plantas são tendenciosas à acumulação desse elemento em sua estrutura, sem qualquer efeito de toxicidade (DOU, et al., 2009). Reissmann *et al.* (1983) ressaltam que altas concentrações de Mn estão de acordo com o comportamento das essências florestais e que, para a erva-mate, são comuns valores acima de 1.000 mg kg⁻¹, corroborando aos valores encontrados nesse estudo (APÊNDICE 2).

Sob condições de solo ácido, com alto teores de matéria orgânica e arenosos, condições características dos solos para cultivo de erva mate, a disponibilidade do Mn é alta, devido a maior disponibilidade da espécie Mn^{+2} , forma que plantas o absorvem

(PRADO, 2008), isso explica os altos teores encontrados nessa cultura. Assim, sua absorção vegetal dependerá exclusivamente da capacidade de transferência do elemento na interface solo-raiz, ou seja, a capacidade de converter o Mn do solo para a forma Mn^{+2} , bem como do conteúdo total de Mn disponível presente no solo (BOOJAR; GOODARZI, 2008).

Quanto ao cultivo, o Mn foi um dos elementos que caracterizou o cultivo orgânico. Uma possível justificativa para tal observação pode ser a adição de compostos orgânicos ao solo, que criam um ambiente redutor, diminuindo o suprimento de O_2 , decorrente da intensa atividade microbiana, e produzindo compostos orgânicos que levam a uma maior dissolução do Mn e um teor elevado em solução (HUE et al., 2001).

POTÁSSIO:

Dentre os macronutrientes estudados, o K foi o elemento mineral que apresentou maiores concentrações totais nas amostras de erva-mate, semelhantes aos descritos por Heinrichs e Malavolta (2001) 12.000,00 à 14.000,00 $mg\ kg^{-1}$. Essas altas concentrações indicam uma boa absorção nas plantas vegetais e, de acordo com Faquin (2005), o K é bastante permeável nas membranas plasmáticas e isso o torna facilmente absorvido, sendo transportado a longa distância pelo xilema e pelo floema.

Em relação a sua absorção entre folhas e ramos, há uma diferença nas concentrações, porém não são tão discrepantes. Isso se deve ao fato de que a maior parte do K total da planta está na forma solúvel (superior a 75%), portanto, a sua redistribuição é boa (RACHWAL et al., 2000), deslocando-se com maior facilidade entre o corpo vegetativo. Assim, visto que o K é redistribuído para órgãos em crescimento, a medida que a planta se desenvolve, sugere-se ocorrer grande translocação deste elemento das folhas e ramos (LEITÃO, 1998).

Nesse trabalho, segundo as PCA's, o K encontra-se caracterizando as ervas-mate convencionais, o oposto registrado no trabalho de Dortzbach (2009), que relatou que os níveis de K disponibilizados para a planta em solos com tratamento orgânico são maiores que os convencionais. Contudo, os maiores teores de K nos alimentos convencionais podem ser decorrentes tanto do teor inicial de K que já é expressivo no solo, como do seu acúmulo pela adubação potássica (MEURER et al., 1996).

CÁLCIO:

As concentrações de Ca nas amostras foram moderadas tendo neste estudo concentrações semelhantes às observadas por Heinrichs e Malavolta (2001), que

determinaram valores de 6.000,00 à 6.600,00 mg kg⁻¹. Mesmo que o solo de plantio seja abundante em Ca, sua absorção pela a planta é limitada, praticamente metade em relação ao K, devido ao efeito competitivo entre esses elementos. Quando absorvido do solo para a planta, a maior parte desse elemento encontra-se em formas insolúveis em água (pectatos de cálcio), podendo ocorrer também na forma de sais cálcicos de baixa solubilidade (carbonato, sulfato, fosfato, silicato, citrato, malato, oxalato) (FAQUIN, 2005), ou seja, mesmo sendo requerido como macronutriente pela planta, sua disponibilidade para o corpo vegetativo é comprometida.

Segundo Prado (2008), a taxa de redistribuição do Ca é muito pequena, devido sua concentração no floema ser muito baixa, indicando uma acumulação preferencial desse elemento para a parte das folhas e tais resultados se devem justamente ao fato das formas insolúveis ou pouco solúveis de Ca na estrutura da planta.

Com relação ao processo de cultivo, analisando os dados obtidos para as amostras de folhas, é possível observar o Ca como um dos elementos que caracterizam o sistema convencional, enquanto que nos ramos não apresentou diferença entre os sistemas. Segundo Prado (2008), o Ca presente no solo encontra-se adsorvido aos coloides do solo e as partículas de matéria orgânica, e como no manejo orgânico há um maior conteúdo desses compostos, o Ca fica em parte adsorvido às cargas negativas do solo, isso é, indisponíveis para a absorção da planta. Os teores de Ca e Mg moderados também podem estar relacionados com a competição destes nutrientes no processo de absorção pelas raízes da planta, sendo que a disponibilidade destes na solução do solo é reduzida ou inibida por altas concentrações de K⁺ e NH₄⁺ (MALAVOLTA et al., 2006), ou seja, o tipo de adubação utilizada no cultivo pode vir a afetar indiretamente a concentração dos elementos. Quanto às amostras de ramos, a baixa taxa de redistribuição do Ca pode ser um fator determinante na não observação de diferença entre os cultivos.

MAGNÉSIO:

Dentre os macronutrientes, o Mg foi o que se apresentou em menores concentrações, tendo teores de 5.876,74 para folhas e 2.862,00 para ramos convencionais e 5.495,85 para folhas e 3.656,08 para ramos orgânicos, sendo que Heinrichs e Malavolta (2001) encontraram valores médios entre 4.300,00 e 5.200,00 mg kg⁻¹. Esses valores menores podem ser justificados devido ao fato de que o transporte do Mg²⁺ das raízes para a parte aérea ocorre pelo xilema via corrente transpiratória, basicamente na forma como

foi absorvido (Mg^{2+}) (PRADO, 2008), mas o Mg^{2+} por ser um íon pequeno e com grande raio de hidratação, tem sua absorção reduzida por íons como K^+ , NH_4^+ , Ca^{2+} e Mn^{2+} e pelos H^+ em baixo pH (KERBAUY, 2004), ou seja, como as mostras analisadas possuem altas concentrações de K, Ca e Mn há um forte efeito competitivo, diminuindo a absorção de Mg para a planta.

Em relação a sua acumulação no corpo da planta, maiores concentrações foram observadas nas folhas, sendo que as convencionais apresentaram uma proporção de 1,80 vezes folha/ramo e nas orgânicas 1,42x. Acredita-se que isso deve a que nos tecidos das plantas, cerca de 70% do Mg é encontrando na forma difusível e associado com ânions inorgânicos e orgânicos, como o malato e citrato, e 30% associado à ânions indifusíveis como o oxalato e pectato, além da fração ligada à clorofila. Por isso, como a maior parte do Mg na planta encontra-se na forma difusível e o elemento é considerado móvel no floema, há uma boa interrelação de redistribuição entre o sistema vegetativo.

Seria de se esperar concentrações mais expressivas de Mg nos produtos orgânicos (SMITH, 1993; WORTHINGTON, 2001), uma vez que a fertilização potássica mineral pode reduzir o conteúdo de Mg em algumas plantas. Quando K é adicionado ao solo, a quantidade de Mg absorvido pela planta é diminuída, devido ao fato que na fertilização convencional além do solo ser exposto a grandes quantidades de K (efeito competitivo), esse também se dissolve rapidamente na solução aquosa do solo, enquanto que no manejo orgânico são liberadas quantidades menores mais lentamente para o solo e raízes das plantas (BEAR et al., 1949; HANNAWAY et al., 1980). Contudo nesse trabalho observou-se comportamento inverso para amostras de folhas e nenhuma diferença para amostras de talos, o que pode estar relacionado às altas concentrações de Mn^{2+} e H^+ , que também são íons que influenciam na absorção do Mg nas raízes das plantas (KERBAUY, 2004), sendo que esses são característicos do cultivo orgânico.

6.2.2 Metais solúveis na fração aquosa e as porcentagens de disponibilidade desses nos dois métodos de extração testados

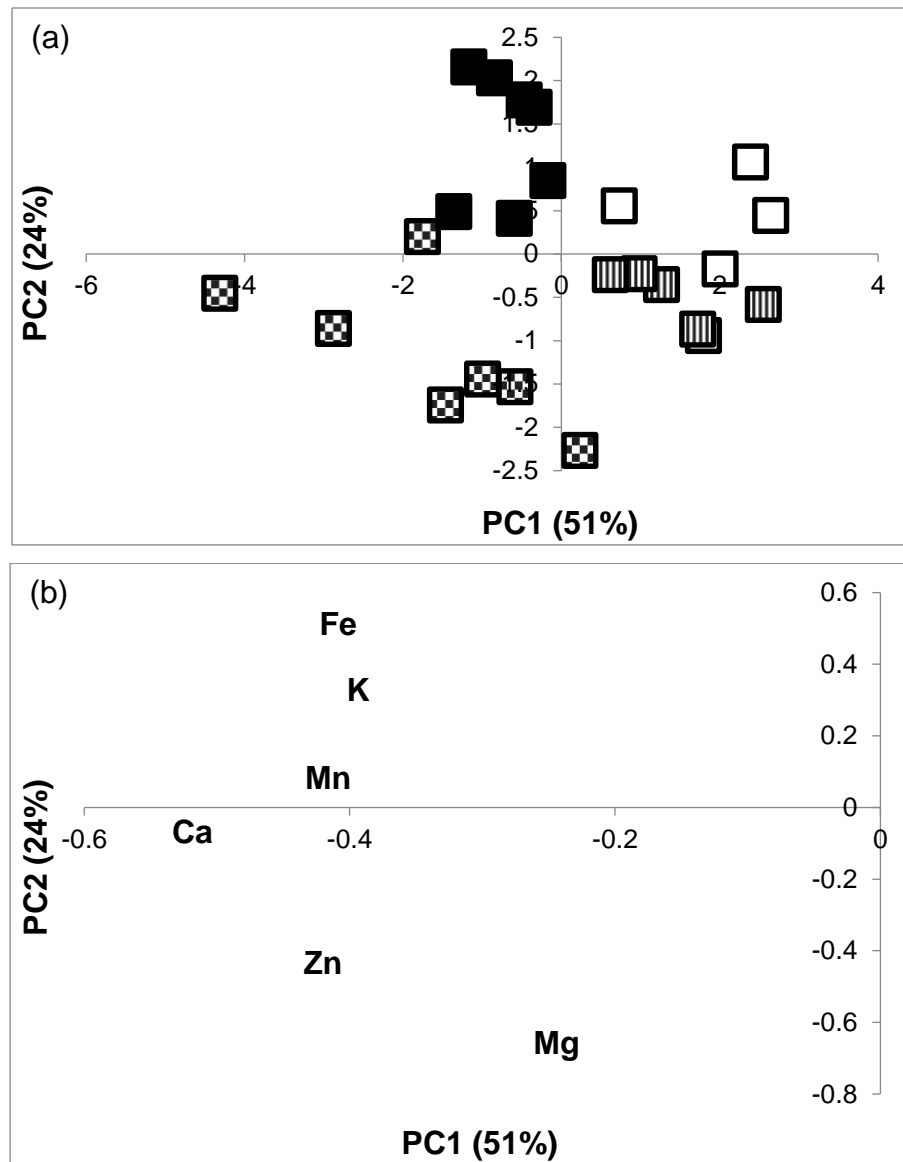
Com intuito de complementar as informações obtidas no capítulo sobre os metais totais, na segunda parte desse trabalho foi avaliado o teor dos minerais extraíveis na fração aquosa, representando os elementos mais prontamente disponíveis para ingestão na amostra. Dois processos de extração foram utilizados para esse fim, infusão e decocção, sendo o segundo considerado mais agressivo em função de parâmetros como o tempo de exposição à temperatura e a constante agitação decorrente da ebulição

da solução. No apêndice 3 estão sumarizados os dados obtidos para todos os analitos estudados nos dois processos de extração avaliados (infusão e decocção). Como no capítulo anterior, os resultados foram analisados por meio de análise de componentes principais (PCA), sendo aqui avaliadas as diferenças entre o cultivo, as partes da planta e os processos de extração.

