

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

RENNAN GEOVANNY OLIVEIRA ARAUJO

**Otimização de métodos analíticos e caracterização da
farinha de trigo refinada: uma contribuição à Tabela
Brasileira de Composição de Alimentos**

**Salvador/BA
MAIO/2007**

RENNAN GEOVANNY OLIVEIRA ARAUJO

**Otimização de métodos analíticos e caracterização da
farinha de trigo refinada: uma contribuição à Tabela
Brasileira de Composição de Alimentos**

Tese de Doutorado apresentada ao Colegiado dos Cursos de Pós-Graduação em Química como parte dos requisitos para a obtenção do grau de Doutor em Química, área de concentração: Química Analítica.

Orientador: Prof^o Dr. Sérgio Luís Costa Ferreira
Co-orientadora: Prof^a Dr^a Maria das Graças Andrade Korn

Salvador/BA
MAIO/2007

Sistema de Bibliotecas – IQ/UFBA

Araújo, Rennan Geovanny Oliveira.

Otimização de métodos analíticos e caracterização da farinha de trigo refinada: uma contribuição à Tabela Brasileira de Composição de Alimentos / Rennan Geovanny Oliveira Araújo. - 2007.
203 f. : il.

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Luis Costa Ferreira.

Co-orientadora: Prof^ª.Dr^ª. Maria das Graças Andrade Korn

Tese (doutorado) - Universidade Federal da Bahia, Instituto de Química, Salvador, 2007.

1. Farinha de trigo. 2. Farinha de trigo - Análise. 3. Farinha de trigo - Minerais. 4. Amostragem em suspensão. I. Ferreira, Sérgio Luis Costa. II. Korn, Maria das Graças Andrade. III. Universidade Federal da Bahia. Instituto de Química. IV. Título.

CDD - 633.11

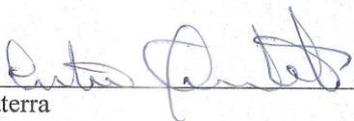
CDU - 543.6: 664.641.12

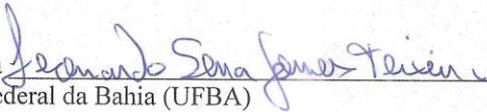
TERMO DE APROVAÇÃO

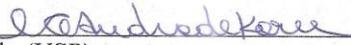
RENNAN GEOVANNY OLIVEIRA ARAÚJO

Otimização de métodos analíticos e caracterização da farinha de trigo refinada: uma contribuição à Tabela Brasileira de Composição de Alimentos

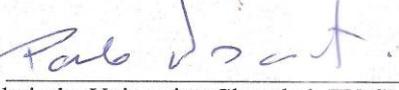
Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Química, Universidade Federal da Bahia, pela seguinte banca examinadora:

Profa. Dra. Cristina Maria A.L.T. da M.H. Quintella 
Doutorado em Química, Universidade de Sussex, Inglaterra
Universidade Federal da Bahia

Prof. Dr. Leonardo Sena Gomes Teixeira 
Doutorado em Química, Universidade Federal da Bahia (UFBA)
Universidade Salvador

Profa. Dra. Maria das Graças Andrade Korn 
Doutorado em Química, Universidade de São Paulo (USP)
Universidade Federal da Bahia

Profa. Dra. Maria Goreti Rodrigues Vale 
Doutorado em Engenharia de Ciências dos Materiais (UFRGS)
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof. Dr. Paulo Cicero do Nascimento 
Doutorado em Química Analítica, Technische Universität Clausthal, TU CLAUSTHAL,
Alemanha
Universidade Federal de Santa Maria

Prof. Dr. Sérgio Luis Costa Ferreira – Orientador 
Doutorado em Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, (PUC-RJ)
Universidade Federal da Bahia

Salvador, 17 de maio de 2007.

**Aos meus pais, Alina (meu Bem) e Francisco (Chiquito),
aos meus irmãos: Reinaldo (Reno), Jean Marcel e Carlos Alberto (Tico),
a minha tia e madrinha Valdelice (Tia Nego),
e à minha família.**

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela força e proteção na minha vida.

À minha família por tudo, em especial meu NÚCLEO familiar (meus pais e meus irmãos), e a minha tia e madrinha Valdelice;

A minha amiga Sarah Rocha, pela amizade, incentivo e atenção desde a graduação.

A Fábio Dias, Domingos e Diego pelo incentivo e as “doses” de alegria no laboratório 403.

Ao Professor Dr. Sérgio Luís Costa Ferreira, pela experiência enriquecedora e gratificante da maior importância para meu crescimento como ser humano e profissional.

À Professora Dr^a. Maria das Graças pela amizade, as excelentes aulas desde a graduação e pelo auxílio à parte experimental, principalmente envolvendo ICP OES.

Ao Professor Dr. Antonio Celso Spínola Costa pela amizade, colaboração, incentivo como pesquisador e as excelentes aulas ministradas no Programa de Pós-graduação em Química.

Aos participantes do Grupo de Pesquisa em Química Analítica (GPQA):

_Laboratório 408: Samuel (“meu filho científico”), Daniel, Anderson, Marcos Bezerra, Hadla, Ivon, Fábio Alan, Marcelo, Lindomar, Walter Nei, Cristiane, Ana Carolina, Daniel, Pedro, Erik, Marcelo, Sérgio (Dog), Geovani, as professoras Ana Pinto e Neyla, Fernanda;

_Laboratório 409: a minha amiga Elane, Denílson, Maribel, Márcia, Cássia, Ayala, Suzana, Euliane, Letícia, Daniele, Betânia (“interferência espectral”), Jacira, Dinho, Elecy e Wagna, pelo companheirismo, momentos de descontração e incentivo deste trabalho.

Aos amigos do Instituto de Química, em especial a Lindaura, Manuela, Simone, Viviane e Antonia.

Aos meus amigos particulares: Joilson, Henrique, Lourdes, Nascilene, Evandro, Leila, Jascione, Marcos Medina, Manoel Aires, Janaina, Roberto, Sara, Marcos Melo, Adivonildes, Aidil, Cláudio, Simone, Rita de Cássia, Lídia, Gregório, Jeane, Daniela Cedro, Jacqueline, entre outros, fiéis torcedores do sucesso deste trabalho.

Às minhas eternas colegas Márcia Maia, Edenir e Josimeire, pelo constante incentivo.

Aos funcionários do Instituto de Química especialmente a Alice, Ana Hilda, Eliomar, Egídia e Judith, pelo incentivo e estarem sempre dispostas a nos ajudar na busca do referencial teórico na Biblioteca Setorial do Instituto de Química. Seu Wilson, Cristovão e Paulo que também estão sempre dispostos a colaborar.

À Professora Dr^a Maria Fernanda Pimentel pela ajuda Quimiométrica, e principalmente, a grande pessoa e profissional que se demonstrou durante a minha ida a Recife.

A José Edson, Arnaldo e a secretária Suzana pela recepção na UFPE.

A Julio César e o pessoal do Laboratório de Análises no Departamento de Metalurgia e Materiais na UFMG, pela ajuda com a parte experimental com ICP-MS.

Às Professoras Dr^a Maria Goreti e Márcia Messias pela ajuda com a análise direta de sólido, e principalmente, pelo grande recurso humano que se demonstraram durante a minha ida a Porto Alegre.

Aos amigos da UFRGS: Isabel, Morgana, Pedro, Roger, Tâmara, Alexandre, Cristiano e em especial ao Nédio pelos momentos de alegria compartilhada no verão quente de Porto Alegre.

Ao programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal da Bahia

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudo.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) pela concessão da bolsa de estudo

E a todas as pessoas que ajudaram diretamente e indiretamente para a realização deste trabalho, principalmente aos que trouxeram amostras de farinha de trigo.

*“O mistério não é um muro
onde a inteligência esbarra,
mas um oceano onde ela
mergulha.”*

(Tribon)

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1. Limites de tolerância para a Farinha de Trigo.....	39
Tabela 1.2. Composição mineral da farinha de trigo por 100 g de parte comestível:	43
Tabela 3.1. Comparação dos limites de detecção em ng g^{-1} empregando GF AAS, IC-ICP OES e GD-MS para os diferentes elementos químicos determinados a partir do trióxido de tungstênio azul.....	57
Tabela 3.2. Trabalhos desenvolvidos utilizando a técnica de vaporização eletrotérmica.....	58
Tabela 3.3. Aplicações da técnica de amostragem em suspensão	67
Tabela 3.4. Publicação utilizando FAAS na análise de suspensões.....	70
Tabela 3.5. Amostragem em suspensão versus da amostragem direta de sólido, ambas usando GF AAS.....	71
Tabela 4.1. Parâmetros operacionais do espectrômetro de absorção atômica em chama para determinação de manganês	74
Tabela 4.2. Equações das calibrações analíticas para determinação de manganês em farinha de trigo por FAAS.	83
Tabela 4.3. Determinação de manganês em materiais de referência certificados de farinha de arroz utilizando amostragem em suspensão e detecção por FAAS. ($n = 3$)	85
Tabela 4.4. Resultado da concentração de manganês obtida nas amostras de farinha de trigo por FAAS:	86
Tabela 5.1. Parâmetros operacionais do GF AAS para determinação de cádmio: ...	91
Tabela 5.2. Figuras de mérito para a determinação de Cd em farinha de trigo, utilizando SS-GFAAS e SIS-GF AAS.	104
Tabela 5.3. Determinação de cádmio em materiais de referência certificado utilizando SS-GF AAS e SIS-GF AAS e calibração versus padrões aquoso; todos os valores médios e desvio padrão de $n = 5$ medidas.	105
Tabela 5.4. Resultados obtidos para determinação de cádmio em amostras de farinha de trigo, por SS-GF AAS e SIS-GF AAS ($n = 5$)	106

Tabela 7.1: Siglas das amostras conforme a sua cidade de coleta	122
Tabela 7.2: Condições para dissolução da amostra de farinha de trigo usando digestão ácida utilizando placa de aquecimento (n = 2).....	126
Tabela 7.3: Razões Mg II 280,270 nm / Mg I 285,213 nm	129
Tabela 7.4: Parâmetros operacionais do ICP OES:.....	131
Tabela 7.5: Linhas de emissões e suas respectivas faixas de trabalho:.....	131
Tabela 7.6. Comparação entre equações das técnicas de calibrações analíticas para Ca, Cu, Fe, Mg, K, Mn, P e Zn.	134
Tabela 7.7. Técnica de regressão linear para análise de farinha de trigo.....	136
Tabela 7.8. Análise do material de referência certificado de farinha de trigo NIST 1567a para todas as linhas espectrais:	137
Tabela 7.9. Valores obtidos a partir da técnica de adição de analito	138
Tabela 7.10. Parâmetros de mérito, BEC, LD e LQ, obtidos para a determinação de Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, P e Zn em farinha de trigo por ICP OES:.....	139
Tabela 7.11. Desvio padrão relativo dos oito elementos determinados na amostra de farinha de trigo por ICP OES.....	140
Tabela 7.12. Linhas de emissões selecionadas para análise das amostras de farinha de trigo por ICP OES.....	141
Tabela 7.13. Concentração dos elementos encontrados nas amostras de farinha de trigo de diferentes cidades brasileiras*	142
Tabela 7.14. Média, variação e desvio padrão das concentrações das encontradas nas 54 amostras de farinha de trigo (n =3):.....	144
Tabela 7.15. Pesos das variáveis das três primeiras componentes principais	145
Tabela 7.16: Média, mediana e desvio padrão para os oitos elementos	151
Tabela 8.1: Siglas das amostras conforme a sua cidade de coleta	156
Tabela 8.2: Programa de aquecimento do forno de microondas utilizada para digestão das amostra de farinha de trigo	157
Tabela 8.3: Características operacionais do ICP-MS	158
Tabela 8.4: Resultados referentes a recuperação 10 e 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ para todos elementos sem e com adição do padrão interno (n=3).	162

Tabela 8.5: Análise do material de referência certificado de farinha de trigo NIST 1567a por ICP-MS.....	163
Tabela 8.6: Determinação de Ba, Cr, Ga, Ni, Rb, Ni, V e Mo na amostra de farinha de trigo por ICP-MS.....	166
Tabela 8.7: Limite de detecção e quantificação para Ba, Cr, Rb, Sr, V, Mo e Se por ICP-MS.....	170
Tabela 8.8. Desvio padrão relativo dos sete elementos determinados na amostra de farinha de trigo por ICP-MS:.....	171
Tabela 8.9: Isótopo e sua respectiva abundância*	171
Tabela 8.10. Média, variação e desvio padrão das concentrações das encontradas nas 25 amostras de farinha de trigo por ICP-MS (n =3)*:.....	172
Tabela 8.11. Resultados de Ba, Cr, Rb, Sr, V, Se e Mo para 25 amostras de trigo consumidas em cidades brasileiras (n=3)*.....	173
Tabela 8.12: Pesos das variáveis das duas primeiras componentes principais.....	174
Tabela 9.1. Média, mediana e variação das concentrações dos dezesseis elementos nas amostras de trigo brasileiras determinados pelas técnicas espectrométricas atômicas:.....	181

LISTA DE FIGURAS

Figura 4.1. MVE – Aglomerados de farinha de trigo.....	78
Figura 4.2. MVE – Tamanho das partículas de farinha de trigo.....	78
Figura 4.3. MVE – Tamanho das partículas de farinha de trigo.....	79
Figura 4.4. MVE – Tamanho das partículas de farinha de trigo.....	79
Figura 4.5. Estudo da natureza e concentração dos ácidos no preparo da suspensão de farinha de trigo.	81
Figura 4.6. Estudo do tempo de sonicação no preparo da suspensão de farinha de trigo	82
Figura 4.7. Estudo relativo à massa para o preparo da suspensão de farinha de trigo	83
Figura 5.1. Sinal de atomização para Cd em cerca de 1 mg de farinha de trigo, utilizando análise direta sólida com uma pirólise temperatura de 700 ° C e uma temperatura de atomização 1600 ° C, a) com a adição de 10 µ g Pd + 3 µ g Mg + 0,05% Triton X-100 como a Modificador; b) mesmo que a), mas com o uso adicional de 0,1% H ₂ O ₂ ; AA = absorção atômica; BG = absorção de sinal de fundo.....	94
Figura 5.2. Correlação entre a massa de farinha de trigo introduzida no forno de grafite e os valores de absorvância integrada. T _p = 700 ° C; T.a. = 1600 ° C; modificador: 10 µg Pd + 3 µg Mg + 0,05% Triton X-100 + 0,1% H ₂ O ₂	95
Figura 5.3. Curvas de pirólise para cádmio na presença de 10 µg Pd + 3 µg Mg + 0,05% Triton X-100 + 0,1% H ₂ O ₂ como modificador; (●) 0,02 ng Cd em 0,014 mol L ⁻¹ HNO ₃ ; (■) absorvância integrada normalizada para 2,0 mg de amostra de farinha de trigo. Temperatura atomização = 1600 °C. Todos os pontos de média e desvio padrão de n = 5 medições.....	96
Figura 5.4. Pulsos de atomização de Cd, temperatura de pirólise de 800 ° C e temperatura de atomização = 1600 ° C, com o acréscimo de 10 µg Pd + 3 µg Mg + 0,05% v/v Triton X-100 + 0,1% v/v H ₂ O ₂ como modificador; a) 0,02 ng Cd em 0,014 mol L ⁻¹ HNO ₃ ; b) 2,0 mg de farinha de trigo.	97
Figura 5.5. Sinais Atomização para Cd obtidos para uma, três e cinco alíquotas de 20 µ L de suspensão de 1% m / v de farinha de trigo em grafite de tubo com 30 µg Pd + 12 µg Mg + 0,05% Triton X-100 + 0,1% v / v H ₂ O ₂ como modificador químico. T _p = 800 ° C e T.a. = 1600 ° C.	100