Ao analisar o conjunto total dos dados obtidos para infusão e decocção, não foi possível tirar nenhuma informação relevante para o trabalho, por isso, serão apresentadas somente as análises de folhas e ramos separadamente. Nos gráficos de scores, como no capítulo anterior, ramos estão representados como círculo e folhas como quadrado. Infusões de amostras convencionais estão representadas como símbolos (círculos ou quadrados) preenchidos e infusões de amostras orgânicas, símbolos (círculos ou quadrados) vazados. Decocções de amostras convencionais, símbolos (círculos ou quadrados) quadriculados e decocções de amostras orgânicas símbolos (círculos ou quadrados) listrados.

Assim, quando analisadas apenas as concentrações das folhas nas PCA's, conforme ilustra a figura 6, as duas primeiras componentes principais representaram 51 e 24% da variância total dos dados, respectivamente, explicando cerca de 75% da informação total. É possível observar no gráfico de scores uma nítida distinção entre os processos de extração e o sistema de cultivo. Os procedimentos de extração foram separados pela PC2, o grupamento das infusões se localizou nos quadrantes positivos da PC2 enquanto as decocções no quadrante negativo. Os diferentes cultivos foram separados pela PC1, cultivo orgânico ficou disposto no quadrante positivo da PC1 e cultivo convencional no quadrante negativo. Avaliando o gráfico de loadings é possível observar que todos os elementos estudados nas folhas encontram-se no quadrante negativo da PC1, ou seja, caracterizando os produtos convencionais, sendo K, Fe e Mn melhores extraídos nas infusões e Ca, Mg e Zn nas decocções.

Figura 6: PC1 x PC2 gráficos de (a) scores e (b) loadings de amostras de folhas de erva-mate diferenciadas entre procedimentos de extração e cultivo. Infusões convencionais (quadrados preenchidos), decocções convencionais (quadrados quadriculados), infusões orgânicas (quadrados vazados) e decocções orgânicas (quadrados listrados).



Dessas informações, pode-se perceber que os elementos presentes em maior concentração na infusão (K, Fe e Mn) provavelmente estão sendo extraídos na forma iônica. Essa observação era esperada para o K, visto que este se encontra com concentrações na forma livre superiores a 75%, ou seja, um elemento com ótima extratibilidade, que pouco irá interagir com os componentes da matriz alimentar, devido a não formar ligações com compostos orgânicos (PRADO, 2008). O Fe e Mn, que na determinação dos teores totais eram característicos do sistema orgânico, nessa análise passam a caracterizar os alimentos convencionais. De acordo com Barboza (2006), os polifenóis constituem 20 a 30% da composição da erva-mate e são compostos solúveis em água, contudo em extrações acima de 60 °C tendem a formar complexos polifenólicos insolúveis com Fe (TASCIOGLU; KOK, 1998). O Mn tem a habilidade

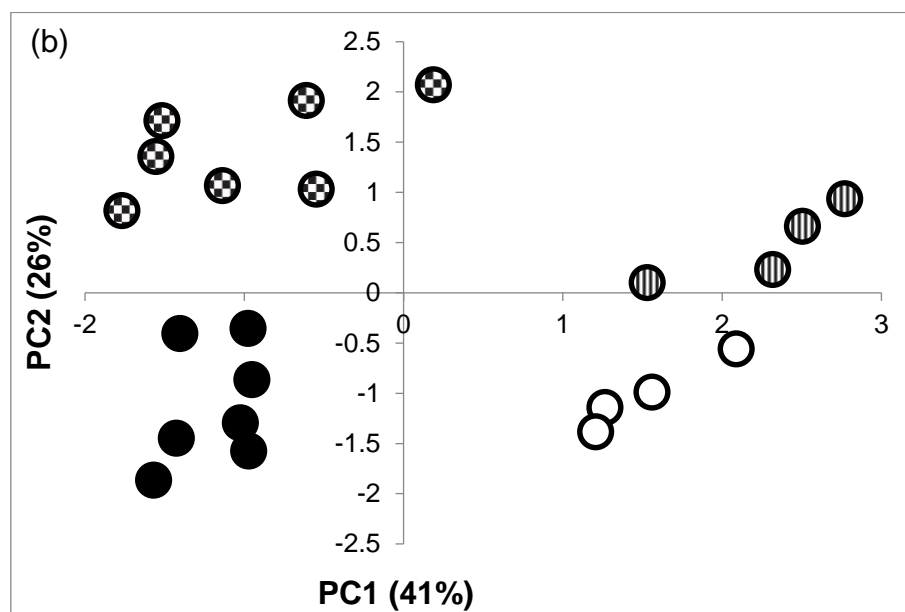
de formar complexos com espécies de ácidos orgânicos, como o citrato, malonato, oxálico e succinato, sendo que as ligações com citrato e malato são mais prováveis de ocorrer (PRADO, 2008). Cabe salientar que, em geral amostras orgânicas apresentam concentrações maiores, tanto de polifenóis quanto de ácidos orgânicos (STEVENSON; ARDAKANI, 1972; ZHENG; WANG 2001; KOŞAR et al., 2005; HOSSAIN et al., 2010; BERDOWSKA et al., 2013). A formação de complexos de Mn-(ácidos orgânicos) insolúveis podem ainda provocar a coprecipitação do K como contra-íon do complexo formado. Por fim, tanto ácidos orgânicos quanto polifenóis são mais extraídos no processo de decocção, além de, a maior exposição à temperatura e agitação decorrentes do processo de decocção, poder ser um fator importante na formação desses compostos insolúveis. Dessa forma, a maior concentração de Fe, Mn e K nas infusões convencionais, possivelmente na forma inorgânica, podem ser justificáveis.

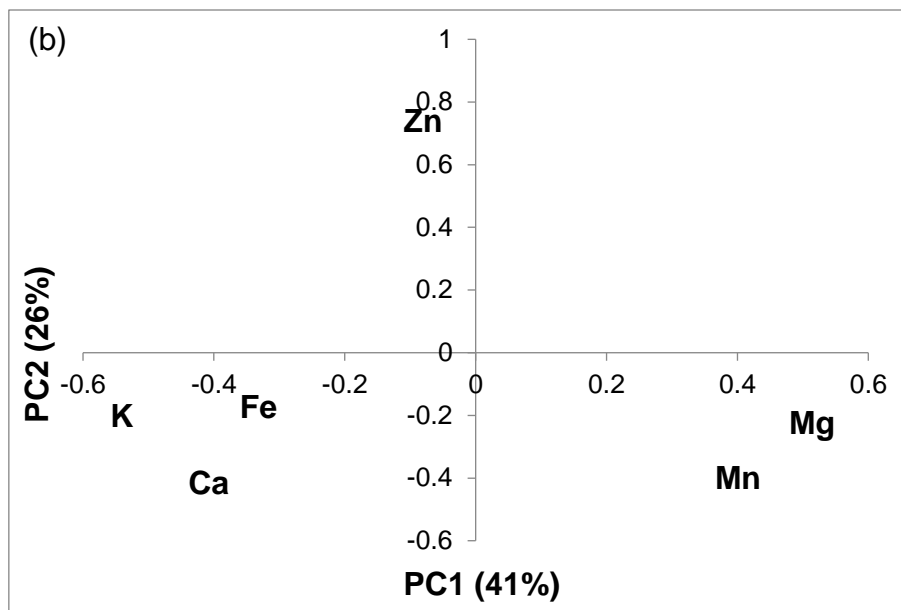
Com relação aos elementos mais extraídos por decocção, Ca, Zn e Mg, mesmo ainda sendo mais encontrados nas amostras convencionais, igualmente quando analisados os teores totais nas folhas, agora apresentaram-se nas folhas mais solúveis por decocção, indicando que a extração de compostos com ligações mais estáveis com a matriz é significativa para esses elemento, por isso necessitando de uma extração mais brusca. Com relação ao Ca, esse é utilizado pela planta na forma de pectato na estrutura celular vegetal, por meio dos complexos metálicos formado com pectinas, sua maior parte se encontra presa às paredes celulares (MALAVOLTA et al., 1997; MOSSION et al., 2008), cerca de 50%, segundo Prado (2008). Além disso, apresenta papel enzimático importante, pois ativa a formação proteínas termo-estáveis, como a Ca-Calmodulina, isso é, esse nutriente tende a ser menos hidrossolúvel, devido ao aumento da barreira hidrofóbica existente no tecido vegetal, precisando de uma extração mais brusca para romper essas ligações tão fortes. Analogamente, o Mg nas folhas encontra-se ligado à molécula de clorofila (20%) e também uma pequena parcela (10%) acompanhando o Ca na formação da parede celular, como elemento estrutural, além da fração complexada em ponte com moléculas energéticas (ATP e ADP) (PRADO, 2008). Quanto ao Zn, na planta faz parte da constituição de uma série de enzimas (PRADO, 2008), além de diversas proteínas (PRICE; CLARK; FUNKHOUSER, 1972), o que justifica sua maior extração através da decocção.

Os resultados observados para análise dos dados obtidos para amostras de ramos foram bastante semelhantes aos obtidos pelas folhas, conforme mostra a figura 7. As duas primeiras componentes principais representaram 41 e 26% da variância total dos

dados, respectivamente, explicando cerca de 67% da informação total. Novamente a PC2 evidenciou a separação entre os procedimentos de extração, contudo nessa análise o agrupamento das infusões se localizou nos quadrantes negativos da PC2 enquanto as decocções ficaram no quadrante positivo. Os diferentes cultivos foram separados pela PC1, cultivo orgânico disposto no quadrante positivo da PC1 e cultivo convencional no quadrante negativo. Diferentemente das folhas, nesse caso, analisando o gráfico de loadings, todos os elementos analisados caracterizam a infusão dos produtos convencionais (K, Fe e Ca) e orgânicos (Mn e Mg), exceto pelo Zn que é mais extraído na decocção das amostras de ervas-mate convencionais.