Figura 5.6. Curvas de pirólise para (●) 0,02 ng de Cd e (■) Suspensão 1,0% (m /v) de farinha de trigo (5 x 20 µ L), ambas com 30 µg Pd + 12 µg Mg + 0,05% triton X-100 como modificador químico. T.a. = 1600 ° C..... 101

Figura 5.7. Sinais de atomização de Cd, utilizando a temperatura de pirólise de 800 ° C e temperatura de atomização de 1600 ° C, com adição de 30 µg Pd + 12 µg Mg + 0,05% triton X-100 como modificador químico. a) 0,02 ng Cd em 0,014 mol L⁻¹ HNO₃ + 0,1% v / v H₂O₂; b) 5 alíquotas de 20 µ L de uma suspensão 1% m / v de farinha de trigo. 102

Figura 5.8: Resultados obtidos para determinação de cádmio em amostras de farinha de trigo, por SS-GF AAS e SIS-GF AAS (n = 5) 106

Figura 6.1. A matriz original (**X**) de tamanho $n * p$ é decomposta em duas matrizes reduzidas de tamanho $n * d$ e $d * p$, sendo mais fácil de interpretar, compreender e conter toda informação relevante. Fonte [144]..... 116

Figura 7.1. Razão Mg I/Mg II solução multielementar de Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, P e Zn em meio de ácido nítrico 2 mol L⁻¹ 130

Figura 7.2. Razão Mg I / Mg II para a amostra de farinha de trigo 130

Figura 7.3. Gráfico de escores para agrupamentos os dois formados a partir da análise das duas primeiras componentes principais. 147

Figura 7.4. Gráfico de escores da PC1 versus PC3 para as amostras de farinha de trigo brasileiras 148

Figura 7.5: Dendograma: método da ligação simples com distância Euclideana... 150

Figura 7.6. Gráfico da concentração de Mn versus a concentração de Cu (R = 0,80) para as 54 amostras de farinha de trigo..... 152

Figura 8.1: Análise de regressão linear entre as concentrações dos elementos químicos de obtidas pelo uso dos padrões internos Rh e Ge 164

Figura 8.2. Gráfico de escores da PC1 versus PC2 com relação para as amostras de farinhas de trigo brasileira 175

Figura 8.3. Dendograma com método Ward's medida da distância Euclideana... 178

Figura 9.1. Concentração média e o desvio padrão de K, Mg, P e Ca em 41 amostras de farinhas de trigo brasileira (n=41). 182

Figura 9.2. concentração média e o desvio padrão de Cu, Fe, Mn e Zn em 41 amostras de farinhas de trigo brasileira. 182

Figura 9.3. Concentração média e o desvio padrão de Cd (n=6), Cr, V, Se e Mo em 23 amostras de farinhas de trigo brasileira 183

Figura 9.4. Concentração média e o desvio padrão de Ba, Rb e Sr em 23 amostras de farinha de trigo brasileiras 183

Figura 9.5. Histogramas das concentrações de Ca , Cu, Fe, K , Mg, Mn, P e Zn nas amostras de farinhas trigo brasileira (n=41). 184

Figura 9.6. Histogramas das concentrações de Cd (n=6) , Ba, Cr, Rb, Sr, V, Se e Mo nas farinhas de trigo brasileira (n=23). 185

LISTA DE ABREVIATURAS

ABREVIATURA	NOME POR EXTENSO
A. A.	Técnica de adição de analito
AAS	Espectrometria de absorção atômica
Abs. Int. / s	absorvância integrada por segundo
ADP	adenosina difosfato
AES	Espectrometria de emissão atômica
ANOVA	Análise de variância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AOAC	Associação Oficial de Químicos Analíticos, <i>do inglês Association of Official Analytical Chemists</i>
APHA	Associação de Saúde Pública Americana, <i>do inglês American Public Health Association</i>
ATP	adenosina trifosfato
BAM	Manual Analítico Bacteriológico, <i>do inglês Bacteriological Analytical Manual</i>
BCR	Comissão da Comunidade Européia de Referência de Comunidades de Mesa, <i>do inglês Community Bureau of Reference of the European Communities Commission</i>
BEC	Concentração equivalente ao sinal de fundo, <i>do inglês concentration equivalent background</i>
BRASILFOODS	Rede Brasileira de Sistemas de Alimentos
CCD	Dispositivo de carga acoplada, <i>do inglês Charge Coupled Device</i>
CMD	Concentração média determinada
CV	coeficiente de variância
CV AAS	Espectrometria de absorção atômica com vapor frio
DA	Análise discriminante, <i>do inglês Discriminant analysis</i>
DC arc OES	Espectrometria de emissão óptica com corrente contínua
ETV	Vaporização eletrotérmica
ETV-DC arc OES	Espectrometria de emissão óptica com corrente contínua à combinada vaporização eletrotérmica
ETV-ICP OES	Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado combinada à vaporização eletrotérmica
ETV-ICP-MS	vaporização eletrotérmica combinada à espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado

FAES	Espectrometria de emissão atômica com chama
OES	Espectrometria de emissão óptica
FAO	Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação
FP	potência total, <i>do inglês full power</i>
GD-MS	Espectrometria de massa com descarga luminescente
GF AAS	Espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica com atomização em forno de grafite
HCA	Análise de agrupamento hierárquico, <i>do inglês hierarchical cluster analysis</i>
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IC-ICP OES	Cromatografia iônica acoplada a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado
ICP	Plasma indutivamente acoplado
ICP OES	Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado
ICP-MS	Espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado
INAA	Ativação neutrônica instrumental
INFOODS	Rede Internacional de Sistemas de dados de Alimentos
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial
IRD	ingestão dietética diária
ISO	Organização internacional de Normalização
LATINFOODS	Rede Latino-Americana de Sistemas de Dados de Alimentos
LD	limite de detecção
LQ	limite de quantificação
MVE	Micrografia de varredura eletrônica
Nepa/Unicamp	Núcleo de Estudos de Pesquisa em Alimentos da Universidade de Campinas
Nies	National Institute for Environmental Studies
NIST	National Institute of Standards and Technology
OMS	Organização Mundial de Saúde
PC	Componente principal, <i>do inglês principal component</i>
PCA	Análise de componente principal, <i>do inglês principal component analysis</i>
RF	radiofrequência
RDA	ingestão diária recomendados, <i>do inglês recommend dietary allowances</i>

RSD	desvio padrão relativo, do inglês <i>relative standard deviation</i>
S. A.	Técnica de calibração externa em meio de ácido nítrico
SBR	Razão sinal líquido pelo sinal de fundo, do inglês <i>signal to background ration</i>
SS-GF AAS	Espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite e amostragem direta de sólido
Ta	Temperatura de atomização
Tp	Temperatura de pirólise
TACO-Unicamp	Tabela Brasileira de Composição de Alimentos - Universidade de Campinas
TBCA-USP	Tabela Brasileira de Composição de Alimentos - Universidade de São Paulo
TMHA	hidróxido de tetrametilamônio
TNAA	Ativação neutrônica térmica
Triton X-100	surfactante iônico octilfenoletoxilato ($C_{14}H_{22}O(C_2H_4O)_n$)
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
UFRGS	Universidade Federal do Rio Grande do Sul
USDA	Departamento de Agricultura dos Estados Unidos
USP	Universidade de São Paulo

RESUMO

A farinha de trigo é um produto muito importante consumida em muitas partes do mundo. A determinação de seus constituintes é de interesse tanto nutricional como toxicológico. No intuito de rastrear nutrientes e contaminantes presentes na composição mineral da farinha de trigo consumida em cidades brasileiras foi desenvolvido um estudo de investigação de forma a ampliar dados sobre tal gênero alimentício. Foram desenvolvidos quatro trabalhos para determinação de metais em farinha de trigo usando técnicas espectrométricas atômicas. O primeiro trabalho consistiu na determinação de manganês em amostras coletadas na cidade de Salvador, Bahia, Brasil - utilizando amostragem suspensão e detecção por espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS). A concentração de manganês nas amostras variou entre $5,2 \pm 0,7$ a $7,6 \pm 0,5 \mu\text{g g}^{-1}$. Os limites de detecção e de quantificação foram $0,13$ e $0,44 \mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente. A precisão foi expressa através do desvio padrão relativo (%RSD) foi de 3,5 % (n=10). A exatidão foi confirmada através de análise de três materiais de referência certificados de farinha de arroz. O uso da calibração com padrões aquosos facilitou um procedimento simples e rápido para determinação de manganês em farinha de trigo. No segundo trabalho, foram comparados dois métodos analíticos para determinação de cádmio empregando a espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite (GF AAS) sem a digestão da amostra de farinha de trigo através da amostragem direta de sólidos (SS) e a amostragem em suspensão com múltiplas injeções (SIS) como introdução. Após a otimização das condições usando a mistura paládio e magnésio como modificador químico, a temperatura de pirólise usada foi de 800 °C, e 1600 °C como temperatura de atomização, sem observação de sinal fundo de absorção. A calibração versus padrões aquosos foi utilizado para ambos os métodos otimizados. Foram estabelecidas as figuras de mérito: massa característica 0,6 e 1,0 pg, limite de detecção (3σ , n = 10) 0,2 e 0,7 ng g⁻¹, limite de quantificação (10σ , n = 10) 0,7 e 2,3 ng g⁻¹ e precisão expressa como desvio padrão relativo (n=5) de 6 – 16% e 9 – 23% para SS e SIS, respectivamente. As análises de materiais de referência certificados de farinha de trigo, folhas de maçãs, farelho de milho e pão confirmaram a exatidão dos métodos. Seis amostras de farinha de trigo foram analisadas para determinação de cádmio coletadas em cidades brasileiras, sendo encontrado a concentração desse elemento variando entre $8,9 \pm 0,5$ e $13 \pm 2 \mu\text{g kg}^{-1}$ nas amostras. Aplicou-se teste *t-Student* aos resultados obtidos pelo os dois métodos propostos, estando os dados concordantes para nível de 95% de confiança. O método SS foi escolhido como método de rotina, devido à sua simplicidade, a velocidade de análise e os melhores valores de figura de mérito. O terceiro trabalho, a composição mineral da farinha de trigo consumida no Brasil foi avaliada. Na etapa de amostragem foram coletadas 54 amostras em 15 cidades, incluindo as principais cidades brasileiras como: São Paulo, Rio de Janeiro, Salvador, Porto Alegre, Recife e outras. Os elementos determinados foram: cálcio, cobre, magnésio, manganês, ferro, fósforo, potássio e zinco. A técnica analítica empregada foi a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES). A validação do método (incluindo digestão e determinação) foi confirmada usando um material de referência certificado de farinha de trigo fornecido pelo NIST. Considerando as 54 amostras

analisadas, os resultados demonstraram que os macronutrientes: cálcio, magnésio, potássio e fósforo encontram-se em média de 0,27; 0,35; 1,71 e 1,92 mg g⁻¹, com variação da concentração de 0,11 – 1,96; 0,19 – 0,51; 0,76 – 3,16 e 0,81 – 7,15 mg g⁻¹, respectivamente. Os micronutrientes: cobre, ferro, manganês e zinco encontram-se em média de 1,84; 37,82; 8,25 e 9,41 µg g⁻¹, com a variação de concentração de 1,00 – 2,80; 10,46 – 146,58; 3,89 – 14,74 e 5,07 – 13,93 µg g⁻¹, respectivamente. Os resultados foram avaliados também usando as técnicas de análise multivariadas: análise de componente principal (PCA) e análise de agrupamento hierárquico (HCA). Por fim, o quarto trabalho foi desenvolvido para determinação de Ba, Cr, Rb, Sr, V, Se e Mo empregando a espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) em 25 amostras de farinha de trigo coletadas em cidades brasileiras. Foi utilizado o procedimento de digestão assistida por microondas em sistema fechado. A validação do método foi confirmada através da adição e recuperação para todos analitos e análise de material de referência certificado de farinha de trigo NIST 1567a para Se, Mo e Rb. Os valores foram satisfatórios com uso de germano como padrão interno. Apiciando as 25 amostras analisadas, os resultados demonstraram que concentração variou entre 1,71 – 10,83 µg g⁻¹ para Ba; 0,060 – 0,307 µg g⁻¹ para Cr; 0,77 – 4,23 µg g⁻¹ para Rb; 0,61 – 5,72 µg g⁻¹ para Sr; 0,023 – 0,108 µg g⁻¹ para V; 0,058 – 0,952 µg g⁻¹ para Se e 0,115 – 0,684 µg g⁻¹ para Mo. Os resultados foram avaliados também usando as técnicas de análise multivariadas: PCA e HCA.