Figura 7: PC1 x PC2 gráficos de (a) scores e (b) loadings de amostras de ramos de erva-mate diferenciadas entre procedimentos de extração e cultivo. Infusões convencionais (círculos preenchidos), decocções convencionais (círculos quadriculados), infusões orgânicas (círculos vazados) e decocções orgânicas (círculos listrados).





Dessa análise, pode-se observar que os elementos Zn, K, Ca e Fe continuam sendo mais extraídos nos produtos convencionais, enquanto que Mn e Mg agora passam a caracterizar os produtos orgânicos, todos na infusão, sendo que nas folhas Zn, Ca e Mg eram mais extraídos na decocção. Assim, nos ramos apenas o Zn foi mais solúvel na decocção.

Acredita-se aqui que a explicação dada nas folhas para K, Fe e Zn continua se aplicando nos ramos. Com relação ao Mn que agora passa a caracterizar o sistema orgânico, pode estar relacionado ao valor de pH uma vez que o manganês apresenta maior solubilidade e disponibilidade sob condições ácidas. Em solução, a elevação de uma unidade no valor do pH diminui em 100 vezes a concentração do elemento, reforçando a ideia de que esse elemento está na planta na forma iônica, sendo susceptível às mudanças de pH (PRADO, 2008). O Mg, acredita-se que nos ramos, diferente das folhas, está sendo extraído por meio da fração iônica que não está comprometida na formação da clorofila, pois segundo Prado (2008), uma parte importante do Mg absorvido pela planta permanece na forma iônica, sendo solúvel em água. Quanto a sua maior extratibilidade nas infusões orgânicas, acredita-se que haja uma maior extração de íons fosfatos nas amostras convencionais e que sua extração seja mais eficiente nas decocções, dessa forma diminuindo a solubilidade do Mg. Com relação ao Ca, a parte que é translocada para os ramos é aquela que se encontra na forma de sais cálcicos de baixa solubilidade, como o carbonato, sulfato, fosfato, silicato, citrato, malato e oxalato (PRADO, 2008), justificando sua extração por infusão, sendo que provavelmente se encontra nas infusões convencionais por causa dos teores totais

são mais expressivos nesse sistema. Quanto ao Zn, que foi o único elemento nos ramos que caracterizou a decocção, pois o Zn é o único micronutriente que não tem atividade redox, ou seja, não se oxida ou reduz durante o transporte, visto que tem a tendência de formar complexos tetraédricos, que são ligações mais fortes (PRADO, 2008). Isso justifica sua superioridade na extração por decocção.

Alguns estudos já relacionaram as diferenças nas eficiências de extração de nutrientes minerais essenciais por procedimentos de infusão e decocção. Assis (2015), mostrou que em amostras de chás, maiores teores de Fe e Mn solúveis são encontrados por decocção e Zn por infusão. Pereira Junior e Dantas (2016) obtiveram resultados semelhantes na determinação de vários elementos em chás medicinais, apresentando concentrações de Fe, Mn, Ca e Mg maiores na decocção e Zn variando igualmente entre infusão e decocção. Esse comportamento também foi corroborado pela pesquisa de Randelović e colaboradores (2013), que no estudo de plantas medicinais encontrou resultados de Fe, Zn e Mn maiores nos extratos decoctos, em relação aos infusos. Mais especificamente em amostras de erva-mate, Sanz e Isasa (1991) determinaram o conteúdo de sódio, potássio, cálcio, magnésio, cobre, ferro, manganês e zinco em duas marcas comerciais de erva-mate, analisando a infusão e a decocção dessas, obtendo um elevado conteúdo mineral com destaque para os níveis de potássio, magnésio e manganês. (Sanz e Isasa, 1991 *apud* Pandolfo, 2003)

Nos resultados obtidos nesta pesquisa, alguns parâmetros que influenciam a extratibilidade dos elementos foram levados em conta, o tempo de exposição ao solvente em ambos os procedimentos foi fixado em 15 minutos, porém, a temperatura da decocção foi mantida constante em chapa de aquecimento durante o tempo de preparo, enquanto que nas infusões a temperatura inicial da água foi a temperatura de ebulição, contudo, como o aquecimento não foi mantido, a temperatura final foi bem inferior. Outra diferença foi o processo de agitação, enquanto a erva submetida ao processo de infusão foi mantida apenas em contato com a água, o aquecimento turbulento da decocção provocou uma agitação contínua da mistura. O método de extração aquosa influi na acidez da solução resultante, provavelmente devido à solubilização de diferentes compostos no meio. Segundo alguns estudos comparativos (ZHENG; WANG 2001; KOŞAR ET AL., 2005; HOSSAIN ET AL., 2010; BERDOWSKA et al., 2013), a decocção apresenta maior concentração de compostos fenólicos (ácidos fenólicos e flavonoides) que a infusão, levando a apresentar maior

atividade antioxidante obtida na preparação dos extratos, ou seja, o processo de extração é um fator determinante na disponibilidade dos elementos minerais estudados.

6.2.3 Fração solúvel

A fração solúvel, em água quente, dos elementos contidos na massa seca foi calculada a partir da equação 6 seguir:

$$FS = (CE) / (CMS) \times 100 \quad \text{Equação 6}$$

Onde: FS = fração solúvel (%);

CE = concentração do elemento na extração (mg L^{-1});

CMS = concentração média do elemento na matéria seca (mg kg^{-1}).

Dessa forma, apresenta-se a tabela 10 com os resultados de média obtidos para cada elemento nas folhas, tanto na fração solúvel por decocção quanto infusão.

Tabela 10: Resultados das médias da fração solúvel calculada para os extratos de erva-mate nas folhas

Elementos	FS na Decocção (%)		FS na Infusão (%)	
	Folhas Conv	Folhas Org	Folhas Conv	Folhas Org
Fe	1,43 ± 0,71	0,67 ± 0,31	2,33 ± 0,63	0,94 ± 0,32
Zn	40,03 ± 11,22	21,28 ± 6,02	13,55 ± 2,46	13,99 ± 4,92
Mn	58,25 ± 5,39	31,12 ± 5,02	58,96 ± 4,82	44,89 ± 9,22
K	78,33 ± 14,65	87,70 ± 10,95	81,53 ± 10,24	65,20 ± 7,38
Mg	25,15 ± 4,93	24,82 ± 3,43	19,42 ± 3,91	21,18 ± 5,04
Ca	37,52 ± 6,60	14,16 ± 2,19	25,59 ± 3,36	14,45 ± 0,40

Analisando a tabela 10, referente à fração solúvel nas folhas, de modo geral, percebe-se que para o Fe, as folhas convencionais apresentam uma maior tendência a extração, o Zn houve uma maior fração solúvel na decocção convencional, no Mn é perceptível uma fração solúvel mais acentuada nas folhas convencionais,

independentemente do método, assim como o Ca, ao passo que K e Mg não apresentaram diferenças significativas na fração solúvel.

No que tange à fração solúvel dos ramos, na tabela 11 apresentam-se os resultados calculados na fração solúvel.

Tabela 11: Resultados das médias da fração solúvel calculada para os extratos de erva-mate nos ramos

Elementos	FS na Decocção (%)		FS na Infusão (%)	
	Ramos Conv	Ramos Org	Ramos Conv	Ramos Org
Fe	2,02 ± 0,90	1,23 ± 0,30	3,30 ± 1,25	1,26 ± 0,30
Zn	25,21 ± 6,68	19,00 ± 5,81	9,63 ± 2,98	8,04 ± 3,08
Mn	51,42 ± 8,75	48,21 ± 4,71	54,99 ± 8,81	57,14 ± 10,84
K	76,63 ± 12,97	58,67 ± 10,09	78,14 ± 8,81	71,54 ± 10,84
Mg	13,48 ± 7,54	20,18 ± 1,68	18,91 ± 7,58	19,51 ± 2,15
Ca	15,13 ± 3,45	12,30 ± 1,25	21,86 ± 2,99	14,90 ± 1,99

Como é possível analisar na tabela 11, nos ramos o elemento Fe caracteriza-se com uma maior tendência na fração solúvel dos produtos convencionais, ao passo que o Zn na fração de decocção, independente do sistema de cultivo. Os elementos Mn, Ca, K e Mg não apresentaram diferenças significativas.

Dessa forma, independente da parte da planta estudada, há um comportamento típico de cada elemento, que manifesta a sua mobilidade no tecido vegetal e consequentemente sua disponibilidade no extrato, que está diretamente associado à sua ligação com a matéria orgânica na planta e a sua solubilidade na solução extratora (COSTA; GOUVEIA; NOBREGA, 2002).

O Fe na planta é acumulado principalmente (cerca de 80%) na forma de complexos enzimáticos e proteínas (PRADO, 2008), justificando sua baixa extratibilidade (< 20%) (SALAHINEJAD; AFLAKI, 2010). Contudo, a parte disponível que é transportada no corpo vegetativo é a de quelato de ácido cítrico, que devido a

formar um composto orgânico apenas por interações e não ligações, sofre influência das condições redox do meio facilmente sendo desquelatizado, liberando o Fe^{+2} (PRADO, 2008). Na fração solúvel calculada, tanto ramo quanto folha, caracterizaram o Fe nas infusões convencionais, indicando que o elemento provavelmente está na forma iônica na célula vegetal, ou seja, a fração quelatada que se dissolve.

Quanto ao Zn, na folha e no ramo, se apresentou na fração solúvel mais disponível por decocção e isso se deve ao fato de que o Zn na planta se encontra em duas frações: 1) inativa: componente fundamental na síntese proteica e co-fator de diversas enzimas (PRADO, 2008) e 2) ativa: constituinte de complexos com ácido cítrico e málico (MALAVOLTA, 2006), de baixa estabilidade, evidenciando sua fração solúvel moderada (20 – 55%) (SALAHINEJAD; AFLAKI, 2010), ou seja, para sua extração mais efetiva é necessário condições mais bruscas, a fim de romper essas ligações estáveis, que é o caso da decocção.

O Mn apresentou-se nas folhas com uma maior na fração solúvel nos convencionais e nos ramos não houve diferenças significativas. Referente à porcentagem de extração, o Mn dentro da célula vegetal, na forma de Mn^{+2} , forma ligações fracas com ligantes orgânicos, sendo facilmente oxidado para Mn^{+3} , Mn^{+4} e Mn^{+6} . Por essa capacidade de fácil mudança redox, o Mn atua como constituinte de mais de 30 enzimas e por isso sua fração solúvel moderada (em torno de 20-55%) (SALAHINEJAD; AFLAKI, 2010).

O K não apresentou diferenças significativas quanto à fração solúvel calculada, nem para as folhas nem para os ramos. Sabe-se que cerca de 75% do K na planta encontra-se na forma iônica (K^+), sendo muito permeável, sendo assim um elemento altamente extraível (> 55%) (SALAHINEJAD; AFLAKI, 2010). Tal fato, contribui para o entendimento de que tanto nas folhas quanto nos ramos, se obteve altos valores de K na fração solúvel, não tendo diferença significativa entre decocção e infusão. Quanto à diferença entre orgânico e convencional, o K que a planta absorve, é obtido através do K trocável (retido nas partículas de argilas e matéria orgânica), K da solução do solo e K proveniente da fertilização. O trocável e o da solução do solo são os disponíveis para a planta, enquanto que apenas em solos tropicais (caso do Brasil) a fração trocável é expressiva, sendo a reserva mais importante de K nesses casos, justificando a não diferença entre convencionais e orgânicos.