Palavras-chaves: *farinha de trigo, composição mineral, amostragem em suspensão, análise direta de sólidos, FAAS, GF AAS, SS-GF AAS, ICP OES, ICP-MS, PCA e HCA.*

ABSTRACT

The wheat flour is a very important product consumed in many parts of the world. The determination of its constituents is of interest both nutritional and toxicological. In order to trace nutrients and contaminants present in the mineral composition of wheat flour consumed in Brazilian cities was conducted a research study in order to expand data on such foodstuff. There have been four works for determination of metals in wheat flour using atomic spectrometric techniques. The first work was the determination of manganese in samples collected in the city of Salvador, Bahia, Brazil - using slurry and detection by flame atomic absorption spectrometry (FAAS). The concentration of manganese in the samples ranged between 5.2 ± 0.7 a $7.6 \pm 0.5 \mu\text{g g}^{-1}$. The limits of detection and quantification were 0.13 and $0.44 \mu\text{g g}^{-1}$, respectively. The precision was expressed by the relative standard deviation (RSD%) was 3.5% (n=10). The accuracy was confirmed through analysis of three rice flour certified reference materials. The use of calibration standards against aqueous facilitated a simple and rapid procedure for determination manganese in wheat flour samples. In the second work, were compared two methods to cadmium determination employing graphite furnace atomic absorption spectrometry (GF AAS) without the digestion of the wheat flour sample, through direct solid sampling (SS) and slurry with multiple injections(SIS) as form of introduction. After the optimization of conditions using a mixture of palladium and magnesium as chemical modifier, the temperature pyrolysis used was 800°C and 1600°C as temperature, atomization, without remark the of background. The calibration against aqueous standards was used for both methods optimized. The parameter of merit were established: characteristic mass of 0.6 and 1.0 pg Cd , detection limit (3σ , $n = 10$) of 0.2 and 0.7 ng g^{-1} , limit of quantification (3σ , $n = 10$) of 0.7 and 2.3 ng g^{-1} and precision expressed as standard deviation relative ($n = 5$) between 6-16% and 9-23% for SS and SIS, respectively. The analysis of certified reference materials of wheat flour, apples leaves, corn bread and brown bread confirmed the accuracy of the methods. Six samples of wheat flour were collected in Brazilian cities and analyzed for determination of cadmium. The cadmium concentration found range between 8.9 ± 0.5 and $13 \pm 2 \mu\text{g kg}^{-1}$ in the samples. It was applied the Student's t-test results obtained for two methods proposed, and the data agreement on a 95% confidence level. The SS method was chosen as routine method, because of its simplicity, speed of analysis and the best values of parameter of merit. The third work, the mineral composition of wheat flour consumed in Brazil was evaluated. In the sampling step 54 samples were collected in 15 cities, including principal Brazilian cities such as: São Paulo, Rio de Janeiro, Salvador, Porto Alegre, Recife and others. The elements determinate were: calcium, copper, magnesium, manganese, iron, phosphorus, potassium and zinc. The samples were digested using nitric acid and hydrogen peroxide in open system. The analytical technique employed was Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (ICP OES). The method validation (including digestion and determination) was performed using a certified reference material of wheat flour furnished by National Institute of Standards & Technology

(NIST). Considering the 54 samples analyzed, the results demonstrated that the macronutrients: calcium, magnesium, potassium and phosphorus have average content of 0.27, 0.35, 1.71 and 1.92 mg g⁻¹, for concentration ranges of 0.11-1.96, 0.19-0.51, 0.76-3.16 and 0.81-7.15 mg g⁻¹, respectively. The micronutrients: copper, iron, manganese and zinc have average content of 1.84, 37.8, 8.2 and 9.4 µg g⁻¹, for concentration ranges of 1.00-2.80, 10.5-146.6, 3.9-14.7 and 5.1-13.9 µg g⁻¹, respectively. The results were also evaluated using the multivariate analysis techniques: principal component analysis (PCA) and hierarchical cluster analysis (HCA). Finally, the fourth work was conducted to determine Ba, Cr, Rb, Sr, V, Mo and employing inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) in 25 samples of wheat flour collected in Brazilian cities. The procedure assisted by microwave digestion in closed system was used. The accuracy of the method was confirmed by the addition and recovery for all analytes and analysis of certified reference material of wheat flour NIST 1567 for Se, Mo and Rb. The parameters of merit were satisfactory with the use of germanium (⁷⁴Ge) as internal standard. The 25 wheat flour samples were analyzed, the results showed concentrations ranging between 1.71 - 10.83 µg g⁻¹ for Ba, 0.060 - 0.307 µg g⁻¹ for Cr, 0.77 - 4.23 µg g⁻¹ for Rb; 0.61 - 5.72 µg g⁻¹ for Sr; 0.023 - 0.108 µg g⁻¹ for V; 0.058 - 0.952 µg g⁻¹ for Se and 0.115 - 0.684 µg g⁻¹ for Mo. The results were also evaluated using the techniques of multivariate analysis: PCA and HCA.

Keywords: *wheat flour, mineral composition, slurry, direct solid sampling, FAAS, GF AAS, SS-GF AAS, ICP OES, ICP-MS, PCA and HCA.*

ÍNDICE

LISTA DE TABELAS

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE ABREVIATURAS

RESUMO

ABSTRACT

INTRODUÇÃO	29
CAPÍTULO 1	34
O TRIGO	34
1.1. O trigo e sua importância	34
1.1.1. A história do trigo	34
1.2. A farinha de trigo brasileira.....	36
1.2.1 A regulamentação técnica de identidade e qualidade da farinha de trigo brasileira	38
1.2.2. A fortificação da farinha de trigo	39
1.3 Análise da farinha de trigo.....	40
1.3.1. Composição química da farinha de trigo.....	41
CAPÍTULO 2	44
OS ELEMENTOS QUÍMICOS ESSENCIAIS À VIDA.....	44
2.1. Elementos essenciais na dieta humana	44
2.1.1. Cálcio.....	45
2.1.2. Fósforo.....	45

2.1.3. Magnésio	46
2.1.4. Cobre	46
2.1.5. Manganês	47
2.1.7. Ferro	48
2.1.8. Potássio	49
2.1.9. Bário	49
2.1.10. Cromo	50
2.1.11. Rubídio	51
2.1.12. Estrôncio	51
2.1.13. Vanádio	52
2.1.14. Selênio	53
2.1.15. Molibdênio	53
2.1.16. Cádmio	54
CAPÍTULO 3	55
AMOSTRAGEM DE SÓLIDOS	55
3.1. Análise de sólidos	55
3.1.1. Análise direta de sólido	56
3.2. Análise direta de sólidos utilizando a técnica de vaporização eletrotérmica combinada às técnicas espectrométricas multielementares	57
3.3. Emprego da análise direta de sólido utilizando detecção por espectrometria de absorção atômica	59
3.3.1. Amostragem direta de sólido usando a espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno e grafite	59
3.3.2. Amostragem direta de sólido usando espectrometria de absorção atômica com chama	60
3.4. A técnica de amostragem em suspensão	61
3.4.1. Fatores críticos no preparo das suspensões	62
3.4.1.1. Tamanho da partícula	62
3.4.1.2. Concentração da suspensão e o diluente	63
3.4.1.3. Modificadores químicos	64
3.4.1.4. Precisão e exatidão	64
3.4.1.5. Curva de calibração	65
3.4.2. Aplicações da técnica de amostragem em suspensão	65
3.5. A técnica de amostragem em suspensão aplicada à espectrometria de absorção atômica com chama	70
3.6. Amostragem em suspensão versus análise direta de sólido empregando detecção por espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite	71

CAPÍTULO 4	72
DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO PARA DETERMINAÇÃO DE MANGANÊS EM FARINHA DE TRIGO POR AMOSTRAGEM EM SUSPENSÃO USANDO ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM CHAMA	72
4.1. Equipamentos e materiais utilizados	72
4.1.1. Instrumentos	72
4.1.2. Preparo das soluções.....	72
4.1.2.1. Solução de manganês $100 \mu\text{g mL}^{-1}$	72
4.1.2.2. Soluções de ácido nítrico.....	73
4.1.2.3. Soluções de ácido clorídrico	73
4.2. Amostras	73
4.2.1. Materiais de referência certificados	73
4.3. Preparo das suspensões.....	74
4.4. Dissolução completa das amostras de farinha de trigo usando digestão úmida em placa de aquecimento	75
4.5. Parâmetros de mérito	75
4.5.1. Limite de detecção e limite de quantificação	75
4.5.2. Precisão	76
4.5.3. Exatidão.....	76
4.6. Resultados e discussão.....	77
4.6.1. O tamanho da partícula	77
4.6.2. Condições experimentais para o preparo das suspensões	80
4.6.2.1. Natureza do ácido e sua concentração	80
4.6.2.2. Tempo de sonicação	81
4.6.2.3. Estudo relativo à massa de amostra	82
4.6.2.4. Curva de calibração	83
4.6.3. Método proposto	84
4.6.3.1. Parâmetros de mérito.....	84
4.6.3.1.1. Limite de detecção e limite de quantificação	84
4.6.3.1.2. Precisão.....	84
4.6.3.1.3. Exatidão.....	85
4.6.4. Aplicação	85
4.6.5. Conclusão.....	87

CAPÍTULO 5	88
DETERMINAÇÃO DE CÁDMIO EM AMOSTRA DE FARINHA DE TRIGO POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM ATOMIZAÇÃO ELETROTÉRMICA EM FORNO DE GRAFITE: UMA COMPARAÇÃO ENTRE A AMOSTRAGEM DIRETA DE SÓLIDOS E A AMOSTRAGEM EM SUSPENSÃO. ...	
	88
5.1. Equipamentos e materiais utilizados	88
5.1.1. Instrumentos e acessórios	88
5.1.2. Reagentes	89
5.1.2.1. Solução de cádmio $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$	89
5.1.2.2. Solução de ácido nítrico	89
5.1.2.3. Solução mista de modificador	89
5.2. Amostras	89
5.2.1. Materiais de referência certificados	89
5.2.2. Coleta e identificação das amostras de farinha de trigo	90
5.3. Parâmetros operacionais empregando GF AAS	90
5.4. Preparo das suspensões.....	91
5.5. Resultados e discussão.....	92
5.5.1. Determinação de cádmio em farinha de trigo	92
5.5.2. Método de análise direta de amostras sólidas.....	93
5.5.2.1. Otimização das condições experimentais para amostragem direta de sólidos.....	93
5.5.2.1.1. Perfil de absorvância	93
5.5.2.1.2. Estudo da massa	94
5.5.2.1.3. Otimização das temperatura de pirólise	95
5.5.2.2. Método proposto para análise direta de amostras sólidas	97
5.5.3. Método de amostragem em suspensão.....	98
5.5.3.1. Otimização das condições experimentais para amostragem em suspensão.....	98
5.5.3.1.1. Estabilidade e diluente da suspensão	98
5.5.3.1.2. Técnica de pré-concentração empregando a técnica de multi-injeções	99
5.5.3.1.3. Seleção das temperaturas de pirólise e atomização	100
5.5.3.2. Método proposto para análise de suspensão.....	102
5.5.4. Determinação de cádmio usando GF AAS: uma comparação entre amostragem em suspensão e a amostragem direta de sólido.....	103
5.5.4.1. Figuras de mérito	103
5.5.4.2. Exatidão do método	104
5.5.4.3. Análise de amostras de farinha de trigo	105

5.5.5. Conclusão	106	
CAPÍTULO 6	107	
TÉCNICAS ESPECTROMÉTRICAS MULTIELEMENTARES E A QUIMIOMETRIA		
.....	107	
6.1. Técnicas espectroanalíticas multielementares	107	
6.1.1. Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado ..	107	
6.1.2. Espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado	109	
6.2. Quimiometria	112	
6.2.1. Análise multivariada	113	
6.2.1.1. Análise de agrupamento	114	
6.2.1.2. Análise de componentes principais	114	
6.2.1.2.1. Descrição matemática das componentes principais	115	
6.3. Aplicações da análise exploratória de dados na Química Analítica	117	
CAPÍTULO 7	120	
DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO MINERAL DA FARINHA DE TRIGO DE		
CIDADES BRASILEIRAS EMPREGANDO ICP OES E CARACTERIZAÇÃO POR		
TÉCNICAS EXPLORATÓRIAS DE DADOS		120
7.1. Equipamentos e materiais utilizados	120	
7.1.1. Instrumentos	120	
7.1.2. Preparo das soluções	120	
7.1.2.1. Solução multielementar de cobre, ferro, manganês e zinco	120	
7.1.2.2. Solução de cálcio, magnésio e potássio	121	
7.1.2.3. Solução de fósforo	121	
7.1.2.4. Solução de ácido nítrico	121	
7.2. Amostras	121	
7.2.1. Material de referência certificado	121	
7.2.2. Coleta e identificação das amostras de farinha de trigo	122	
7.2.3. Dissolução ácida das amostras de farinha de trigo	123	
7.3. Figuras de mérito	123	
7.3.1. Concentração equivalente ao sinal de fundo, limite de detecção e limite de quantificação	123	
7.4. Análise multivariada dos dados	125	
7.4.1. Análise de componentes principais	125	
7.4.2 Análise de agrupamento	125	

7.5. Resultados e discussão.....	126
7.5.1. Otimização das condições experimentais para determinação de elementos em farinha de trigo usando ICP OES.....	126
7.5.1.1. Dissolução da amostra.....	126
7.5.1.2. Otimização dos parâmetros experimentais de operação do ICP OES.....	127
7.5.1.2.1. Seleção das linhas de emissão.....	131
7.5.2. Parâmetros de mérito.....	139
7.5.2.1. Concentração equivalente de sinal de fundo, limite de detecção e limite de quantificação.....	139
7.5.3. Aplicação do método proposto.....	140
7.5.3.1. Determinação analítica.....	140
7.5.4. Análise multivariada dos dados.....	145
7.5.4.1. Análise de componentes principais.....	145
7.5.4.2. Análise de agrupamento.....	148
7.5.4.1.1 – Síntese dos dados.....	151
7.5. Conclusão.....	153

CAPÍTULO 8.....	154
-----------------	-----

ANÁLISE MULTIELEMENTAR DE FARINHA DE TRIGO DE CIDADES

BRASILEIRAS POR ICP-MS E TÉCNICAS EXPLORATÓRIAS DE DADOS.....	154
---	-----

8.1. Equipamentos e materiais utilizados.....	154
8.1.1. Instrumentos.....	154
8.1.2. Preparo das soluções.....	154
8.1.2.1. Solução utilizada para a daily performance.....	154
8.1.2.2. Solução de ródio e germânio 100 µg L ⁻¹	154
8.1.2.4. Solução de padrão multielementar.....	155
8.2. Amostras.....	155
8.2.1. Material de referência certificado.....	155
8.2.2. Coleta, preparação e conservação das amostras de farinha de trigo.....	156
8.3. Procedimentos de digestão assistida por forno de microondas.....	156
8.4. Otimização das condições operacionais do ICP-MS.....	157
8.4.1. Curva de calibração externa.....	158
8.5. Parâmetros analíticos do método analítico.....	159
8.5.1. Limites de detecção e de quantificação.....	159
8.6. Tratamento dos dados.....	159
8.6.1. Análise de componentes principais.....	159
8.6.2 Análise de agrupamento hierárquico.....	160
8.7.1. Otimização das condições experimentais para análise por ICP-MS.....	160
8.7.1.1. Seleção dos isótopos.....	160
8.7.1.2. Digestão da amostra de farinha de trigo assistida por microondas.....	160

8.7.1.3. Escolha do padrão interno	164
8.7.2. Avaliação do potencial das interferências espectrais	165
8.7.3. Parâmetros de mérito	169
8.7.3.1. Limite de detecção e de quantificação	169
8.7.3.2. Precisão	170
8.7.4. Determinação de micronutrientes e elementos traço em farinha de trigo usando ICP-MS	171
8.7.4.1. Valores de Ba, Cr, Rb, Sr, V, Se e Mo na farinha de trigo brasileira.....	172
8.7.5. Tratamento dos dados multivariados.....	174
8.7.5.1. Análise de componentes principais.....	174
8.7.5.2. Análise de agrupamento hierárquico	177
8.8. Conclusões.....	179
CAPÍTULO 9	180
COMPOSIÇÃO MINERAL DA FARINHA DE TRIGO CONSUMIDA EM CIDADES BRASILEIRAS.....	180
9.1. Resumo da composição mineral da farinha de trigo consumida em cidades brasileiras	180
CONSIDERAÇÕES FINAIS	186
REFERÊNCIAS.....	189

INTRODUÇÃO

Grande parte da população mundial consome farinhas de cereais, que ocupam espaço considerável na sua alimentação, sob diversas formas. Com isso, a farinha de trigo, uma das mais populares farinhas dessa origem, é largamente consumida diariamente em pães, bolos, biscoitos, molhos, e em massas em geral. Dada a importância desse alimento no cotidiano das pessoas, a determinação de seus elementos químicos é conseqüentemente necessária, tanto do ponto de vista nutricional, quanto toxicológico.

O solo é o principal veículo de entrada dos diferentes elementos essenciais para desenvolvimento das plantas. Tais elementos muitas vezes estão presentes na composição dos seus frutos, independente da sua essencialidade e toxicidade. Além disso, processos de produção, transporte e estocagem, tendem a aumentar os riscos de contaminação dos diversos gêneros alimentícios. Seja a composição dos frutos por processos naturais, seja a sua composição após processos de produção, transporte e estocagem, é oportuno para a determinação dos constituintes dos alimentos um processo de análise química com precisão e exatidão desejadas, que leve em conta fatores diversos, a exemplo da técnica, do tempo empregado da análise, dos riscos de contaminação.

A determinação dos constituintes de amostras sólidas de alimentos, convencionalmente requer técnicas de mineralização destas matrizes. Essa etapa de pré-tratamento da amostra demanda o uso de reagentes de alto grau de pureza, de alto custo, além de um grande tempo de exposição do analista.

Atualmente, técnicas que minimizem e/ou eliminem essa etapa de pré-tratamento são almejadas. A análise direta de sólido com detecção empregando as espectrometrias de emissão atômica (AES) [114, 171, 168], de massa (MS) [114, 129, 132] e/ou de absorção atômica (AAS) [48, 69, 114] vêm sendo implementadas, considerando as óbvias vantagens obtidas.

Particularmente, a análise direta de sólido é atrativa segundo a descrição sumária de suas vantagens, uma vez que: (i) reduz o tempo do pré-tratamento e da análise da amostra; (ii) minimiza riscos de contaminação; (iii) usa um sistema convencional ou adaptado à introdução da amostra na célula de atomização; (iv) utiliza a calibração com padrões aquosos; e (v) fornece exatidão e precisão aceitáveis [48]. Entretanto, deve-se ressaltar que, durante a sua aplicação, a distribuição não homogênea do analito de interesse na amostra sólida ou suspensão e a forma ao qual a espécie química se apresenta são questões que devem ser observadas.

As técnicas espectroanalíticas usando amostragem em suspensão, com detecção que precisam de introdução da amostra na célula de atomização utilizando sistemas de nebulização, apresentam dificuldade adicional, considerando que o tamanho das partículas é fator crítico para tais aplicações.

Entre essas técnicas espectroanalíticas, AAS é largamente utilizada na determinação de elementos nas diversas matrizes. Trata-se de uma técnica relativamente de baixo custo, robusta e bastante disponível em laboratórios de rotina [124]. Por outro lado, o emprego das espectrometrias de emissão óptica (OES) e de massa (MS), ambas com plasma indutivamente acoplado (ICP), apresentam grande importância devido à sua capacidade de análise multielementar em diferentes tipos de matrizes, com baixos limites de detecção, exatidão e precisão desejáveis.

Devido a grande quantidade de dados gerados por uma análise utilizando os sofisticados instrumentos, a técnica exploratória de dados vem sendo muito aplicada à química de composição de combustíveis, bebidas e alimentos nos últimos anos. A autenticidade dos produtos é o assunto mais importante de nível econômico e social que envolve os setores de produção e consumo. Ela garante as características e a qualidade originais do produto, ajudando a prevenir possível adulteração do mesmo para a comercialização. Bebidas (vinho, méis, uísque, etc) são alvos mais visados nesse tipo de ato fraudulento. Assim, essa técnica é uma ferramenta usada para avaliar tendências e agrupamentos das amostras, para futuros estudos de calibrações multivariadas.

Uma aplicação crescente na análise de exploração de dados está ligada à classificação da origem e de fatores que influenciam na composição química das amostras. A análise de componentes principais (*principal component analysis* - PCA) e a análise de agrupamento hierárquico (*cluster analysis hierarchical* - HCA) são procedimentos de fácil aplicação, uma vez que a visualização dos dados multidimensionais poder ser projetada em até duas dimensões.

Levando em consideração os elementos químicos, tanto do ponto de vista alimentar como toxicológico, presentes nas amostras de farinha de trigo e contextualizando-os no cenário atual, no qual observa-se uma busca por dietas balanceadas, ricas em proteínas, carboidratos e outros elementos cientificamente recomendados como essenciais ao bom funcionamento de nossas funções biológicas, fato evidenciado pela crescente procura por tabelas de composição dos alimentos, deparamo-nos com uma questão delicada, referente à lisura dos dados apresentados em tais tabelas, cuja confiabilidade é afetada pela falta de descrição de procedimentos analíticos ou pelo emprego de técnicas analíticas inadequadas à determinação dos nutrientes nos alimentos.

Outro fator que levanta dúvidas sobre a precisão das informações nelas contidas é a utilização de dados provenientes de tabelas estrangeiras, que nem sempre refletem a realidade dos alimentos nacionais, uma vez que o tipo de solo, a prática de fertilização, o clima e outras condições do processo de produção diferem de país para país, modificando conseqüentemente a composição final do alimento. No Brasil, existe um projeto denominado BRASILFOODS (Rede Brasileira de Sistemas de Dados de Alimentos), coordenado pelo Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (USP), que centraliza informações brasileiras sobre composição de alimentos, com o apoio da Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) e da Rede Internacional de Sistemas de Dados de Alimentos (INFOODS). E paralelamente, em parceria com a Rede Latino-americana de Sistemas de Dados de Alimentos (LATINFOODS), o projeto brasileiro participa da ampliação da Tabela de Composição de Alimentos da América Latina.

A situação descrita, portanto, ratifica a importância das metodologias a se empregar nesse tipo de análise para contribuição com informações confiáveis para a composição dos dados da referida tabela. Por isso, o presente trabalho versa sobre a análise da farinha de trigo brasileira, priorizando a determinação de elementos químicos da sua composição, observando possíveis variações, em diferentes amostras coletadas em cidades brasileiras.

Este estudo é composto por quatro partes com um total de 9 capítulos. A primeira, referente aos dois primeiros capítulos, traça o perfil histórico de origem, expansão e distribuição atual do trigo e sua utilização no Brasil e no mundo - o que serve para confirmar a sua importância na nutrição da população -, e depreende uma análise descritiva dos elementos essenciais da dieta humana, levando em consideração a sua função e principais fontes.

A segunda parte, composta de três capítulos, compreende a revisão bibliográfica e discussão dos métodos para análise direta de sólido a fim de determinar elementos químicos presentes nas amostras de farinha de trigo, propondo, assim, a otimização de métodos alternativos para a determinação de manganês e cádmio em amostras de farinha trigo coletadas em supermercados das cidades de Salvador (BA), Brasília (DF), Belém (PA), Porto Alegre (RS) e São Paulo (SP), utilizando análise direta de sólidos e detecção AAS.

A terceira parte, reportada aos três capítulos, empreende a análise exploratória de dados (PCA e HCA) da composição mineral das amostras de farinha de trigo coletadas em supermercados das cidades brasileiras para observar tendências ou agrupamentos das mesmas. Foram determinados 8 elementos (Ca, K, Mg, P, Cu, Fe, Mn e Zn) por ICP OES em 54 amostras e outros 7 elementos (Ba, Cr, Rb, Sr, V, Se e Mo) empregando ICP-MS em 25 amostras. As amostras foram coletadas em cidades como Salvador (BA), Feira de Santana (BA), Jequié (BA), Belém (PA), Macapá (AM), Fortaleza (CE), Recife (PE), Aracaju (SE), Rio de Janeiro (RJ), Niterói, (RJ), São Paulo (SP), Poços de Caldas (MG), Brasília (DF), Porto Alegre (RS), Natal (RN), e Florianópolis (SC), além de uma amostra a granel da cidade de São Bento (PB).

Finalmente a quarta parte, o nono capítulo desse trabalho, disponibiliza uma síntese das concentrações obtidas para cada elemento determinado na forma de tabela e gráficos relacionando a média, mediana e desvio padrão, além da apresentação de 16 histogramas relacionados ao modelo gaussiano de distribuição das amostras em torno da media das suas respectivas concentrações.

CAPÍTULO 1

O trigo

1.1. O trigo e sua importância

O trigo é um cereal rico em carboidratos e minerais, da família das gramíneas, do gênero *Triticum* - que inclui o arroz e o milho – e soma ao todo 24 espécies. Deste total, a *Triticum aestivum* e *Triticum durum* são as espécies mais cultivadas de trigo. O grão desse cereal mede de 3 a 6 mm de comprimento e divide-se em três principais partes: o germe, o pericarpo e o endosperma [1,2,3].

O produto industrializado mais consumido pelo ser humano derivado dos grãos de trigo é a farinha. Não há grão, no mundo, mais importante para a alimentação humana do que o trigo. Nenhum cereal pode substituir integralmente a farinha de trigo na produção de pães, biscoitos e massas em geral.

A fabricação da farinha de trigo está ligada à moagem dos endospermas que constituem os grãos do trigo. Os teores elevados de vitaminas, sais minerais, proteínas e gorduras estão presentes no embrião e na casca do trigo, que são separados na etapa de moagem, dando o aspecto de branquidão à farinha de trigo consumida. Devido à presença das cascas e aos embriões contidos na sua composição, a farinha de trigo integral é mais escura e de um valor nutricional maior. Entretanto, esse produto é de difícil conservação por ter um conteúdo enzimático que facilita o seu apodrecimento [1].

1.1.1. A história do trigo

A história desse alimento está intimamente ligada ao desenvolvimento e progresso da humanidade. Na Suíça e no sul da França, escavações arqueológicas descobriram grãos de trigo fossilizados junto a ossos humanos. Esses achados e muitos outros provam que, já em tempos pré-históricos, o trigo era alimento básico do homem [1].

A necessidade do plantio dos vegetais à medida que os encontrava, fez com que o homem, que deixara de ser nômade, passasse a cultivar cereais em algumas regiões do mundo para a sua alimentação. Acredita-se que as civilizações e o cultivo de grãos surgiram quase ao mesmo tempo, e talvez um em decorrência do outro [1, 3].

Alguns cientistas acreditam que o trigo foi cultivado pela primeira vez entre os rios Tigre e Eufrates, na antiga Mesopotâmia (atual Iraque) . Em 1948, o cientista norte-americano Robert Braindwood descobriu sementes de trigo no Iraque, as quais datam de aproximadamente 6700 a.C. Os dois tipos de trigo encontrados por Braindwood são muito semelhantes, em diversos aspectos, ao trigo cultivado atualmente [1,2,4].

A Bíblia faz freqüentes referências à produção do trigo, seu uso, armazenamento e doenças. Ela relata também, que o trigo foi um importante alimento na Palestina e no Egito. O filósofo grego Teofrasto, que viveu por volta de 300 a.C., escreveu sobre diversos tipos de trigo que cresciam em toda a bacia do Mediterrâneo. Na China, o trigo era plantado muito tempo antes do nascimento de Cristo [1, 3].

O trigo chegou à América na época dos descobrimentos, sendo que as primeiras sementes foram trazidas da Europa, em 1493, por Cristóvão Colombo. No México, o cereal foi introduzido por Hernando Cortês em 1519 [4]. De lá, alguns missionários o levaram para os atuais estados norte-americanos do Arizona e Califórnia. O Brasil foi o pioneiro dos países das Américas a exportar trigo, graças às plantações que possuía em São Paulo, Rio de Janeiro e outras regiões. Ao que tudo indica as primeiras sementes foram trazidas por Martim Afonso de Sousa, em 1534, para a capitania de São Vicente (São Paulo) onde se aclimataram muito bem. A expansão fez os trigais chegarem até o nordeste brasileiro. O trigo foi plantado em Garanhuns (Pernambuco), Teixeira (Paraíba), Meruoca (Ceará) chegando até a Ilha de Marajó, no Pará. Mais tarde, o cultivo desenvolveu-se também em Minas Gerais e Goiás. Em 1737, colonos açorianos deram grande impulso ao cultivo desse cereal e o Brasil exportava grandes quantidades de trigo para a Colônia Portuguesa [1,2,5,6]

Nas plantações brasileiras, em meados do século XIX, o ataque por fungo denominado de ferrugem, fez essa cultura praticamente desaparecer, permanecendo em situação crítica até a Primeira Guerra Mundial. A partir desse período, o governo brasileiro passou a se interessar mais pela questão, concedendo prêmios aos produtores e estimulando a pesquisa experimental. Com esse estímulo, a cultura do trigo foi retomada, desenvolvendo novas espécies mais resistentes à ferrugem [1,6].

Hoje, as regiões produtoras do trigo são as zonas de clima temperado com chuvas moderadas. No mundo, a maior produção desse cereal está na Rússia, nos Estados Unidos e Canadá, na Europa Ocidental, no sudeste da Austrália, nos Vales do Índus e do Ganges, na Índia e no Paquistão, nos Pampas da Argentina, no norte da China e no vale do Nilo [1,4].