O Mg não apresentou diferenças significativas quanto a fração solúvel, considerando as folhas e os ramos. O Mg, como já mencionado, Segundo Salahinejad;

Aflaki (2010) é um elemento considerado moderadamente solúvel (20-55%), devido a participar no metabolismo da planta como co-fator enzimático, atuar com pontes de ligações com moléculas energéticas, além disso, juntamente com o Ca forma cerca de 10% da parede celular e nas folhas é constituinte da molécula de clorofila (PRADO, 2008), ou seja, está ligado a moléculas mais estáveis e por isso apresenta-se moderadamente solúvel. Acredita-se que esse elemento está presente nos ramos apenas em sua fração solúvel (iônica), pois segundo Prado (2008), o Mg móvel no floema (o que é redistribuído, ou seja, o que chega aos ramos) está na forma de compostos solúveis de Mg^{+2} , em função disso, é provável que o Mg^{+2} nos extratos convencionais precipite com o excesso de fosfato, decorrente do uso desse nos fertilizantes desse tipo.

O Ca também não apresentou diferenças significativas entre as frações solúveis, nem nas folhas e nem nos ramos. Isso nos aponta uma diferença na forma com que o elemento está ligado nas diferentes partes da planta. O que se vê na literatura é que o Ca presente no xilema (caminho até a acumulação nas folhas) se encontra contido nos pectatos das paredes celulares, enquanto que no floema (o que é redistribuído, como por exemplo, até os ramos), pode se encontrar em uma pequena fração na forma de sais cálcicos de baixa solubilidade (PRADO, 2008), provavelmente a fração encontrada nos extratos dos ramos. Por isso, o cálcio é considerado um elemento pobremente extraível (<10%) (SALAHINEJAD; AFLAKI, 2010) e que não se consegue perceber distinções entre os métodos de extração.

De maneira geral, a ordem decrescente de extratibilidade, nas folhas e nos ramos, ficou da seguinte forma: $K > Mn > Ca = Mg > Zn > Fe$.

7 CONCLUSÕES

A Análise de Componentes Principais (PCA) mostrou-se como ferramenta importante para confirmar as diferenças entre os perfis totais e extraíveis dos minerais em erva mate tanto relacionadas à parte da planta quanto ao cultivo. Com relação à parte da planta, como esperados, as folhas apresentaram maiores níveis dos minerais, tanto nos teores totais, quanto na extratibilidade, uma vez que esta é um órgão de armazenamento de nutrientes para a planta.

Avaliando-se o sistema de cultivo, observaram-se algumas diferenças entre o perfil total e extraído. No primeiro, de um modo geral, tanto folhas quanto ramos convencionais apresentaram maiores teores de K, enquanto que folhas e ramos orgânicos maiores teores de Fe e Mn. Ca, Mg e Zn apresentaram comportamentos diferentes em função da parte da planta, enquanto que as folhas convencionais apresentaram maiores concentrações desses elementos, nos ramos não foi possível encontrar diferença entre amostras orgânicas e convencionais. Esses resultados mostram que alguns fatores, como pH do solo de cultivo, efeito competitivo nas raízes da planta, propriedade de formar quelatos com ácidos orgânicos, são dependentes do cultivo e podem influenciar na absorção desses nutrientes.

Quanto à extratibilidade, observou-se uma separação clara tanto relacionada ao cultivo, quanto ao método de extração. Quanto ao segundo, inferiu-se que os minerais mais extraídos nas infusões, possivelmente estão sendo extraídos na fração inorgânica, e o perfil de compostos orgânicos, mais extraídos na decocção, possivelmente exerçam uma influência negativa na sua extratibilidade, isso se evidencia pela menor concentração de Fe e Mn nas decocções orgânicas, possivelmente pela formação de compostos insolúveis como Fe-polifenóis. Por outro lado, os compostos mais extraídos na decocção provavelmente tenham uma contribuição significativa dos minerais ligados a macromoléculas.

Sumarizando, na determinação dos minerais totais, as folhas foram as que tiveram as maiores concentrações dos elementos, onde as amostras orgânicas apresentaram maiores concentrações de Zn, Fe e Mn e Ca e as amostras convencionais K e Mg. Nas determinações dos minerais solúveis em água, nas folhas todos os elementos caracterizaram o sistema de cultivo convencional, onde K, Fe e Mn foram

mais solúveis nos extratos de infusão e Ca, Zn e Mg nos extratos de decocção e nos ramos K, Fe e Ca nas infusões convencionais, Mn e Mg nas infusões orgânicas e apenas o Zn nas decocções convencionais. Com relação à fração solúvel calculada, levando em conta as concentrações solúveis/concentrações de massa seca, a ordem decrescente de extração ficou da seguinte maneira: $K > Mn > Ca = Mg > Zn > Fe$.

Com os resultados apresentados, foi possível fazer uma série de observações acerca da influência do sistema de cultivo, tanto na absorção dos minerais pela erva mate, como quanto a sua metabolização e translocação. Contudo, para o aprofundamento dessas observações, faz-se necessário maiores estudos, principalmente envolvendo análises de especiação química.

REFERÊNCIAS

- AKSUNER, N.; HENDEN, E.; AKER, Z.; ENGIN, E.; SATIK, S. Determination of essential and non-essential elements in various tea leaves and tea infusions consumed in Turkey. **Food Additives and Contaminants: Part B**, v. 5, n. 2, p. 126–132, 2012.
- ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências. **RDC n° 166**, de 24 de julho de 2017.
- ANVISA. Programa de análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos - Pará. Nota técnica para divulgação dos resultados de 2008. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/toxicologia/residuos/resultados_PARA_2008.pdf. Acesso em: Julho de 2018.
- AQUINO, A. M.; ASSIS, R. L. **Agroecologia: princípios e técnicas para uma agricultura orgânica sustentável**. Embrapa -Informação Tecnológica – Brasília, DF, 2005.
- ARBOS, K. A.; FREITAS, R. J. S.; STERTZ, S. C.; DORNAS, M. F. Atividade antioxidante e teor de fenólicos totais em hortaliças orgânicas e convencionais. **Ciência Tecnologia Alimentos**, v. 30, n. 2, p. 501-506, 2010.
- ARÇARI, D. P.; BARTCHEWSKY, W.; DOS SANTOS, T. W.; OLIVEIRA, K. A.; DE OLIVEIRA, C. C.; GOTARDO, E. M.; PEDRAZZOLI, J.; GAMBERO, A.; FERRAZ, L. F. C.; CARVALHO, P. O.; RIBEIRO, M. L. Anti-inflammatory effects of yerba maté extract (*Ilex paraguariensis*) ameliorate insulin resistance in mice with high fat diet-induced obesity. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 335, n. 2, p. 110-115, 2011.
- ASSIS, A. F. De S.; ANASTÁCIO, F. M. O.; SILVA, M. D. De B.; AMARANTE, B. C.; Das NEVES, P. A. P. F. G. Determinação do teor de metais em chás de plantas medicinais. **Enciclopédia Biosfera**, v. 11, n. 21 p. 3396 - 3407, 2013.
- BARBOZA, L.G.A.; THOMÉ, H.V.; RATZ, R.J.; MORAES, A.J. Para além do discurso ambientalista: percepções, práticas e perspectivas da agricultura agroecológica. **Ambiência**, Guarapuava, v. 8, n. 2, p. 389-401, 2012.
- BARKER, A. V.; PILBEAM, D. J. **Handbook of plant nutrition**. New York: Taylor & Francis, 2007. p.662.

- BARROS, J. D. S.; SILVA, M. F. P. Práticas agrícolas sustentáveis como alternativas ao modelo hegemônico de produção agrícola. **Sociedade e Desenvolvimento Rural on line**, v. 4, n. 2, 2010.
- BARROS, N. B.; PIMENTEL, M. F.; ARAÚJO, M.C. U. **Química Nova**, v. 25, p. 856, 2002.
- BASGEL, S.; ERDEMOGLU, S.B. Determination of mineral and trace elements insome medicinal herbs and their infusions consumed in Turkey, **Sci. Total Environ.** v. 359, p. 82–89, 2006.
- BASTOS, D. H. M.; TORRES, E. A. F. S. Bebidas à base de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) e saúde pública. **Nutrire: J. Brazilian Soc. Food Nutr.**, v. 26, p. 77-89, 2003.
- BERDOWSKA, I., ZIELINSKI B., FECKA, I., KULBACKA J., SACZKO J., GAMIAN, A. Cytotoxic impact of phenolics from Lamiaceae species on human breast cancer cells. **Food Chemistry**, v.141, p. 1313–1321, 2013.
- BERTÉ, K. A. S.; BEUX, M. R.; SPADA, P. K. W. D. S.; SALVADOR, M.; RIBANI, R. H. Chemical composition and antioxidant activity of yerba-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil., Aquifoliaceae) extract as obtained by spray drying. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 59, n. 10, p. 5523-5527, 2011.
- BITTENCOURT, J.; QUEIROZ, M.R.; NEBRA, S.A. Avaliação econômica da elaboração de banana passa proveniente de cultivo orgânico e convencional. **Revista Engenharia Agrícola**, Jaboticabal, v. 24, n. 2, p. 473-483, 2004.
- black tea leaves and their tea infusions consumed in Iran. **Biological Trace Element**
- BOGUSZEWSKI, J. H. Uma história cultural da erva-mate: o alimento e suas representações. Curitiba: UFPR, 2007, 123 p. Dissertação Mestrado (em História), Curso de Pós-Graduação em História, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.
- BOOJAR, M.M.A.; GOODARZI, F. Comparative evaluation of oxidative stress status and manganese availability in plants growing on manganese mine, **Ecotoxicol. Environ. Saf.** v. 71, p. 692–699, 2008.
- BRASIL. Lei nº 10.831, de 24 de dezembro de 2003. **Dispõe sobre a agricultura orgânica e dá outras providências**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 24 dez. 2003.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº. 303, de 07 de novembro de 2002. **Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade para erva-mate**. Brasília, 2002. 5p

- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC277, de 25 de setembro de 2005. **Regulamento técnico para café, cevada, chá, erva-mate e produtos solúveis**. Brasília, 2005. 4p
- BRISOLARA, C. V.; GENRO, D.; CASTILHOS, D. D.; MORSELLI, T. R. G. A.; SANTOS, D. **Alterações químicas do solo e macronutrientes no tecido vegetal do sorgo adubado com diferentes vermicompostos**. Disponível em: http://www.ufpel.edu.br/xiicic/arquivos/CA_00694.doc. Acesso em: Setembro de 2018.
- CAO, X.; ZHAO, G.; YIN, M.; LI, J. Determination of ultratrace rare earth elements in tea by inductively coupled plasma mass spectrometry with microwave digestion and AG50W-X8 cation exchange chromatography. **Analyst**, v. 123, p. 115–119, 1998.
- CARVALHO, P.H.R. **Espécies arbóreas brasileiras**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; Colombo: Embrapa Florestas, 2003. 1039p.
- CINTRA R. M. G. C. **Potencial benéfico para a saúde dos alimentos da agricultura e pecuária orgânicas: uma avaliação da qualidade nutricional**. 2010.
- CLIFFORD, M. N.; RAMIREZ-MARTINEZ, J. R. Chlorogenic acids and purine alkaloids contents on maté (*Ilex paraguaiensis*) leaf and beverage. **Food Chemistry**, v. 35, p. 13-21, 1990.
- COELHO G. C.; GNOATTO S. B.; BASSANI V. L.; SCHENKEL E. P. Quantification of Saponins in Extractive Solution of Mate Leaves (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.). **Journal of Medicinal Food**, v. 13, n. 2, p. 439 – 443, 2010.
- COSTA, L.M.; GOUVEIA, S.T.; NOBREGA, J.A. **Anal. Sci.** v. 18, 2002.
- DA SILVEIRA, T. F. F., MEINHART, A. D., BALLUS, C. A., GODOY, H. T. The effect of the duration of infusion, temperature, and water volume on the rutin content in the preparation of mate tea beverages: An optimization study. **Food Research International**, v. 60, p. 241-245, 2014.
- COZZOLINO, D.; RESTAINO, E.; FASSIO, A. Discrimination of yerba mate (*Ilex Paraguariensis* St. Hil.) samples according to their geographical origin by means of near infrared spectroscopy and multivariate analysis. **Sensing and Instrumentation for Food Quality and Safety**, v. 4, p. 67, 2010.
- DANIEL, O. **Erva-mate: Sistema de produção e processamento industrial**. 1ª Ed. Dourados: UFGD, 2009.
- DAROLT, M. R. Comparação entre a qualidade do alimento orgânico e convencional. In: Alimentos orgânicos; produção, tecnologia e certificação/Strigheta, P. C.; Muniz, J. N. (orgs). P. 289-312. 2003. Disponível em:

<ftp://ftp.cidasc.sc.gov.br/agroecologia/Moacir%20Darolt%20Cap%20Qualidade%202009.pdf>

DAROLT, Moacir R.; RODRIGUES, A.; NAZARENO, N.; BRISOLLA, A.; RUPPEL, O. Análise comparativa entre o sistema orgânico e convencional de batata comum. IAPAR. Paraná, p. 1-15. Disponível em: <http://www.planetaorganico.com.br>
Acesso em: Outubro de 2018.

DARTORA, N. **Avaliação dos polissacarídeos e metabólitos secundários das folhas de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) em diferentes estados fisiológicos e de processamento.** 2010. 109 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Bioquímicas) – Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.

DAVIS, D. R.; EPP, M. D.; RIORDAN, H. D. Changes in USDA food composition data for 43 garden crops, 1950 to 1999. **Journal American College Nutrition.** v. 23, n. 6, p. 669-682, 2004.

DE SOUZA, L. M.; DARTORA, N.; SCOPARO, CAMILA, T.; CIPRIANI, T. R.; GORIN, P. A. J. ; IACOMINI, M.; SASSAKI, G. L. Comprehensive analysis of mate (*Ilex paraguariensis*) compounds: development of chemical strategies for matesaponin analysis by mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 41, p. 7307–7315, 2011.

DONADUZZI, C.M.; COELHO, S.R.M.; CARDOSO, E.L.; GALLO, A.G.; HUPPES, G.K.; KUHN, I.M.V.; SCHICHEL, C. Teores de cafeína, polifenóis totais e taninos em amostras de erva-mate comercializadas na região de Toledo, Paraná. *In: II Congresso Sul Americano de Erva-Mate*, v. 1, n. 1, p. 158-161, 2000.

DOU, C.M.; FU, X. P.; CHEN, X. C.; SHI, J. Y.; CHEN, Y. X. Accumulation and detoxification of manganese in hyperaccumulator *Phytolacca americana*, **Plant Biol. (Stuttg.)**, v. 11, p. 664–670, 2009.

DULLEY, R. D. **As diversas faces da agricultura orgânica.** Disponível em: <http://www.planetaorganico.com.br>. Acesso em: Agosto de 2018.

EPSTEIN, E.; BLOOM, A. J. **Nutrição mineral de plantas: princípios e perspectivas.** 2. ed. Londrina: Editora Paulista, 2006. 400p.

ESMELINDRO M. C.; TONIAZZO G.; WACZUK, A.; DARIVA C.; OLIVEIRA, D. Caracterização físico-química da erva-mate: Influência das etapas do processamento industrial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 22, p. 193-204, 2002.

- EVANS, H. J.; SORGER, G. J. Role of mineral elements with emphasis on the univalente cátions. **Annu. Rev. Plant Physiol.** v. 17, p. 47-76, 1966.
- FAQUIN, V. **Nutrição Mineral de Plantas**. Curso de Pós-Graduação “Lato Sensu” (Especialização) a Distância: Solos e Meio Ambiente. Lavras: UFLA / FAEPE, 2005. p.175.
- FERREIRA, M. M. C.; ANTUNES, A. M.; MELGO, M. S.; VOLPE, P. L. O. Quimiometria I: calibração multivariada, um tutorial. **Química Nova**, v. 22; n. 5, 1999.
- FOLEY, J.A.; RAMANKUTTY, N.; BRAUMAN, K.A.; CASSIDY, E.S.; GERBER, J.S.; JOHNSTON, M.; MUELLER, N.D.; O’CONNELL, C.; RAY, D.K.; WEST, P.C.; BALZER, C.; BENNETT, E.M.; CARPENTER, S.R.; HILL, J.; MONFREDA, C.; POLASKY, S.; ROCKSTROM, J.; SHEEHAN, J.; SIEBERT, S.; TILMAN, D.; ZAKS, D.P.M. Solutions for a cultivated planet. **Nature**, Londres, v. 478, p. 337-342, 2011.
- FONTES, P. C. R. **Diagnóstico do estado nutricional das plantas**. Viçosa: UFV, 2001. p.122.
- FOSSATI, L. C. Avaliação do estado nutricional e da produtividade da erva-mate (*Ilex Paraguariensis* St. Hil.) em função do sítio e da dioícia. Curitiba, 1987. 113 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal). Universidade Federal do Paraná.
- GAIAD, S.; LOPES, E.S. Ocorrência de micorriza vesicular-arbuscular em erva-mate (*Ilex Paraguariensis* St. Hil.). **Boletim de Pesquisa Florestal**, v. 12, p. 21-29, 1986.
- GNOATTO, S. C. B.; SCHENKEL, E. P.; BASSANI, V. L. HPLC method to assay total saponins in *Ilex paraguariensis* aqueous extrac. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 16, n. 4, p. 723-725, 2005
- GONÇALVES, J.L.M; POGGIANI, F. **Substratos para produção de mudas florestais**. In: CONGRESSO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DO SOLO, 13., Águas de Lindóia, 1996. Piracicaba, Sociedade Latino Americana de Ciência do Solo, 1996.
- GOSMANN, G.; BARLETTE, A. G.; DHAMER, T.; ARÇARI, D. P.; SANTOS, J. C.; ELOÁ, R. C.; ACEDO, S.; GAMBERO, A.; GNOATTO, S. C. B.; RIBEIRO, M. L. Phenolic Compounds from Maté (*Ilex paraguariensis*) Inhibit Adipogenesis in 3T3-L1 Preadipocytes. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 67, n. 2, p. 156-161, 2012.
- GUADAGNIN, J.C.; BERTOL, I.; CASSOL, P.C.; AMARAL, A.J. Perdas de solo, água, e nitrogênio por erosão hídrica em diferentes sistemas de manejo. **Revista Brasileira de Ciência do solo**, v. 29, p. 277-286, 2005.

- HAN, W. Y.; SHI, Y. Z.; MA, L. F.; RUAN, J. Y. Arsenic, cadmium, chromium, cobalto and copper in different types of Chinese tea. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 75, p. 272–277, 2005.
- HÄNSCH, R.; MENDEL, R. R. Physiological functions of mineral micronutrients (Cu, Zn, Mn, Fe, Ni, Mo, B, Cl). **Current Opinion in Plant Biology**, v. 12, p. 259 – 266, 2009.
- HEINRICHS, R.; MALAVOLTA, E. Composição mineral do produto comercial da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). **Ciência Rural**, v. 31, n. 5, p. 781-785, 2001.
- HENIS Y. Soil microorganisms, soil organic matter and soil fertility. **In: Chen Y, Avnimelech Y, eds. The Role of Organic Matter in Modern Agriculture**. Boston: Martinus Nijhoff Publishers, p. 9–54, 1986.
- HOSSAIN, M.B.; RAI, D.K.; BRUNTON, N.P.; MARTIN-DIANA, A.B.; BARRY-RYAN C. Characterization of phenolic composition in Lamiaceae spices by LC-ESI-MS/MS. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 58, 10576–10581, 2010.
- HUE, N.V.; VEGA, S.; SILVA, J.M. Manganese toxicity in a Hawaiian Oxisol affected by soil pH and organic amendments. **Soil Science Society of America Journal**, v. 65, p. 153-160, 2001.
- INMETRO. Orientação sobre validação de métodos analíticos. **DOQ-CGCRE-008**, Disponível em: http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/CGCRE/DOQ/DOQCGCRE-8_05.pdf, 2016. Acesso em: Agosto de 2018.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE. **Produção agrícola municipal – Culturas temporárias e permanentes**. Brasil 2010. v.37. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/pam/2010/PAM2010_Publicacao_completa.pdf. 2011. Acesso em: Julho de 2018.
- Instituto Nacional do Mate – INYM. Disponível em: <http://www.inym.org.ar/>
- International Conference on Harmonisation - ICH. **Validation of Analytical Procedures Methodology**, Q2B (CPMP/ICH/281/95), 1995.
- IPEAIYEDA, A. R.; DAWODU, M. Leaching of manganese, iron, copper and zinc from tea (*Camellia sinensis*) in tea mug. **Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry**, v. 10, p. 2240–2247, 2011.
- JUNIOR, J.B.P; DANTAS, K.G.F. Evaluation of inorganic elements in cat's claw teas using ICP-OES, **Food Chem.** v. 196, p. 331–337, 2016.