1.2. A farinha de trigo brasileira

No Brasil, a farinha de trigo para uso doméstico é comercializada nos tipos especial ou de primeira (tipo 1), comum (tipo 2) e integral. O tipo 1 é classificado como produto obtido a partir do cereal limpo, desgerminado com teor máximo de cinzas de 0,8% na base seca e 95% do produto deverá passar através de peneira com abertura de malha 250 μm . O tipo 2 é obtido a partir do cereal limpo, desgerminado com o teor de cinzas entre 0,8 e 1,4% na base seca e 95% do produto deverá passar através de peneira com abertura de malha igual a 250 μm ; o produto integral é obtido a partir do cereal separados das cascas e com o teor máximo de cinzas de 2,5% na base seca [10]

Atualmente, existem 202 moinhos responsáveis pela distribuição de toda a farinha de trigo comercializada. Para efeito de cultivo, o trigo brasileiro divide-se em três grandes regiões. A Região Triticola Sul, que abrange os estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina e o sul do Paraná; a Região Centro-sul, que abrange o norte do Paraná, Mato Grosso do Sul e São Paulo; e a Região Triticola Central, que abrange o planalto central do país englobando as unidades federativas da Bahia, Minas Gerais, Goiás e Distrito Federal [3, 5]

Se compararmos o consumo brasileiro de trigo com o dos Estados Unidos, país que, além de se manter como maior exportador, apresenta também o maior consumo per capita/ano, estimado em 65 kg, constataremos que os 56 kg de trigo aqui consumidos anualmente por pessoa correspondem ao que os americanos consumiam há 40 anos [7].

Segundo o Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO), a quantidade do consumo brasileiro (56 kg per capita/ano), é distribuída da seguinte forma no mercado [8]:

- 47% padarias;
- 14% indústria de massas;
- 20% consumo doméstico;
- 8% indústria de biscoito;
- 5% indústria de pães;
- 6% outros segmentos.

O levantamento sistemático da produção agrícola referente ao ano de 2006, realizado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), informou que a safra de trigo foi de 4.916.921 toneladas cultivados, tendo um rendimento médio de 2.203 kg de trigo por hectare cultivado [9]. A produção brasileira de trigo vem sendo aprimorada e maximizada através da ação das 40 unidades de pesquisa da EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária), e principalmente pela unidade EMBRAPA Trigo (Centro Nacional de Pesquisa Agropecuária), que desenvolve pesquisa na produção de grãos no inverno (trigo e outros cereais de inverno).

A Embrapa Trigo foi a primeira unidade descentralizada estabelecida pela Embrapa, em 1974, implantada na cidade Passo Fundo, RS, com a missão de gerar, adaptar e difundir tecnologias para a cultura de trigo [6].

1.2.1 A regulamentação técnica de identidade e qualidade da farinha de trigo brasileira

A farinha de trigo especial (tipo 1) é a mais consumida no Brasil. A análise de conformidade relacionada às características físico-químicas, microbiológicas e microscópicas da farinha, a fim de avaliar a tendência de qualidade do produto disponível no mercado consumidor nacional, é regulamentada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

Conforme anexo da Instrução Normativa nº 8, de 2 de junho de 2005 do Diário Oficial da União, foi aprovado o regulamento Técnico de Identidade e Qualidade da Farinha de trigo do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento disposto na Lei nº 9.972, de 25 de maio de 2000, no Decreto nº 3.664, de 17 de novembro de 2000.

Este regulamento tem por objetivo definir as características de identificação e qualidade da farinha de trigo destinada à comercialização interna e à importação. A partir dele, a farinha de trigo brasileira é conceituada como o produto elaborado com grãos de trigo (*Triticum aestivum*) e/ou outras espécies do trigo do gênero *Triticum*, ou ainda combinações por meio de trituração/moagem e outras tecnologias. O regulamento ressalta que o mesmo não se aplica às farinhas elaboradas com grãos de trigo da espécie *Triticum Durum*, que é um gênero muito utilizado mundialmente [10].

Vários requisitos gerais são observados no regulamento Técnico de Identidade e Qualidade da Farinha de trigo do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. acerca do produto, tais como: a classificação da farinha integral, o preparo da farinha de trigo para alimentação humana, os ingredientes (todas as substâncias e aditivos) empregados na fabricação da farinha de trigo, aditivos alimentares, coadjuvantes de tecnologia (substâncias adicionadas que podem estar presentes no final do processo tecnológico de fabricação), teores de cinza, granulometria, teor de proteínas, acidez graxa, matérias macroscópicas, matérias microscópicas, substâncias nocivas à saúde, isenção de substâncias nocivas à saúde, o lote, a embalagem e o produto embalado.

O regulamento também traz a classificação e tolerâncias limite estabelecidas para a identificação e comercialização da farinha de trigo brasileira, dispostos na **Tabela 1.1**:

Tabela 1.1. Limites de tolerância para a Farinha de Trigo

Tipos	Teor de cinzas * (máximo)	Granulometria	Teor de proteínas (mínimo)	Acidez graxa (mg de KOH/100g do produto) (máximo)	Umidade (máximo)
Tipo 1	0,8%	95 % do produto deve passar pela peneira com abertura de malha de 250 µm	7,5%	50	15%
Tipo 2	1,4%		8,0%		
Integral	2,5%	-	8,0%	100	

Fonte: [10] * Os teores de cinzas e de proteína deverão ser expressos em base seca.

Cabe ressaltar que será considerada fora de tipo, toda farinha de trigo que não se enquadrar nos limites de tolerância estabelecidos na **Tabela 1.1**, conforme parágrafo 3.2 do regulamento técnico de identidade e qualidade da farinha de trigo brasileira [10].

1.2.2. A fortificação da farinha de trigo

O enriquecimento desse alimento faz parte do programa governamental que tem como objetivo diminuir a anemia ferropriva e o déficit de outros nutrientes na população, sendo regulamentada a adição de ferro em farinhas de trigo e milho. Segundo estudos locais já realizados pelo Ministério da Saúde brasileiro, a anemia é predominante em mulheres grávidas e em crianças pré-escolares – de todas as classes sociais – e, atualmente, até em adolescentes, vorazes consumidores de *fast-food* (comidas rápidas), pobres em nutrientes.

Os dados indicam que cerca de 50% das crianças menores de 5 anos têm anemia. Em gestantes este índice chega a 30%. Neste contexto, as farinhas de trigo e de milho, pelo seu largo consumo, foram identificadas como veículos adequados para a estratégia de fortificação alimentar. Nos Estados Unidos a adição de ferro foi

obrigatória de 1940 a 1970 e atualmente é voluntária. Na América Latina, 22 países já fazem a fortificação com ferro [11].

Com isso, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), por meio da Portaria n.º 593, de 25 de agosto de 2000, republicada no Diário Oficial da União de 22 de dezembro de 2000, determina a fortificação com ferro de farinhas de trigo e de milho e seus subprodutos com pelo menos 4,2 mg do mineral a cada 100 g de farinha, para o combate da anemia ferropriva que representa um problema nutricional relevante no Brasil, com severas conseqüências econômicas e sociais para a população.

Outra medida da ANVISA, tendo em vista o grande potencial alimentar da farinha de trigo, foi o acréscimo do ácido fólico, uma vitamina do complexo B, que está presente em todas as farinhas de trigo e milho, além dos demais produtos derivados destas. A fortificação desses alimentos com a vitamina é regulamentada no Diário Oficial pela mesma Portaria citada anteriormente. Tal medida da ANVISA pretende aumentar a ingestão do ácido fólico ou folato pela população, especialmente de mulheres em idade fértil, sendo que a vitamina previne a má formação do feto. A importância da complementação da dieta com o folato, deve-se ao fato de a média de consumo diário da vitamina ser de 0,2 mg quando o recomendado é de 0,4 mg para gestantes [12].

1.3 Análise da farinha de trigo

Desde a última década, é crescente a necessidade de se intensificar a busca de informações mais adequadas para uma qualidade de vida traduzida em boa saúde e bem-estar. Nesse contexto, o desenvolvimento de métodos para avaliar os constituintes dos alimentos é oportuno. O principal objetivo da determinação da composição dos alimentos está ligado às informações geradas para qualificar e quantificar os elementos presentes no alimento de modo a criar tabelas de composição química e identificar os contaminantes que venham a interferir na boa qualidade desse alimento.

A farinha de trigo, com o seu grande potencial de consumo, também é alvo de análise laboratorial, sendo desenvolvidos diversos métodos para avaliar a sua

integridade. A avaliação da identidade e qualidade é realizada de acordo com os planos de amostragem e métodos de análise adotados e/ou recomendados pela Associação de Químicos Analíticos Oficiais (AOAC), pela Organização Internacional de Normalização (ISO), pelo Instituto Adolfo Lutz, pelo Food Chemicals Codex [13], pela Associação de Saúde Pública Americana (APHA), pelo Manual Analítico Bacteriológico (BAM) e pela Comissão do Codex Alimentarius e seus comitês específicos, até que venham a ser aprovados planos de amostragem e métodos de análise pelo Ministério da Saúde [14,15].

1.3.1. Composição química da farinha de trigo

A composição de um mesmo alimento pode variar de região para região ou de país para país, por causa das condições do solo, do cultivo e do clima. A farinha de trigo não foge a regra. Anderson e colaboradores em 1992 na Suécia demonstraram que a variabilidade natural da composição química de amido, polissacarídeos insolúveis e solúveis e proteínas em 49 amostras de farinha de trigo em relação às colheitas variou do inverno em relação à primavera de 1987 e 1988. Foi aplicada a análise de componentes principais no procedimento de reconhecimento [16]. Composição química pode também ser uma ferramenta muito poderosa para classificar a origem dos alimentos, citado por Fernández-Torres e colaboradores, que classificaram méis de origem botânica através da variação de minerais contidos em 40 amostras de lugares da Espanha, aplicando também a análise multivariados de dados. [17].

O uso de tabelas estrangeiras também não reflete a composição dos alimentos de cada países, devido essa variação está associada ao cultivo, solo e clima. Por isso, cada país vem desenvolvendo tabelas de informações sobre a composição dos seus alimentos. No Brasil, o Projeto Integrado de Composição de Alimentos, coordenado pelo Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental da Faculdade de Ciências Farmacêuticas - USP e BRASILFOODS (Rede Brasileira de Sistemas de Dados de Alimentos) tem o objetivo de atualizar e melhorar a qualidade dos dados e implementá-los a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos – TBCA-USP.

O projeto TCBA-USP tem o apoio da Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) e Rede Internacional de Sistemas de Dados de Alimentos (INFOODS). Paralelamente, em parceria com a Rede Latino-americana de Sistemas de Dados de Alimentos (LATINFOODS), o projeto brasileiro participa da ampliação da Tabela de Composição de Alimentos da América Latina [18].

Segundo informações contidas na FAO/INFOODS [19] e o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) [20] e outras agências a composição mineral da farinha de trigo (*Triticum estivum*) consumida na Argentina, Equador, México, Columbia, Peru, Venezuela, Estado Unidos (E.U.A), Finlândia, Dinamarca está apresentada na **Tabela 1.2**. Alguns dados da Tabela apresentam-se incompletos por falta de informação.

O valor encontrado sobre a composição mineral da farinha de trigo brasileira está disponível na tabela de composição dos alimentos, desenvolvida pelo Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação (Nepa/Unicamp) com apoio do Ministério da Saúde e parceria do Ministério de Desenvolvimento Social denominada de TACO – Tabela Brasileira de Composição de Alimentos, que também faz parte do projeto desenvolvido pela TBCA-USP [21].

Tabela 1.2. Composição mineral da farinha de trigo por 100 g de parte comestível:

País	Ca (mg)	Fe (mg)	Mg (mg)	P (mg)	K (mg)	Zn (mg)	Cu (mg)	Mn (mg)	Ref.
Brasil	18,0	1,00	31,0	115,0	151,0	0,80	0,15	-	21
Argentina	10,9	0,80	-	91,0	144,0	1,20	-	-	19
México	17,0	0,90	-	-	95,0	-	-	-	19
Uruguai	26,6	3,30	-	267,0	605,0	3,8	-	-	19
Equador	176	2,30	-	192,0	87,0	0,6	-	-	19
Columbia	52,0	2,40	-	170,0	-	-	-	-	19
Peru	36,0	0,60	-	108,0	-	-	-	-	19
Venezuela	15,0	1,90	-	104,0	104,0	0,70	-	-	19
Dinamarca	17,0	1,17	25,0	117,0	155,0	0,80	0,130	0,510	22
Finlândia	23,0	4,1	91,0	280,0	280,0	3,10	-	-	23
E.U.A	15,0	1,17	22,0	108,0	107,0	0,70	0,144	0,682	20

Existem países que ainda não apresentaram os dados referentes a farinha de trigo e de outros alimentos, demonstrando assim, a dificuldade de saber a composição dos alimentos locais. Boa parte deles se encontra na África e Ásia. A tabela brasileira não especifica a concentração de manganês na farinha de trigo.

CAPÍTULO 2

Os elementos químicos essenciais à vida

2.1. Elementos essenciais na dieta humana

Nas últimas décadas, há uma busca por dietas balanceadas, ricas em proteínas, carboidratos e principalmente dos elementos macros e micros de essencialidade. Elas são fundamentais para o bom desempenho das nossas funções biológicas e fisiológicas. É uma tendência mundial, num futuro não muito distante, os alimentos terão tanta importância quanto os remédios, porém, ao contrário destes, atuando de forma preventiva.

A estimativa da essencialidade e toxicidade dos elementos é estabelecida pela Organização Mundial de Saúde (OMS), através de estudos existentes sobre os níveis de consumo diário dos elementos. Tais valores são fornecidos por diferentes organizações envolvidas no tabelamento [24]. A própria OMS recomenda os valores de ingestão dietética de referência (IDR) em que cada valor de referência o consumo médio diário de nutrientes que cada indivíduo para diferentes grupos populacionais. Existem também valores de ingestão diária recomendados, do inglês *recommended dietary allowances* (RDA), determinados com base em pesquisas científicas elaborados e expressos pelo National Research Council, importante órgão americano [25, 26]. No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), através da resolução de diretoria colegiada nº 269, de 22 de setembro de 2005, atualizou os valores da IRD brasileira, regulamentando parâmetro de ingestão de nutrientes diário [27].

2.1.1. Cálcio

O cálcio é o quinto elemento mais abundante no organismo. Constitui cerca de 1,5 a 2% do peso corpóreo - 99% do cálcio está nos ossos e dentes e o 1% restante está no sangue e líquidos extracelulares e dentro das células dos tecidos moles. Laticínios são uma fonte conhecida de cálcio. Outras fontes incluem algas, nozes, feijões, verduras, pão integral e peixe.