- KANG Y. R.; LEE H. Y.; KIM J. H.; MOON D. I.; SEO M. Y.; PARK S. H.; CHOI K. H.; KIM C. R.; KIM S. H.; OH J. H.; CHO, S. W.; KIM, S. Y.; KIM, M. G.; CHAE, S. W.; K. O.; OH, H. G. Anti-obesity and anti-diabetic effects of Yerba Mate (*Ilex paraguariensis*). **Lab Anim Res.**, v. 28, n. 1, p. 23–29, 2012.
- KARA, D. Evaluation of trace metal concentrations in some herbs and herbal teas by principal component analysis. **Food Chemistry**, v. 114, p. 347–354, 2009.
- KARTIKA, H.; SHIDO, J.; NAKAMOTO, S.T.; LI, Q.L.; IWAOKA, W.T. Nutrient and mineral composition of dried mamaki leaves (*Pipturus albidus*) and infusions, **J. Food Comp. Anal.** v. 24, p. 44–48, 2011.
- KASEKER, J. F.; BASTOS, M. C.; REISSMANN, C.B., OLÍŠIESKIT, A., GAIAD, S. **Análise Química Foliar em Folhas e Talos de Morfotipos e Procedências de Erva-mate.** In: FERTIBIO. Guarapuri, SC, 2010.
- KERBAUY, G. B. **Fisiologia Vegetal.** Editora Guanabara Koogan. Rio de Janeiro, RJ, 2004. p. 439.
- KOMES, D., HORŽIĆ, D., BELŠČAK, A., GANIĆ, K. K., VULIĆ, I. Green tea preparation and its influence on the content of bioactive compounds. **Food Research International**, v. 43, n. 1, p. 167-176, 2010.
- KOŠAR, M., DORMAN, H. J. D., & HILTUNEN, R. Effect of an acid treatment on the phytochemical and antioxidant characteristics of extracts from selected Lamiaceae species. **Food Chemistry**, v. 91, p. 525–533, 2005.
- LAIRON, D. Nutritional quality and safety of organic food. A review. **Agronomy Sustainable Development**, v. 30, n. 1, p. 33-41, 2009.
- LANA, R.P. Uso racional de recursos naturais não renováveis: aspectos biológicos, econômicos e ambientais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Brasília, v. 38, p. 330-340, 2009.
- LEE, S. M., CHUNG, S. J., LEE, O. H., LEE, H. S., KIM, Y. K., KIM, K. O. Development of sample preparation, presentation procedure and sensory descriptive analysis of green tea. **Journal of Sensory Studies**, v. 23, n. 4, p. 450-467, 2008.
- LEITÃO, A.C. **Nutrição mineral, fenologia e distribuição da população de *Ouratea spectabilis* (Mart.) Engl., em área do Cerrado na Reserva Biológica de Mogi-Guaçu, SP.** Rio Claro, Instituto de Biociências, UNESP, 131 p. Dissertação de Mestrado (1998).
- LESSA, L.C. **Chimarrão.** São Paulo: Departamento de Cultura, 1953. 460p.

- LIMA, U. de A. Bebidas estimulantes. *In*: VENTURI FILHO, WALDEMAR G. **Bebidas não alcoólicas: Ciência e Tecnologia**. São Paulo: Editora Blucher, 2010. p. 39-56.
- LINARES, A. R.; HASE, S. L.; VERGARA, M. L.; RESNIK, S. L. Modeling yerba mate aqueous extraction kinetics: Influence of temperature. **Journal of Food Engineering**, v. 97, n. 4, p. 471-477, 2010.
- LINHARES, T. **História Econômica do Mate**. Rio de Janeiro: Livraria José Olympio, 1969. 522 p.
- LÜCKEMEYER, D. D.; MÜLLER, V. D. M.; MORITZ, M. I. G.; STOCO, P. H.; SCHENKEL, E. P.; BARARDI, C. R. M.; REGINATTO, F. H.; SIMÕES, C. M. O. Effects of *Ilex paraguariensis* A. St. Hil. (Yerba Mate) on Herpes Simplex Virus Types 1 and 2 Replication. **Phytotherapy Research**, 2012, v. 26, p. 535-540, 2012.
- MACCARI JUNIOR, A. **Análise do pré-processamento da erva-mate para chimarrão**. Campinas, 2005. Tese de Doutorado em Engenharia Agrícola. Universidade Estadual de Campinas. 215p.
- MACCARI JUNIOR, A. Câmara Setorial da Cadeia Produtiva da Erva-Mate. **Produtos alternativos e desenvolvimento da tecnologia industrial na cadeia produtiva da erva-mate**. Curitiba: PADCT, 2000. Série PADCT III, n.1, 160p.
- MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2006. 638p.
- MANLY, B. F. J. **Multivariate statistical methods**. New York, Chapman and Hall, 1986.159 p.
- MARCELO, M. C. A.; MARTINS, C. A.; POZEBON, D.; FERRÃO, M. F. Methods of multivariate analysis of NIR reflectance spectra for classification of yerba mate. **Analytical Methods**, v. 6, p. 7621, 2014.
- MARCELO, M. C. A.; POZEBON, D.; FERRÃO, M. F. Análise multivariada do perfil das concentrações dos elementos presentes na erva-mate (*Ilex Paraguariensis*) comercializada no Mercosul. **Rev. Virtual Quim.**, v. 7, n. 6, p. 2400-2421, 2015.
- MARSCHNER, H. **Mineral Nutrition of Higher Plants**. London: Academic Press, 1995. p. 889.
- MÁRQUEZ, V.; MARTÍNEZ, N.; GUERRA, M.; FARINÃ, L.; BOIDO, E.; DELLACASSA, E. Characterization of aroma-impact compounds in yerba mate (*Ilex Paraguariensis*) using GC-olfactometry and GC-MS. **Food Research International**, v. 53, p. 808, 2013.

MCKENZIE, J. S.; JURADO, J. M.; DE PABLOS, F. Characterization of tea leaves according to their total mineral content by means of probabilistic neural networks. **Food Chemistry**, v. 123, p. 859–864, 2010.

MENGEL, K.; KIRKBY, E. A. **Principles of Plant Nutrition**. International Potash Institute, Worblaufen-Bern, Switzerland, 1987.

MESJAESZ-PRZUBULOWICS, J.; PRZYBYLOWICZ, W. J. Micro-PIXE in plant sciences: Present status and perspectives. **Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B**, v. 189, p. 470 – 481, 2002.

MEURER, E.J.; KAMPF, N. & ANGHINONI, I. Fontes potenciais de potássio em alguns solos do Rio Grande do Sul. *R. Bras. Ci. Solo*, 20:41-47, 1996.

MIERZWA, J.; SUN, Y. C.; CHUNG, Y. T.; YANG, M. H. Comparative determination of Ba, Cu, Fe, Pb and Zn in tea leaves by slurry sampling electrothermal atomic absorption and liquid sampling inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. **Talanta**, v. 47, p. 1263–1270, 1998.

Ministério da Agricultura e Pecuária – MAG. Disponível em:

<http://www.mag.gov.py/dgp/ZONIFICACION%20AGROECOLOGICA%20ZAFRA%202012%202013.pdf>. Acesso em: Julho de 2018.

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Disponível em:

www.agricultura.gov.br 70 f. Acesso em: Agosto de 2018.

MIRANDA, N.; URBAN, T. **Engenhos & barbaquas**. Curitiba:Posigraf, 1998. 120p.

MOOZ, E. D.; SILVA, M. V. Alimentos orgânicos. *Nutrire: rev. Soc. Bras. Alim. Nutr. J. Brazilian, Society for Food and Nutrition*, v. 39, n. 1, p. 99-112, 2014.

MOSSION, A.; POTIN-GAUTIER, M.; DELERUE, S.; LE HECHO, I. **Food Chem.** v. 106, p. 1467, 2008.

NARIN, I.; COLAK, H.; TURKOGLU, O.; SOYLAK, M.; DOGAN, M. Heavy metals in black tea samples produced in Turkey. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 72, p. 844–849, 2004.

NASCIMENTO, A.R.; SOARES JÚNIOR, M.S.; CALIARI, M.; FERNANDES, P.M.; RODRIGUES, J.P.M; CARVALHO, W.T. Qualidade de tomates de mesa cultivados em sistema orgânico e convencional no estado de Goiás. **Horticultura Brasileira**, v. 31, p. 628-635. 2013.

non-essential metals in leaves of the tea plant (*Camellia sinensis* L.) and soil of

- NOOKABKAEW, S.; RANGKADILOK, N.; SATAYAVIVAD, J. Determination of trace elements in herbal tea products and their infusions consumed in Thailand. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 54, 6939–6944, 2006.
- OLIVA, E. V., REISSMANN, C. B., GAIAD, S., OLIVEIRA, E. D., STURION, J. A. Composição nutricional de procedências e progenies de erva-mate (*Ilex Paraguariensis* St. Hill) cultivadas em latossolo vermelho distrófico. **Ciência Florestal**, v. 24, n. 4, p. 793-805, 2014.
- PAGLIOSA, C. M.; VIEIRA, M. A.; PODESTÁ, R.; MARASCHIN, M.; ZENI, A. L. B.; AMANTE, E. R.; AMBONI, R. D. M. C. Methylxanthines, phenolic composition, and antioxidant activity of bark from residues from mate tree harvesting (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.). **Food Chemistry**, v. 122, p. 173-178, 2010.
- PANDOLFO, C.M. et al. Resposta da Erva-Mate (*Ilex Paraguariensis* St. Hil.) à adubação mineral e orgânica em um latossolo vermelho aluminoférrico. **Ciência Florestal**, v. 13, n. 2, p. 37-45, 2003.
- PEREIRA JUNIOR, J. B.; DANTAS, K. G. F. Evaluation of inorganic elements in cat's claw teas using ICP OES and GF AAS. **Food Chemistry**, v.196, p. 331–337, 2016.
- PEREIRA, C. C.; SOUZA, A. O.; ORESTE, E. Q.; CIDADE, M. J. A.; CADORE, S.; RIBEIRO, A. S.; VIEIRA, M. A. Acid Decomposition of Yerba Mate (*Ilex Paraguariensis*) using a reflux system for the evaluation of Al, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Pb and Zn contents by Atomic Spectrometric Techniques. **J. Braz. Chem. Soc.** v. 27, n. 4, p. 685-693, 2016.
- PILGRIM, T. S.; WATLING, R. J.; GRICE, K. Application of trace element content and stable isotope signature to determine the provenance of tea (*Camellia sinensis*) samples. **Food Chemistry**, v. 118, p. 921–926, 2010.
- PIMENTEL, G. D.; LIRA, F. S.; ROSA, J. C.; CARIS, A. V.; PINHEIRO, F.; RIBEIRO, E. B.; OLLER DO NASCIMENTO, C. M.; OYAMA, L. M. Yerba mate extract (*Ilex paraguariensis*) attenuates both central and peripheral inflammatory effects of diet-induced obesity in rats. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 24, n. 5, p. 809-818, 2013.
- PITTMAN, J.K. Managing the manganese: molecular mechanisms of manganese transport and homeostasis, **New Phytol.** v. 167, p. 733–742, 2005.
- PRADO, R. M. **Nutrição de Plantas**. São Paulo: Unesp, 2008.

- PRICE, C.A.; CLARK, H.E.; FUNKHOUSER, E.A., 1972. Functions of micronutrients in plants. In: MORTVEDT, J.J., P.M. GIORDANO e W.L. LINDSAY, ed, *Micronutrients in Agriculture*; Soil Science Society of American, Inc., p.231-242.
- PYTLAKOWSKA, K.; KITA, A.; JANOWSKA, P.; POLOWNIAK, M.; KOZIK, V. Multi-element analysis of mineral and trace elements in medicinal herbs and their infusions, **Food Chem.** v. 135, p. 494–501, 2012.
- QIN, F.; CHEN, W. Lead and copper levels in tea samples marketed in Beijing, China. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 79, p. 247–250, 2007.
- RACHWAL, M.F.G.; CURCIO, G.R.; DEDECEK, R.A.; NIETSCHKE, K.; RADOMSKI, M.I. Influência da luminosidade sobre os teores de macronutrientes e taninos em folha de erva-mate. In: CONGRESSO SUL-AMERICANO DE ERVA-MATE, 2.; REUNIÃO TÉCNICA DA ERVA-MATE, 3, 2000, Porto Alegre. **Anais**. Porto Alegre: Comissão dos Organizadores, Universidade do Rio Grande do Sul, Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária, 2000. p. 417-420.
- RANĐELOVIĆ, S.S.; Kostić, D. A.; Zarubica, A. R.; Mitić, S. S.; Mitić, M. N. The correlation of metal content in medicinal plants and their water extracts. **Hem. ind.** v. 67, n. 4, p. 585–591, 2013.
- RATHI; B.S.; BODHANKAR, S.L.; BAHETI, A.M. Evaluation of aqueous leaves extract of *Moringa oleifera* Linn for wound healing in albino rats. **Indian J Exp Biol**, v. 44, p. 898-901, 2006.
- REGAZZI, A.J. **Análise multivariada**, notas de aula INF 766, Departamento de Informática da Universidade Federal de Viçosa, v.2, 2000.
- REISSMANN, C.B.; KOEHLER, C.W.; ROCHA, H.O. HILDEBRAND, E.E. Avaliação das exportações de macronutrientes pela exploração de erva-mate. In: X Seminário sobre atualidades e perspectivas florestais: Silvicultura d erva-mate (*Ilex Paraguariensis* St. Hill.), Curitiba. Anais ..., Curitiba:1985, p. 128-139.
- REISSMANN, C.B.; RADOMSKI, M.I.; QUADROS, R.M.B. Chemical composition of *Ilex paraguariensis* St. Hill under different management conditions in seven localities of Parana State. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 42, n. 2, p.187-194, 1999.
- REMBIALKOWSKA, E. Quality of animal products. In: TOWARDS IMPROVED QUALITY IN ORGANIC FOOD PRODUCTION/ MONIQUE HOSPERS-BRANDS AND GEERT-JAN VAN DER BURGT (EDS). Proceedings... QLIF, 5th training and Exchange workshop, Driebergen, January 2009. P. 67-76.

- Research**, v. 134, p. 109–117, 2010.
- RIBANI, M. et al. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p.771-780, 2004.
- ROCHA, C. B. e SILVA, J. Atividade antioxidante total em tomates produzidos por cultivos orgânico e convencional. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 14, n. 1, p. 27-30, 2011.
- ROTTA, E.; OLIVEIRA, Y.M.M.; **Cultivo da erva-mate**. Colombo: Embrapa florestas (Sistemas de produção n.1), 2005.
- SAIDELLES, A. P. F.; KIRCHNER, R. M.; FLORES, E. M. M.; SANTOS, N. R. Z.; BENEDETTI, J. K.; CRUZ, L. C. Determinação de Cu, Ni e Zn por ICP-MS em infusões da erva-mate. **Alim. Nutr. Braz. J. Food Nutr.**, Araraquara, v.24, n.3, p. 283-289, 2013.
- SAINT-HILAIRE, A. **Mémoires du muséum d’histoire naturelle**. v. 9, p. 351, 1822.
- SALAHINEJAD, M.; AFLAKI, F. Toxic and essential mineral elements content of SALDANA, M. D. A.; MOHAMED, R. S.; BAER, M. G.; MAZZAFERA, P. Extraction of purine alkaloids from maté (*Ilex paraguariensis*) using supercritical CO₂. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, p. 3804-3808, 1999.
- SANDANIELO, V. L. M.; PADOVANI, C. R. Construção de índice percentual de “status” de desenvolvimento sustentável de assentamentos rurais utilizando procedimento estatístico multivariado. **Botucatu**, v. 25, n. 3, p. 137-153, 2010.
- SANDERS, D.; BROWNLEE, C. HARPER, J. F. Communicating with calcium. **Plant Cell**, v. 11, p. 691-706, 1999.
- SANTIN, D. **Produtividade e disponibilidade de nutrientes influenciadas pela calagem, adubação NPK e intervalos de colheita em erva-mate**. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG. 2013. p. 104.
- SANTOS, G. C. Dos; MONTEIRO, M. Organic foods production system. **Alim, Nutr. Araraquara**, v.15, n. 1, p. 73-86, 2004.
- Schuphan W. Nutritional value of crops as influenced by organic and inorganic fertilizer treatments. **Qualitas Plantarium**, v. 23, p. 333–358, 1974.
- SHEN, F. -M.; CHEN, H. -W. Element composition of tea leaves and tea infusions and its impact on health. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 80, p. 300–304, 2008.

- SILVA, E.M.N.C.P.; FERREIRA, R.L.F.; ARAÚJO NETO, S.E.; TAVELLA, L.B.; SOLINO, A.J.S. Qualidade de alface crespa cultivada em sistema orgânico, convencional e hidropônico. **Horticultura Brasileira**, n. 29, p. 242-245, 2011.
- SMITH, B. L. Organic foods vs. Supermarket foods: elemento levels. **J. Appl Nutr.** v. 45, n. 1, p. 35-39, 1993.
- SOCIEDADE BRASILEIRA DE CIÊNCIA DO SOLO, COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO – RS/SC. **Manual de adubação e calagem para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina**. 10. Ed., Porto Alegre: SBCS, Comissão de Química e Fertilidade do Solo, 2004. 394p.
- SOUZA J.L.; RESENDE P.L. 2006. **Manual de horticultura orgânica**. 2 ed. Viçosa, MG: Aprenda Fácil. 843 p.
- SOUZA P.F. **Tecnologia de Produtos Florestais**. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, p. 206-254, 1947.
- SOUZA, J. L. M.; ARAUJO, M. L.; REISSMANN, C. B.; JÚNIOR, A. M.; WOLF, C. S. Teores de nutrientes foliares em plantas de erva-mate em função da posição e orientação geográfica da copa, em Guarapuava-PR. **Scientia Agraria**, v. 9, n. 1, p. 49-58, 2008.
- SOYLAK, M.; TUZEN, M.; SOUZA, A. S.; KORN, M. G. A.; FERREIRA, S. L. C. Optimization of microwave assisted digestion procedure for the determination of zinc, copper and nickel in tea samples employing flame atomic absorption spectrometry. **Journal of Hazardous Materials**, 149, 264–268, 2007.
- STAGG G.V.; MILLIN, D.J. The nutritional and therapeutic value of tea – a review. **Journal Science Food Agriculture**, v. 26, p. 1439-1459, 1975.
- STEVENSON F.J.; ARDAKANI M.S. Organic matter reactions involving micronutrients in soils. In: Mortvedt, J.J.; Giordano, P.M.; Lindsay, W.I; eds. *Micronutrients in Agriculture*. Madison, WI: **Soil Science Society of America**, p. 79–114. Stopes C, Woodward, 1972.
- STOCKING, M.A. Tropical soils and food security: the next 50 years. **Science**, Nova York, v. 302, n. 1356, p. 1355-1359, 2003.
- SUTCLIFFE, J.F.; BAKER, D.A. **As plantas e os sais mineirais**. Editora Pedagógica e Universitária Ltda. Vol. 33: 80p. 1989.
- SZYMCZYCHA-MADEJA, A.; WELNA, M.; ZYRNICKI, W. Multi-Element Analysis, Bioavailability and Fractionation of Herbal Tea. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 24, n. 5, p. 777-787, 2013.

- TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Tradução de: Eliane Romanato Santarém. [et al.]. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.
- TASCIOGLU, S.; KOK, E. **J. Sci. Food Agric.** v.76, 1998.
- TISDALE, S.L.; NELSON, W.L.; BEATON, J.D. **Soil fertility and fertilizers**. New York, MacMillan, 1985. 754p.
- TOOR, R. K., SAVAGE, G. P., HEEB, A., Influence of different types of fertilizers on the major antioxidant components of tomatoes. **J. Food Comp Anal.**, v. 19, n. 1, p. 20-27, 2006.
- VALDUGA, A.T.; FINZER, J.R.D.; MOSELE, S.H. **Processamento de Erva-mate**. Erechim:Edifapes, 2003. 182p.
- VOGEL, A.I., et al. **Análise Química Quantitativa**. 6. ed. Rio de Janeiro: LTC Editora, 2002. p. 77.
- WELNA, M.; SZYMCZYCHA-MADEJA, A.; POHL, P. A comparison of samples preparation strategies in the multi-elemental analysis of tea by spectrometric methods. **Food Research International**, v. 53, p. 922–930, 2013.
- WORTHINGTON V. Nutritional quality of organic versus conventional fruits, vegetables, and grains. **J Altern Complement Med**, v. 7, p. 161–73, 2001.
- XIA, T.; SHI, S.; WAN, X. Impact of ultrasonic- assisted extraction on the chemical and sensory quality of tea infusion. **Journal of Food Engineering**, v. 74, n. 4, p. 557-560, 2006.
- YEMANE, M.; CHANDRAVANSI, B. S.; WONDIMU, T. Levels of essential and Wushwush farms, Ethiopia. **Food Chemistry**, v. 107, p. 1236–1243, 2008.
- ZHOU, C.Y.; WU, J.; WONG, M.K.; KOH, L.L.; WEE, Y.C. **Sci. Total Environ.** v. 177, 1996.
- ZHENG W., & WANG S.Y. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 5165-517, 2001.
- ZÖTTL, H.W. Diagnosis of nutritional disturbances in forest stands. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON FORESTION, 1973, Paris. **Anais**. Paris: Ministère de L'Agriculture, 1973. p. 75-95.

APÊNDICE 1

Os ensaios de exatidão, avaliando a adição e recuperação dos analitos, se deu da seguinte forma:

➤ **Minerais totais:**

Solução Mista composta pelos 6 analitos (volume final de 10 mL) → Adicionar 1 mL da solução mista no tubo de digestão → Avolumar o digerido à 30 mL → Determinação espectrométrica

A preparação da solução mista utilizada nos ensaios de exatidão dos minerais totais:

- ✓ Fe: Adicionou-se 0,3 mL da solução padrão, obtendo a concentração final de 1 mg.L⁻¹;
- ✓ Zn: Adicionou-se 0,75 mL da solução padrão do analito, tendo a concentração final de 0,25 mg.L⁻¹;
- ✓ Mn: Adicionou-se 0,75 mL da solução padrão do analito, tendo a concentração final de 0,25 mg.L⁻¹;
- ✓ Ca: Adicionou-se 0,90 mL da solução padrão do analito, tendo a concentração final de 1,50 mg.L⁻¹;
- ✓ Mg: Adicionou-se 0,34 mL da solução padrão do analito, tendo a concentração final de 0,10 mg.L⁻¹;
- ✓ K: Adicionou-se 0,18 mL da solução padrão do analito, tendo a concentração final de 0,25 mg.L⁻¹.