O cálcio também é necessário para o funcionamento adequado do sistema nervoso e imunológico, contração muscular, coagulação sanguínea e pressão arterial. Sua deficiência na dieta provoca nas crianças uma má formação óssea e dentes, enquanto o excesso pode ocasionar pedras nos rins [28]. Em adultos, principalmente em mulheres na pós-menopausa, a deficiência do cálcio causa a osteoporose, que é uma doença esquelética sistêmica, caracterizada por massa óssea baixa e deterioração microarquitetural do tecido ósseo, conduzindo à fragilidade do osso e ao aumento do risco de fratura [29]. A ingestão de cálcio recomenda é de 1000 mg dia⁻¹ para adultos [26]

2.1.2. Fósforo

O fósforo é um dos elementos mais essenciais, estando em segundo lugar (depois do cálcio) em abundância nos tecidos humanos. O elemento na forma de fósforo branco é altamente venenoso. Uma dosagem de 50 mg é fatal, mas não é tóxico quando ingerido como fosfato na dieta. Principais fontes desse elemento são: carne de porco, de frango, de peixe, cereal de trigo, legumes, castanhas ovos e leite.

Fósforo tem um papel importante na produção de energia juntamente com o cálcio. A energia química do corpo é armazenada em combinações de "fosfato de alta energia", como adenosina trifosfato (ATP) e do adenosina difosfato (ADP), nucleotídeos presentes nos tecidos, que desempenham função essencial tanto no metabolismo molecular como na regulação entre absorção e liberação energéticas. Assim, claramente o fósforo é um elemento essencial na nutrição. Cerca de 70% do fósforo absorvido pelo nosso organismo é destinado aos ossos e os 30% restantes para metabolizar gorduras e açúcares. A deficiência de fósforo na infância pode

levar a uma má formação da dentição e causa o raquistismo. Já em adultos, leva à osteoporose, mal que aliás, atinge uma grande parte da população brasileira [30]. A ANVISA recomenda a IDR de 700 mg dia⁻¹ de fósforo para um adulto [26].

2.1.3. Magnésio

Sem magnésio não haveria vida possível sobre a Terra, não só por este elemento fazer parte da composição dos pigmentos verdes dos vegetais superiores, permitindo a utilização da energia solar e síntese das substâncias orgânicas indispensáveis à vida vegetal e animal, como pelo seu papel de coenzima em diversos processos metabólicos, especialmente no metabolismo de açúcares [31]. As principais fontes de obtenção desse elemento na alimentação humana são: legumes, nozes, verduras, alimentos de grãos integrais, frutos do mar.

No organismo humano, o magnésio está presente em todas as células, fluídos, e em especial, nos ossos e músculos do corpo, aonde ajuda na contração muscular e metabolismo energético. Sua presença dificulta a formação de cálculos renais. A deficiência de magnésio diminui a resistência uma vez que o baixo nível deste mineral na circulação está associado à diminuição da capacidade aeróbica. O excesso de magnésio é prontamente eliminado pelo corpo. No entanto, deve-se ter em atenção que compostos de magnésio como o sulfato ou o hidróxido são laxantes e purgativos bastante eficazes. O valor brasileiro de consumo de magnésio recomendado é de 260 mg dia⁻¹ [26]

2.1.4. Cobre

A essencialidade desse metal deve-se à sua incorporação a um grande número de enzimas (co-fator em alguns processos de ação catalítica) e proteínas estruturais. Sua presença é essencial para processos fisiológicos normais como respiração celular, síntese de melanina, biossíntese de tecido conectivo, defesa de radicais livres e metabolismo de ferro intracelular. O cobre é fundamental para assimilação do ferro na formação da hemoglobina. A sua obtenção provém da dieta. A concentração de cobre em alimentos varia de país para país de acordo com o tipo

de produto, as condições de cultivos (solo, água, uso de fertilizante e fungicidas que contenham cobre), o tipo de processamento e a utilização do produto [32]. Os cereais, a carne-ave-ovos e os grupos do vegetal fornecem 75% da entrada de cobre (respectivamente 32, 28 e 15%) [25]. Aproximadamente 30% do cobre ingerido é absorvido. A Organização Mundial de Saúde estima a cota de ingestão de cobre (em alimentos) entre 1-3 mg dia⁻¹. A IDR brasileira para cobre é de 0,9 mg dia⁻¹ para adultos [16].

2.1.5. Manganês

Esse elemento químico está presente nas células dos organismos vivos, sendo essencial para o funcionamento fisiológico normal em todas as espécies animais [25, 12]. O manganês participa como co-fator para enzimas e está presente em metaloproteínas, tais como piruvato carboxilase e glutamina sintetase. No homem, o manganês é necessário para o crescimento e no sistema reprodutivo. Entretanto, doses elevadas causam anomalias nos pulmões (pneumonia química) e cérebro [25, 31].

Os alimentos são a principal fonte de absorção de manganês pela população em geral, chegando apenas a índices entre 3% e 5%. A dose referência de manganês absorvido em alimentos recomendada pela Organização Mundial de Saúde (OMS) é de 2,0-9,0 mg/dia para um adulto [33]. No Brasil, a ANVISA recomenda IDR de 2,3 mg dia⁻¹.

As principais fontes alimentícias de manganês são nozes, legumes, cereais, frutas, carne bovina, peixes, ovos, leite e outros. Desses gêneros alimentícios, os cereais (50%) e os vegetais (25%) são responsáveis por 75% da ingestão total desse elemento [25].

2.1.6. Zinco

O zinco é um elemento de traço necessário para a atividade enzimática entre mamíferos, sendo requerido por de mais de 300 metaloenzimas [34]. Estudos consideram que o homem está principalmente exposto ao zinco através da ingestão de alimentos, sendo que 10-30% do valor do elemento é absorvido pelo homem [25,31]. Produtos marinhos, carnes, grãos, laticínios, nozes e legumes apresentam altos teores de zinco. Outros alimentos podem conter na faixa entre 2,0 mg Kg⁻¹ (vegetais) a 29,0 mg Kg⁻¹ (em carnes, peixes e aves). Dentre os alimentos, o grupo dos carne-ave-ovos fornece 58% da entrada dietética total do zinco [25].

A deficiência elevada do zinco conduz a um desenvolvimento lento ou à má formação congênita. A recomendação de ingestão diária (RDA) do metal é de 11,0 mg dia⁻¹ para homens e 8,0 mg dia⁻¹ para mulheres (não gestantes ou lactantes) [32]. A IDR recomendada pela ANVISA é de 7,0 mg dia⁻¹ [25].

2.1.7. Ferro

O ferro é um elemento essencial para seres humanos. A hemoglobina é a uma metaloproteína bastante conhecida do ferro, principalmente no transporte de oxigênio para as células. Além da hemoglobina, a mioglobina, o citocromo e um número de enzimas utilizam esse metal na sua constituição [35].

A deficiência da ingestão dietética do ferro constitui-se um problema de saúde da população mundial, denominado anemia ferropriva. A Organização Mundial de Saúde estima que 2 bilhões de pessoas desenvolvem essa deficiência em diversos países. Aproximadamente 60% dos afetados por essa deficiência são crianças e mulheres na idade reprodutiva [34]. A ingestão diária recomendada é de 10-20 mg de ferro para adultos. Entretanto, em mulheres grávidas essa necessidade diária aumenta para 30 mg [31].

O ferro é um elemento essencial, e por isso, suas necessidades diárias devem ser supridas. Alimentos como feijão, soja, leite, ovos, frutos do mar, vegetais verdes e frutas são as principais fontes desse metal [31]. No Brasil, a ANVISA recomenda o consumo de 14 mg/dia para adultos. Programas de saúde para a fortificação de alimentos também são meios para suprir a carência diária do ferro,

como o enriquecimento de farinha de trigo e leite e seus derivados que são largamente consumidos pela população [27]. O RDA para o ferro para mulheres na idade de 19-50 é de 18 mg/dia. [24,25].

2.1.8. Potássio

O potássio é um elemento importante que constitui cerca de 5% do conteúdo total de minerais no organismo. Assim, como o cloro e o sódio, está envolvido no balanço e distribuição de água, no equilíbrio osmótico, no equilíbrio ácido-base, na regulação da atividade neuromuscular e na transmissão nervosa. O potássio promove também, o crescimento celular. Sintomas de deficiência de potássio incluem fraqueza muscular, desorientação e fadiga. Suas principais fontes de potássio estão no pão e nos cereais integrais, verduras, leguminosas e feijões, carne, leite e frutas, principalmente a banana e laranja. A RDA recomendada é de 2000mg dia⁻¹ [25].

2.1.9. Bário

O bário é um elemento metálico quimicamente semelhante ao cálcio, pertencente à família dos metais alcalinos terrosos, contudo é macio e, na forma pura, apresenta aspecto branco prateado semelhante ao chumbo. São conhecidos 22 isótopos de bário. O bário natural é uma mistura de 7 isótopos estáveis. Alguns dos compostos de bário são notáveis pela elevada massa específica, como o sulfato de bário, BaSO₄ (barita).

É considerado um químico tóxico. Os compostos de bário quando dissolvidos em água são extremamente venenosos. Na medicina, o sulfato de bário é aplicado por via oral, aumentam o contraste para o raio-X no diagnóstico médico do sistema digestivo. O elemento bário fixa-se nos ossos da mesma maneira que o cálcio. Alta concentração desse metal pode causar graves alterações no coração, veias, artérias e sistema nervoso, podendo causar paralisção nas terminações nervosas quando em altas doses [36, 37].

Principais fontes de bário são de origem vegetais, como alface, soja, café. O índice do bário da dieta não foi determinado, mas os autores notaram que uma dieta típica do hospital forneceu 0,75 mg/dia de bário, ou 0,011 mg/kg/dia, usando 70 quilogramas de peso de corpo [38]. Uma dose de 550 a 600 mg é fatal para o ser humano [39].

2.1.10. Cromo

Este elemento é encontrado naturalmente em rochas, animais, solo, poeira, plantas e nevoa vulcânica. São encontrados três isótopos estáveis na natureza: ^{52}Cr , ^{53}Cr e ^{54}Cr . O mais abundante é o ^{52}Cr (83,789%). Geralmente, não se considera que o cromo metálico e os compostos de cromo III sejam, especialmente, um risco para a saúde. Trata-se de um elemento essencial para o ser humano, porém em altas concentrações é tóxico. Os compostos de Cr (VI) são tóxicos quando ingeridos, sendo a dose letal de algumas gramas. Em níveis não letais, o Cr (VI) é carcinógeno [37, 36].

Varias evidências foram acumuladas sobre a essencialidade do cromo no metabolismo e em nutrição. Suas principais funções estão associadas ao metabolismo de glicose e a potencializa ação a insulina. A deficiência causa resistência à insulina. Óleo de milho, cereais integrais, levedo de cerveja, carne são fontes naturais desse elemento [32, 40].

O teor máximo permitido pela legislação brasileira é de $1,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ para Cr (III) e $0,05 \mu\text{g mL}^{-1}$ para Cr (IV) em águas. A media diária de ingresso de cromo por meio do ar, da água e do alimento foi estimada em aproximadamente $0,3 \mu\text{g}$, $4,0 \mu\text{g}$ e $280 \mu\text{g}$, respectivamente [32]. Segundo a legislação brasileira a ingestão diária recomendada (IDR) para adultos é de $200 \mu\text{g}$ [41]

2.1.11. Rubídio

O rubídio (do latim "rubīdus" , vermelho escuro) foi descoberto em 1861 por Robert Bunsen e Gustav Kirchhoff na lepidolita utilizando um espectroscópio - inventado um ano antes - ao detectar as raias características do espectro de emissão deste elemento, que é a razão do seu nome. Conhece-se 24 isótopos de rubídio, existindo na natureza somente dois, o ^{85}Rb e o radioativo ^{87}Rb . Na medicina nuclear, o isótopo radiativo ^{81}Rb é usado no exame tomografia de emissão de positrões (PET). Isótopos não radioativos são utilizados para tratamento da epilepsia e na separação por ultracentrifugação de ácidos nucleicos e vírus [36].

Biologicamente, o rubídio parece ser um substituto aceitável no lugar do potássio em muitas funções fisiológicas, porém não existe evidência da sua essencialidade. Ele é encontrado naturalmente a níveis traço em carnes, grãos, leites, frutas e vegetais com valores significantes [37].

Em 1970, Dike encontrou concentrações de rubídio (partes por milhão em material seco) em: fruta-pão (2-10), coco (3,0), mandioca (10,0), banana (1,0), abacate (20,0), feijão seco (3,0), grãos de milho (3,0), e outros [42]. Há muitas controvérsias as funções fisiológicas do Rb. No Brasil, não existe legislação vigente sobre a IDR.

2.1.12. Estrôncio

É um elemento traço, abundante na natureza, representando uma média de 0,034% de todas as rochas ígneas e é encontrado majoritariamente na forma de sulfato (celestita) e carbonato (estroncianita). A similaridade dos raios iônicos do cálcio e estrôncio permite que este substitua o primeiro nas redes iônicas de suas espécies minerais, o que provoca a grande distribuição do estrôncio. O estrôncio tem quatro isótopos naturais estáveis: ^{84}Sr (0,56%), ^{86}Sr (9,86%), ^{87}Sr (7,0%) e ^{88}Sr (82,58%).

O corpo absorve estrôncio como o cálcio, especialmente no que diz respeito ao osso. As formas estáveis (não radioativas) de estrôncio não provocam efeitos

adversos significativos na saúde, porém o ^{90}Sr radioativo se acumula no corpo. A exposição prolongada à radiação provoca diversas desordens, incluindo o câncer de ossos [36, 37].

O estrôncio está presente em muitos alimentos. Duke reportou a concentração encontrada em material seco (parte por milhão) de: fruta-pão (7,0), coco (0,15), banana (1,5), arroz (0,2), acabate (1,0), feijão seco (1,5), milho (0,06) e outros [42]. Sua toxicidade é desconhecida. No Brasil, não existe legislação vigente sobre a IDR.

2.1.13. Vanádio

O vanádio é um microelemento essencial em alguns organismos. Em humanos não está demonstrada a sua essencialidade, ainda que existam compostos de vanádio que imitam e potencializam a atividade da insulina. É encontrado em algumas enzimas de diferentes seres vivos. Por exemplo, nas "haloperoxidasas" (geralmente bromoperoxidasas) de algumas algas, que reduzem peróxidos e halogenam um substrato orgânico. Na natureza se encontra um único isótopo estável, o ^{51}V . São conhecidos quinze radioisótopos, sendo os mais estáveis o ^{50}V [36, 37].

Segundo Duke, em gêneros alimentícios foram encontrados teores de vanádio material seco (parte por milhão): fruta-pão (0,1), coco (0,004), banana (0,01), arroz (0,2), acabate (0,1), feijão seco (0,5), milho (0,07), e outros [42]. Vanádio tem afinidade natural por óleo e gorduras. Muitos óleos comestíveis têm grande concentração desse elemento [37].