➤ **Minerais solúveis por decocção e infusão:**

Solução Mista composta pelos 6 analitos (volume final de 5 mL) → Adicionar 1 mL da solução mista em 4 mL do extrato decocto e infuso → Determinação espectrométrica

No caso da preparação da solução mista usada nos ensaios de exatidão dos minerais solúveis, teve-se as seguintes relações:

- ✓ Fe: Adicionou-se 0,03 mL da solução padrão, obtendo a concentração final de 1 mg.L⁻¹
- ✓ Zn: Adicionou-se 0,07 mL da solução padrão do analito, tendo a concentração final de 0,24 mg.L⁻¹
- ✓ Mn: Adicionou-se 2,0 mL da solução padrão do analito, tendo a concentração final de 0,10 mg.L⁻¹

- ✓ Ca: Adicionou-se 0,10 mL da solução padrão do analito, tendo a concentração final de $0,25 \text{ mg.L}^{-1}$
- ✓ Mg: Adicionou-se 0,28 mL da solução padrão do analito, tendo a concentração final de $0,10 \text{ mg.L}^{-1}$
- ✓ K: Adicionou-se 0,25 mL da solução padrão do analito, tendo a concentração final de $0,50 \text{ mg.L}^{-1}$

Os cálculos das concentrações foram feitos considerando uma concentração referente ao ponto médio da curva de calibração de cada determinação espectrométrica. Essa consideração foi posta para cada elemento individualmente, respeitando as particularidades como faixa de trabalho e sua respectiva diluição.

APÊNDICE 2

Concentrações dos metais totais nas amostras sendo apresentado na tabela 12 os resultados obtidos para as folhas e na tabela 13 os resultados obtidos para ramos. Cabe salientar que a amostra orgânica 5, quando peneirada não apresentou presença de talos, por isso, há uma amostra orgânica a menos para os resultados dos talos.

Tabela 12: Concentração dos metais totais analisados em mg.kg^{-1} presentes nas folhas convencionais e orgânicas de amostras de erva-mate comercial

AMOSTRAS	Fe	Zn	Mn	K	Mg	Ca
EMC1F	282,42± 18,84	51,78± 1,37	2.163,26± 46,71	22.379,74± 797,33	5.784,59± 214,88	6.356,96± 581,01
EMC2F	204,58± 13,17	93,99± 0,05	1.923,46± 46,00	23.302,78± 489,55	6.951,21± 246,15	7.703,62± 494,46
EMC3F	325,69± 41,48	59,03± 2,37	2.410,41± 80,41	19.945,017± 432,29	5.697,33± 560,83	6.710,58± 484,36
EMC4F	220,76± 11,05	53,97± 0,74	1.976,14±1,54	16.528,01± 884,23	4.278,86± 437,44	6.060,74± 85,77
EMC5F	311,01± 7,90	59,17± 1,43	2.575,08± 91,82	17.741,65± 404,33	6.952,95± 259,85	6.417,75± 351,74
EMC6F	259,10± 16,08	47,85± 2,69	1.604,55± 45,12	20.798,12± 707,16	6.134,14± 769,97	7.163,71± 47,98
EMC7F	351,49± 46,66	84,03±2,89	2.171,56± 89,86	19.979,95± 761,00	5.338,07± 565,98	7.364,60± 508,65
EMO1F	370,31± 15,13	55,34± 1,58	1.526,12± 79,22	16.302,39± 742,28	6.525,75± 248,61	6.178,49± 367,04
EMO2F	455,98± 60,98	63,74± 2,02	2.088,84± 123,21	16.377,49± 515,00	4.962,51± 215,69	8.185,21± 384,85
EMO3F	327,43± 13,61	73,33± 2,67	2.815,23± 119,27	16.173,27± 738,25	5.214,44± 502,03	6.437,89± 349,00
EMO4F	222,785± 13,83	39,0±2,72	1.683,37± 126,24	16.431,67± 412,49	5.639,94± 7,51	6.231,22± 631,49

EMO5F	310,83± 10,01	40,19± 1,30	3.290,93± 126,24	15.834,85± 446,74	5.136,60± 254,180	7.592,46± 224,74
--------------	------------------	----------------	---------------------	----------------------	----------------------	---------------------

Tabela 13: Concentração dos metais totais analisados em mg.kg⁻¹ nos ramos convencionais e orgânicos de amostras de erva-mate comercial

AMOSTRAS	Fe	Zn	Mn	K	Mg	Ca
EMC1R	57,57± 10,89	59,90± 2,58	742,22± 92,69	17.474,49± 419,82	3.453,75± 325,75	4.474,63± 411,02
EMC2R	93,03± 7,88	67,50± 3,61	807,09± 46,52	13.707,10± 164,77	3.204,99± 42,24	4.777,73± 263,82
EMC3R	154,32± 5,40	61,06± 4,43	1212,07± 78,74	14.067,63± 915,20	3.492,18± 217,25	6.795,06± 294,71
EMC4R	87,83± 3,00	35,70± 1,78	886,94± 79,67	12.577,47± 501,13	1.705,44± 254,51	4.331,26± 557,19
EMC5R	105,52± 13,02	48,62± 0,99	965,66± 46,76	14.775,36± 480,20	4.333,95± 504,02	6.416,34± 1.212,700
EMC6R	43,829± 0,01	32,84± 1,40	599,11± 57,14	14.915,16± 657,81	1.377,59± 157,50	4.798,01± 26,02
EMC7R	136,80± 15,64	72,26± 4,43	886,07± 0,37	15.618,26± 553,20	2.466,12± 365,62	7.218,54± 248,60
EMO1R	160,75± 10,45	59,92± 1,57	1.142,91± 79,91	14.280,28± 998,61	4.328,11± 665,47	5.592,73± 833,31
EMO3R	186,83± 10,44	67,98± 1,39	1.141,91± 45,63	13.493,70± 182,20	4.328,11± 440,99	5.599,75± 455,46
EMO4R	108,71± 7,99	32,31± 1,98	1.363,78± 0,61	13.880,82± 115,94	3.022,90± 249,87	4.398,26± 510,34
EMO5R	190,95± 25,79	57,71± 1,40	1.532,63± 45,34	13.150,42± 616,35	2.945,22± 253,09	3.764,17± 161,15

APÊNDICE 3

Tabela 14: Concentração dos metais analisados na decocção e infusão nas folhas em mg.L⁻¹ de amostras de erva-mate comercial

AMOSTRAS	Método	Fe	Zn	Mn	K	Mg	Ca
EMC1F	Decocção	2,82	24,20	1.244,41	14.116,31	1.454,57	2.385,30
	Infusão	7,26	8,70	1.275,35	14.981,90	1.001,97	2.056,51
EMC2F	Decocção	1,42	18,66	1.112,04	11.430,14	1.487,30	1.827,35
	Infusão	6,09	12,73	1.165,97	16.625,48	1.363,89	1.971,20
EMC3F	Decocção	2,12	14,41	1.635,58	12.116,69	1.471,66	1.892,08
	Infusão	5,71	8,67	1.161,33	16.261,45	1.040,82	1.706,37
EMC4F	Decocção	3,16	16,99	1.112,03	13.480,45	1.473,13	2.575,35
	Infusão	6,49	6,46	1.165,97	15.935,57	1.097,59	1.791,08
EMC5F	Decocção	5,95	29,34	1.504,69	15.967,52	1.457,48	2.095,87
	Infusão	7,26	7,70	1.501,08	16.090,56	1.059,74	1.791,88
EMC6F	Decocção	5,60	19,55	981,146	16.291,92	1.238,31	2.695,26
	Infusão	4,52	8,69	1.050,67	16.313,53	1.191,02	1.746,13
EMC7F	Decocção	8,37	33,64	1.504,69	16.373,02	1.441,82	2.862,68
	Infusão	4,92	9,71	1.165,97	16.295,27	1.343,60	1.655,28
EMO1F	Decocção	2,18	7,86	642,86	11.340,42	1.221,34	835,81
	Infusão	2,63	7,74	827,19	10.517,92	931,47	916,00
EMO2F	Decocção	2,53	10,60	640,93	16.107,81	1.338,66	915,06
	Infusão	2,62	7,73	937,76	10.678,39	1.123,13	1.168,54
EMO3F	Decocção	2,18	16,59	1.000,00	14.184,60	1.114,67	1.048,69
	Infusão	3,08	9,59	936,76	10.431,53	1.350,30	886,72
EMO4F	Decocção	2,87	8,31	523,81	14.103,34	1.461,34	882,22
	Infusão	3,08	7,26	939,57	11.362,28	840,99	900,39
EMO5F	Decocção	2,88	11,97	999,00	14.834,70	1.274,67	1.251,89

Infusão	3,54	9,62	1.393,77	12.948,18	1.087,75	1.107,55
---------	------	------	----------	-----------	----------	----------

Tabela 15: Concentração dos metais analisados na decocção e infusão nos ramos em mg.L⁻¹ em amostras de erva-mate comercial

AMOSTRAS	Método	Fe	Zn	Mn	K	Mg	Ca
EMC1R	Decocção	1,08	12,75	327,87	8.631,68	440,78	676,90
	Infusão	2,95	5,68	486,28	11.476,50	528,82	1.028,76
EMC2R	Decocção	0,73	16,12	456,90	11.209,65	408,19	805,29
	Infusão	2,95	7,69	373,56	11.282,69	606,17	1.052,40
EMC3R	Decocção	1,43	12,27	456,20	11.322,22	470,75	804,49
	Infusão	2,56	5,68	599,97	12.330,96	510,95	1.485,54
EMC4R	Decocção	1,77	11,83	456,19	11.376,18	344,94	822,55
	Infusão	3,34	4,68	480,28	10.803,72	548,80	1.204,68
EMC5R	Decocção	3,16	12,26	324,99	10.604,34	361,27	815,78
	Infusão	2,16	4,68	599,37	11.544,86	492,02	1.300,36
EMC6R	Decocção	4,20	12,68	325,57	11.430,14	501,02	909,71
	Infusão	4,13	5,68	373,19	10.861,29	473,10	910,57
EMC7R	Decocção	5,24	18,64	455,59	10.879,71	474,38	752,58
	Infusão	4,52	6,70	487,25	10.485,33	586,64	1.400,52
EMO1R	Decocção	1,83	10,67	522,76	6.898,08	835,50	690,47
	Infusão	1,24	4,91	486,76	7.976,99	840,99	863,66
EMO3R	Decocção	1,83	13,78	642,62	6.898,08	831,35	671,89
	Infusão	2,16	5,37	711,04	9.044,12	681,62	804,09
EMO4R	Decocção	1,83	9,24	640,30	9.417,21	688,00	645,25
	Infusão	2,62	4,43	824,72	10.861,85	592,45	499,03
EMO5R	Decocção	2,53	8,76	758,14	7.494,01	620,10	460,98

Infusão	2,62	3,96	824,72	10.840,24	608,83	590,08
---------	------	------	--------	-----------	--------	--------