O vanádio é um elemento tóxico. Uma variedade de sinais de toxicidade existe porque variam tanto em espécie química quanto em dose. Os efeitos tóxicos resultante da ingestão de quantidade desse elemento na dieta são improváveis. Sabe-se que uma ingestão diária de 10 mg de vanádio produziu sinais de toxicidade patente em humanos [43]. No Brasil, não existe legislação vigente sobre a IDR.

2.1.14. Selênio

O selênio é um microelemento essencial para todas as formas de vida. É encontrado nos cereais, produtos lácteos, nos pescados, nas carnes e ovos. Sua importância nutricional está ligada tanto à deficiência como ao excesso. Solos deficientes em selênio podem causar deficiência em animais que se alimentam de plantas [44]. É antioxidante, ajuda a neutralizar os radicais livres, estimula o sistema imunológico e intervém no funcionamento da glândula tireóide. Está no aminoácido selenocisteína. As investigações realizadas têm mostrado a existência de uma correlação entre o consumo de suplementos de selênio e a prevenção do câncer em humanos, motivo pelo qual tem recebido muita atenção recentemente. O selênio tem 28 isótopos, dos quais 5 são estáveis. O ^{75}Se é empregado em radiodiagnóstico como traçador na visualização de tumores malignos [36].

A doença de Keshan (aumento do coração e mau funcionamento) é um estado de deficiência. A deficiência de selênio também pode afetar a função da tireóide porque o selênio é essencial para a síntese do hormônio ativo. A ANVISA especifica a IDR de 70 μg para adultos [41].

2.1.15. Molibdênio

É o único elemento da segunda série de transição cuja essencialidade é reconhecida. O molibdênio se encontra no chamado cofator de molibdênio (coMo) em diferentes oxotransferases, com a função de transferir átomos de oxigênio da água que por sua vez produz a transferência de dois elétrons. Algumas das enzimas que contêm este cofator são a xantina oxidase que oxida a xantina a ácido úrico, a aldeído oxidase que oxida aldeídos, assim como aminas e sulfetos no fígado, a sulfito oxidase que oxida sulfitos no fígado, e a nitrato redutase, importante no ciclo do nitrogênio nas plantas [36].

As principais fontes desse elemento são: legumes, cereais, leite e derivados, vegetal de folha verde-escuro. A deficiência de molibdênio no organismo pode produzir graves problemas, porém é encontrado em todos os alimentos tornando esta deficiência muito rara. Ele é tóxico quando ingerido em quantidades

relativamente elevadas, existe grande diferença entre as espécies quanto a susceptibilidade à intoxicação. Seu acúmulo está relacionado à hipercuprúria no organismo. O molibdênio tem 6 isótopos estáveis e cerca de duas dezenas de radioisótopos, a maior parte com tempo de vida médio da ordem de segundos. Segundo fontes da ANVISA, 250 µg são recomendados como IRD [41].

2.1.16. Cádmio

O cádmio é um metal pesado que produz efeitos tóxicos nos organismos vivos, mesmo em concentrações muito pequenas. A exposição ao cádmio nos humanos ocorre geralmente através de duas fontes principais: a primeira é por via oral (por água e ingestão de alimentos contaminados), e a segunda por inalação. Os fumantes são os mais expostos ao cádmio porque os cigarros contêm este elemento. Nos minerais normalmente é substituído pelo zinco devido à semelhança química [32, 36].

A concentração de cádmio em diferentes alimentos varia muito com a origem do mesmo, processo de produção, as concentrações deste no solo e com a disponibilidade do metal no meio em condições de ser incorporado à planta. A aplicação de certos fertilizantes ou de excrementos de animais no solo destinado ao cultivo de alimentos pode aumentar o nível de cádmio que, por sua vez, causa um aumento no nível deste elemento nos produtos cultivados. Grãos e cereais constituem a maior porcentagem da ingestão desse metal [32, 36].

O limite máximo de resíduo constitui uma estimativa máxima da exposição humana diária que não signifique risco de aparecimento toxicológico, no caso o dano renal expresso por proteinúria, sendo o valor estimado em $0,0002 \text{ mg Kg}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ [32]. O limite estabelecido pela legislação brasileira que é de $1,0 \text{ µg g}^{-1}$ [45].

CAPÍTULO 3

Amostragem de sólidos

3.1. Análise de sólidos

A maioria das análises de sólido requer a amostra na forma de solução. Assim, ela é preparada por meio de técnicas de decomposição que transformam o sólido com a espécie química de interesse para uma forma apropriada à aplicação do método analítico escolhido para análise, considerando a precisão e exatidão desejadas.

Os métodos de decomposição de amostras são bem estabelecidos para digestão dos diversos tipos de matrizes, orgânicas e inorgânicas. Esses métodos envolvem várias etapas preliminares ao procedimento aplicado às amostras sólidas, como moagem dos sólidos, secagem, separação de componentes e filtração, até o procedimento de decomposição dito, como calcinação da amostra, solubilização de sólidos inorgânicos, decomposição por fusão ou via ácidos (misturas) minerais.

O pré-tratamento da amostra influenciará diretamente na qualidade analítica dos resultados obtidos. Por isso, é recomendado o uso de ácidos de alto grau de pureza, além de analistas experientes durante o processo, para que não ocorram contaminações e perdas dos analitos de interesses, principalmente por volatilização. Outro fator determinante será a complexidade da matriz, que tornará essa etapa um processo longo, responsável pelo maior do tempo gasto por análise.

Uma alternativa para redução do tempo de análise é o uso de fornos de microondas para o preparo de amostras. Os aquecimentos produzidos por microondas proporcionam digestões rápidas e seguras comparadas a aquecimentos “convencionais”, quando realizados em equipamentos adequados para tal finalidade. Este procedimento pode ser aplicado para os diversos tipos de matrizes orgânicas e inorgânicas em sistemas de cavidades aberta e / ou fechada [46, 47].

3.1.1. Análise direta de sólido

Uma alternativa viável para minimizar e/ou eliminar os problemas gerados pela etapa de pré-tratamento da amostra é a utilização da técnica de análise direta de sólido, na qual a determinação do analito é feita diretamente pela técnica espectroanalítica escolhida. A aplicação dessa alternativa reduz o tempo de análise e os prováveis riscos de contaminação, pois envolve um menor volume de reagentes e exposição do analista, além de ser aplicada aos diversos tipos de amostras orgânicas e inorgânicas [48, 49, 62, 68, 91].

Dentre as técnicas espectroanalíticas mais utilizadas para análise direta de sólidos, a espectrometria de absorção atômica (AAS) ganha destaque, por permitir diferentes tamanhos e quantidade de amostra introduzidas na célula de atomização [48, 49, 50, 51, 52, 68, 69].

A espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite (GF AAS) é muito aplicada para os diferentes tipos de análise direta de sólidos, devido a vantagens como a amostra é introduzida e incinerada na célula de atomização, a plataforma que torna o aquecimento da amostra uniforme, a temperatura controlada durante as etapas de pré-tratamento da amostra no tubo utilizado e o tempo maior de residência do vapor atômico no caminho do feixe óptico.

Segundo Welz, os fatores supracitados usando GF AAS contribuem ainda mais para os baixos limites de detecção alcançados quando combinados com a técnica amostragem direta de sólido (SS-GF AAS). Os resultados satisfatório dessa técnica são comparados a métodos de decomposição e o emprego de técnicas espectroanalíticas que apresentam características analíticas compatíveis de detecção (ng g^{-1}), como cromatografia iônica acoplada espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (IC-ICP OES) e a espectrometria de massa com descarga luminescente (GD-MS), na determinação de Ca, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni e Zn em trióxido de tungstênio apresentadas na **Tabela 3.1** [49].

Tabela 3.1. Comparação dos limites de detecção em ng g^{-1} empregando GF AAS, IC-ICP OES e GD-MS para os diferentes elementos químicos determinados a partir do trióxido de tungstênio azul:

Elementos	SS- GF AAS (ng g^{-1})	Sol-a GF AAS (ng g^{-1})	Suspensão GF AAS (ng g^{-1})	Sol-b GF AAS (ng g^{-1})	Sol- c GF AAS (ng g^{-1})	IC-ICP OES (ng g^{-1})	GD-MS (ng g^{-1})
Ca	0,05	10	1	20	10	22	100
Co	0,2	10	20	300	100	78	3
Cr	0,4	80	20	120	70	28	100
Cu	0,09	10	210	230	200	11	10
Fe	1,7	200	4	80	-	20	200
K	0,3	10	1	30	20	260	20
Mg	0,02	5	1	10	10	2.5	50
Mn	0,07	10	-	-	-	3.8	5
Na	0,01	15	1	60	30	55	50
Ni	0,4	20	10	120	130	50	10
Zn	0,01	20	-	-	-	17	40

Sol-a: Solução preparada pela digestão da amostra com HF e HNO_3 ;

Sol-b: Solução preparada pela digestão da amostra com H_2O_2 ;

Sol-c: Solução preparada pela digestão da amostra com NH_3 .

Fonte [49]

Por outro lado, os trabalhos ressaltam que a não homogeneidade da amostra e a baixa precisão nas medidas causadas pelas micropesagens são fatores a serem observados durante a escolha dessa alternativa [48, 49, 69].

3.2. Análise direta de sólidos utilizando a técnica de vaporização eletrotérmica combinada às técnicas espectrométricas multielementares

Na última década, estudos demonstram a eficiência da vaporização eletrotérmica de sólidos combinados a diversas técnicas analíticas de emissão atômica e massa, que facilitam a decomposição de diferentes sólidos e detecção multielementar [53 - 59].

Malschat e colaboradores propuseram um método de validação e padronização interlaboratorial para determinação multielementar em amostras de cerâmica constituídas de carbeto de silício (SiC), através da análise direta de sólido empregando a vaporização eletrotérmica combinada as espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ETV-ICP-OES) e com arco de corrente

continua (ETV-DC arc OES). O método demonstrou-se eficiente na repetibilidade e reprodutividade nas técnicas avaliadas [53].

A **Tabela 3.2** apresenta trabalhos que empregaram a vaporização eletrotérmica acoplada às técnicas instrumentais para as determinações de elementos químicos.

Tabela 3.2. Trabalhos desenvolvidos utilizando a técnica de vaporização eletrotérmica

Matriz	Elemento	Técnica analítica	Referências
SiC	Especiação de alumínio	ETV-ICP OES	54
Águas naturais, materiais biológicos e clínicos	Th, U, Ph	ETV-ICP-MS	55
Sedimentos de rio, amostras de cabelo e de peixes	Hg	ETV-ICP-MS	56
Materiais de referência certificados naturais	Iodo	ETV-ICP-MS	57
Materiais de referência certificados biológicos e inorgânicos	Cd, Cu, Hg, Mn, Pb, Sb, Se, Sn, Ti, U e V	ETV-ICP-MS	58
Alumina	Ca, Fe, Ga, Mg, Mn, Na, Ni e V	ETV-ICP OES	59
SiC	Al, Ni, Fe, Ti e V	ETV-DC arc OES	60

Os trabalhos supracitados demonstram a eficiência de vaporização das diferentes matrizes por um processo eletrotérmico e, depois, a quantificação desse vapor por técnicas de detecção multielementar.

A viabilidade do emprego do ETV esta ligada à criação de programas de temperaturas de específicos para o tratamento de cada tipo de matriz (cerâmica, materiais biológicos e geológicos, cabelos, alumina etc) e analito de interesse, além do aumento da sensibilidade, uma vez que a amostra será analisada em seu estado natural, sem o acréscimo de reagentes, reduzindo assim, o risco de contaminação e o tempo de análise. As técnicas instrumentais de ICP-MS, ICP OES, DC arc OES combinadas com a vaporização eletrotérmica são atrativas como técnicas rotineiras, porém apresentam custo elevados dos instrumentos de sua manutenção [54 - 60].

3.3. Emprego da análise direta de sólido utilizando detecção por espectrometria de absorção atômica

3.3.1. Amostragem direta de sólido usando a espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno e grafite

A possibilidade da análise direta de pequenas massas de amostra ampliou o universo de aplicação da espectrometria de absorção de atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite. Amostragem direta de sólidos (SS-GF AAS) é muito eficiente para análise de diversos tipos de amostras, por permitir suas determinações sem pré-tratamento da mesma, reduzindo assim, o tempo de análise e riscos de contaminações, além de apresentar baixos limites de detecção [52].

A SS-GF AAS possibilita a determinação de elementos traço e ultratraço em materiais biológicos e ambientais, sendo de grande importância para gerar informações relacionadas a estudos nutricionais, toxicológicos e bioquímicos, uma vez que muitas investigações são limitadas pela pequena quantidade da amostra [50, 51,52,114].

A amostragem direta de sólido foi empregada pela primeira vez usando um aparelho comercial com atomizador para sólidos em 1971 [48]. Durante a década de 1970, as investigações focalizaram, em maior grau, o desenvolvimento de atomizadores e sistemas apropriados da introdução da amostra. Encontraram problemas enormes relacionados à quantidade de amostra usada, a heterogeneidade, distribuição não homogênea das partículas em sub-amostra, níveis do fundo elevado, métodos da calibração, etc [51, 52].

Recentemente, procedimentos analíticos foram propostos para determinar elementos demonstrando a praticidade do uso de SS-GF AAS. Maia e colaboradores determinaram mercúrio na análise direta de carvão, abordando aspectos como o uso de modificador de paládio para a transferência de analito para as paredes do tubo e evitar interferência espectral e não espectral causado pelos concomitantes. A determinação de mercúrio foi feita usando material de referência certificada [61].

Assim, para alguns métodos de determinação elementar com SS-GF AAS, o uso do material de referência certificado é necessário para a calibração analítica do

espectrômetro e indispensável para a validação dos mesmos. Porém, a dificuldade de encontrar materiais de referência iguais e / ou similares para todas as matrizes analisadas torna a técnica limitada, no caso de não haver a possibilidade da calibração padrão.

A obtenção de resultados precisos e exatos pode ser comprometida pelo uso de massas inferiores a 100 mg, devido ao fato de a representatividade estar ligada a erros associados às várias pesagens, como a falta de homogeneidade de certos materiais para alguns elementos. Logo, a precisão das medidas tende a diminuir com a redução da massa de amostrada.

3.3.2. Amostragem direta de sólido usando espectrometria de absorção atômica com chama

Outros procedimentos diferentes foram desenvolvidos para a análise direta de sólido aplicando a espectrometria absorção atômica com chama (FAAS), recebendo assim, a atenção crescente durante os últimos anos, por apresentar baixos limites de detecção nesta técnica espectroanalítica [62 - 66].

A técnica espectroanalítica FAAS é uma robusta, com boa precisão e exatidão, e é considerada como uma técnica rotineira, por apresentar valores atrativos na aquisição e manutenção dos equipamentos e suprimentos. A dificuldade encontrada pela FAAS para a análise direta de sólido, está ligada à aspiração do sólido, transformando-o em um fino aerossol, para ser transportado até a célula de atomização.

O método proposto consiste no uso de uma cela de quartzo adaptada no queimador do FAAS, de modo que esse sistema formasse um fino aerossol seco contínuo chegando até a chama. Após a etapa de atomização da amostra, foi medido o sinal transiente integrado por alguns segundos para a determinação de diversos elementos químicos como: cobre em amostras de fígado bovino [62], manganês em carvão [63], cádmio em amostras de sedimentos usando calibração multivariada [64] e cobre em plantas medicinais [65].

Da Costa e colaboradores propuseram um novo sistema com a cela de quartzo, em que foi introduzida cápsula de papel contendo amostra, sendo

empurradas com o auxílio de um fluxo contínuo de oxigênio até chama, facilitando o transporte de uma grande quantidade do sólido até a mesma, obtendo assim, limites de detecção baixos para cádmio [66].

Todos trabalhos utilizando FAAS para análise direta de sólidos requerem o uso de MRC de matriz igual e / ou similar para os estudos e calibrações, além da otimização da composição da chama e tamanho da partícula (formação do fino aerossol seco). Assim, a precisão obtida para essa proposta foi menor que 8,0%, expressa em desvio padrão relativo [65,66].

As técnicas espectroanalíticas como GF AAS, ETV-ICP-MS, ETV-ICP OES apresentarem a flexibilidade de analisar diretamente do sólido [49, 53, 55, 60, 62, 63]. No entanto, o custo com a análise, o uso de modificadores (alguns casos), a baixa precisão relacionada pela não-homogeneidade e as diferentes quantidades de massa pesadas, deixam essas técnicas menos atrativas para uma rotina. Uma alternativa para análise de sólidos é o preparo de suspensões através da aplicação desenvolvida por Brady e colaboradores em 1974. [67].

3.4. A técnica de amostragem em suspensão

A Química Analítica atual almeja o aperfeiçoamento e a simplificação dos métodos analíticos desenvolvidos, principalmente na diminuição de custos, redução da manipulação humana e minimização dos riscos de perda e/ou contaminação da amostra, baixos limites de detecção e quantificação, assim como boa precisão e exatidão dos resultados obtidos.

O preparo da suspensão consiste nas partículas sólidas estarem suspensas e divididas finamente em um meio líquido, contornando assim o problema de não homogeneidade da amostra e apresentando boa precisão e exatidão para determinação de elementos químicos nas diversas matrizes. A simplificação da etapa de pré-tratamento da amostra, a redução do risco de contaminação e o tempo de análise são as principais vantagens particulares dessa técnica. [48, 68, 69].

Fatores como o tamanho da partícula e a não-homogeneidade da amostra podem afetar a precisão e exatidão dessa técnica, podendo ser melhorados, quando as suspensões são preparadas por partículas de tamanhos pequenos. [48, 69].

3.4.1. Fatores críticos no preparo das suspensões

A técnica de amostragem em suspensão apresenta algumas particularidades na aplicação em cada uma das técnicas espectroanalíticas. Os fatores mais comuns são: o tamanho da partícula; a estabilidade da suspensão até a injeção da amostra na célula de atomização da técnica analítica escolhida; o uso de modificadores químicos requeridos para corrigir as interferências químicas em técnicas que utilizam o processo de vaporização eletrotérmica da amostra (GF AAS, ETV-ICP-MS, ETV-ICP OES, ETV-ICP arc DC etc); o tipo de calibração analítica mais eficiente na determinação do analito de interesse e a precisão e exatidão requeridas pela técnica.

3.4.1.1. Tamanho da partícula

O tamanho da partícula é o fator primordial para o emprego das técnicas espectroanalíticas, principalmente as que utilizam a formação de aerossol para a introdução da amostra na célula de atomização e pelo tempo gasto para a partícula sólida ser atomizada [48]. De acordo com alguns trabalhos, o tamanho pode variar 38 μm para as técnicas como ICP OES e ICP-MS, utilizando acessórios que possibilitem a introdução desse tamanho de partículas como agitadores ultrassônicos acoplado na entrada do sistema de nebulização [70, 73], caso contrário, o recomendado é 2-2,5 μm [71, 72, 73].

Fundamentos da introdução de suspensão em ICP OES foram estudados por Goodall e colaboradores, estabelecendo um modelo do tamanho de diâmetro da partícula, que se refere ao diâmetro máximo de ocupação por uma partícula sólida dentro da gota de aerossol [72]. Segundo autores, a análise de suspensões para obter uma recuperação comparável com análise das soluções aquosas, o tamanho

da partícula não deveria exceder 2,9 μm para um material de densidade 1,0 g mL^{-1} ou 1,5 μm para um material de densidade 7,0 g mL^{-1} .

Já quando se utiliza FAAS este tamanho pode extrapolar até à dimensão de 63 μm [68, 108]. Por outro lado, as determinações com partículas de até 600 μm usando GF AAS foram relatadas na revisão feita por Magalhães [69]. Cabe ressaltar que tanto a homogeneidade e a estabilidade da solução, como a precisão da técnica de amostragem em suspensão, estão associadas ao tamanho das partículas [48, 69], pois quanto maior for o seu tamanho, maior será a taxa de sedimentação na solução e no fundo câmara de mistura do sistema de nebulização, ocasionando uma menor precisão nos resultados obtidos [74]. Valores mais precisos podem ser obtidos através da moagem da amostra original, observando o tamanho desejado da partícula, bem como a sua composição e quantidade [69].

3.4.1.2. Concentração da suspensão e o diluente

Durante o preparo da suspensão, a sua concentração é um fator importante. Assim, as suspensões podem ser preparadas diluídas, dentro de uma faixa limitada. Entretanto, este fator pode ocasionar perdas na precisão dos resultados, devido a um número menor de partículas que permanecem dispersas no volume total após a diluição. Soluções concentradas levam em consideração o risco de haver efeito de matriz e a probabilidade de ocorrer obstrução do sistema de introdução da amostra, apesar de melhorar a precisão das medidas [48, 69].

O diluente tem o papel principal de dispersar e estabilizar o sólido na solução. Ele deve ser selecionado, observando-se a natureza do analito na matriz, a estabilidade promovida na solução, o seu poder de extrator do analito de interesse, a viscosidade e o aumento na sensibilidade do sinal analítico. Já foram relatados diferentes tipos de diluente e/ou misturas para o preparo das suspensões, como: solução de glicerol e ácido clorídrico [47, 48]; solução de ácido nítrico [102, 98]; solução de ácido clorídrico [75]; solução de triton X-100 [76]; solução de hidróxido de tetrametilamônio (TMHA) [95]; solução de ácido nítrico e triton X-100 [76,97,91]; solução de ácido nítrico, triton X-100, permanganato de potássio e nitrato de prata [77]; solução de metanol, triton X-100 e ácido nítrico [78] e outros.

3.4.1.3. Modificadores químicos

As técnicas espectroanalíticas como a GF AAS, ETV-ICP-MS, ETV-ICP OES e ETV-ICP arc DC que utilizam a vaporização eletrotérmica como etapa para análise das suspensões, são usuárias de modificadores químicos, principalmente para a determinação de elementos voláteis. O uso modificador permite aumentar a temperatura da etapa de pirólise, proporcionando a eliminação total da matriz antes da etapa de atomização do analito de interesse sem perder de analito de interesse, reduzindo as interferências e os sinais do fundo [48, 79]. Elementos químicos como Rh [102,97], Ru [80], Pd [81,96] e Ir [79, 97, 80] são comumente usados para determinação de Cd, Ge, Sn, Sb, e Pb nos diversos tipos de suspensões. Trabalhos realizados demonstram também a eficiência de misturas para resolver problemas relacionados à formação de resíduos resultantes do material das suspensões durante a etapa de pirólise, que em muitos casos podem dificultar a passagem do feixe [48,125,126]. A mistura do paládio e do magnésio, como nitratos, foi proposta como um modificador universal para mais de 21 analitos [80, 82].

3.4.1.4. Precisão e exatidão

Os valores de precisão que são muitas vezes expressos como desvio padrão relativo (RSD) obtido nas determinações utilizando as suspensões maior quando comparadas às análises de soluções líquidas e bem melhores do que a análise direta de sólido, essa imprecisão é devida as muitas vezes a quantidade de partículas em suspensão que se distribuem durante a tomada de alíquota para análise [69].

Diversos fatores contribuem para a redução da precisão na técnica de amostragem em suspensão, como por exemplo, a quantidade de amostra sólida para o preparo da suspensão, a solubilidade do analito no diluente, a distribuição do tamanho da partícula na solução, a não homogeneidade da amostra, etc. Todos os fatores citados podem ser ajustados, de modo a minimizar os erros que podem ser introduzido durante as medidas. A simples redução do tamanho da partícula

resolverá os problemas relacionados à solubilidade do analito, da distribuição do tamanho da partícula e a não-homogeneidade da amostra, em muitos casos.

Segundo Belarra e colaboradores, a partir de uma avaliação teórica desenvolvida, a precisão com o grau de certeza de 95% pode ser tolerado numa margem de $\pm 20\%$ para análise direta de sólidos devido a falta da homogeneidade das pequenas quantidade da amostra introduzidos no atomizador e a presença de atípica de potenciais [83]. Entretanto, segundo a revisão produzida por Cal-Prieto e colaboradores, mencionam que a precisão depende do tipo de matriz e da sua homogeneidade [48].

A investigação da exatidão foi evidenciada de diferentes formas para os diversos tipos de suspensão analisadas, tais como o uso de materiais de referências padrão ou certificados, teste de recuperação e o método da adição padrão [77, 84, 109].

3.4.1.5. Curva de calibração

Durante as análises nas suspensões supõe-se que tanto o analito da amostra como o da solução padrão se encontre nas mesmas circunstâncias experimentais. Ao contrário da amostragem direta de sólido, na qual a concentração do analito é determinada através da calibração com o emprego de materiais de referência certificados com natureza similar à da matriz ou pela técnica da adição de analito, as suspensões podem ser analisadas, na maioria dos casos, através do uso da calibração padrão [48, 62-66]. Essa condição é evidenciada pela comparação das inclinações da calibração padrão com a calibração de adição de analito, na qual as mesmas não diferem significativamente quando não for verificado efeito de matriz [87, 167].

3.4.2. Aplicações da técnica de amostragem em suspensão

A literatura reporta várias aplicações da técnica de amostragem em suspensão com sucesso para a análise química de diferentes matrizes, como cabelo, pigmentos, dutos de aço de combustível, carvão, materiais geológicos e

biológicos, sedimento, peixes, plantas, gêneros alimentícios e outros. Detalhes sobre os procedimentos, os elementos determinados e a técnica espectrométrica empregada estão apresentados resumidamente na **Tabela 3.3**.

Tabela 3.3. Aplicações da técnica de amostragem em suspensão

Matriz	Elemento	Técnica analítica	Observações	Ref.
Cabelo	Cu, Mn, Cr, Fe, Zn, Cd e Pb	ETV-ICP OES	A suspensão foi preparada com ácido nítrico concentrado e politetrafluoroetileno e com agitação ultrasonica durante as medidas ;	85
Cabelo	Ag, Al, Cd, Cr, Mn, Ni, Pb, Ca, Cu, K, Mg, Na e Zn	GF AAS/ FAAS/FAES	O preparo de suspensão para GF AAS utilizou 0,4% (m/v) de glicerol. Já para FAAS/FAES usou-se 10%(v/v) HNO ₃ ;	86
Cabelo	Ca, Cu, K, Mg, Na and Zn	FAAS/FAES com nebulizador de alta performance	Para todos os casos estudos as amostras foram acidificadas com ácido nítrico 1%. Foram analise 25 amostras de cabelos.	87
Pigmento branco de óxido de titânio	Cu	GF AAS	Três procedimentos foram testados: digestão, fusão com lítio e dissolução ácido fluorídrico. O procedimento aposentou boa precisão, exatidão, e um tempo menor de análise.	88
Oxido de ferro (III) e pigmento de óxido de titânio	Hg	CV AAS	As amostras foram diluídas com água contendo hexametáfosfato de sódio 0,02% (m/v). O limite de detecção foi de 5,0 ng g ⁻¹ . A calibração padrão foi utilizada para as medidas.	89
Pigmentos de óxido de ferro	Cu, Mn, Cr e Zn	FI-FAAS	A diluição da suspensão foi feita simplesmente com água e introduzida diretamente no espectrômetro através sistema de injeção em fluxo (FI).	90
Dutos de aço de combustível	As, Sn, Sb, Se, Te, Bi, Cd, V, Ti e Mo	ICP-MS	Aproximadamente 0,010 g de amostra finamente pulverizada foi diluída em 100 mL da solução contendo 0,5% de HNO ₃ e 0,05 de Triton-X 100. A suspensão foi sonicada por 15 minutos.	91
Carvão	As, Mn, Pb e Se	ETV-ICP-MS	A solução de 5% de HNO ₃ foi utilizada para preparar a suspensão de 1,3 mg L ⁻¹ . O banho ultra-sônico também foi utilizado. A massa de µg de paládio foi adicionada	92

			como modificador.	
Material geológico	SiO ₄	ETV-ICP-MS	As suspensões foram preparadas pesando exatamente a amostra 0,10 g, colocando em um teste-tubo do plástico de 10 mL e diluída com água. O HF foi utilizada com sucesso como modificador químico.	93
Materiais geológicos e ambientais	Ra	ETV-ICP-MS	O método baseado na amostragem direta de sólido pode substancialmente reduzir o perigo e os custos associaram com a manipulação da amostra radioativa e seus sub-produtos.	94
Materiais biológicos	As, Se, Te, Ag, Cr, Cu, V, Ni, Mn, Co, Cd, Pb, Sb, Sn e Bi.	ETV-ICP-MS	A solução ou suspensão foi prepara com hidróxido de tetrametilamônio. Na determinação de As, Se, Te, Ag, Cr, Cu, V, Ni, Mn, Co, Cd foi utilizado paládio como modificador químicos. Entretanto, para Pb, Sb, Sn e Bi, o tubo de grafite foi recoberto com irídio.	95
Líquen e materiais biológicos	Cd, Cu, Fe, Mn, Pb e Zn	GF AAS/ FAAS	Cd, Cu, Mn e Pb foram determinados nas amostras empregando GF AAS e Ni + Pd + ácido tártaro como modificador químico, e Fe e Zn por FAAS.	96
Materiais biológicos	Pb, Cr, Mn e Zn	GF AAS	Foi investigada combinação de modificadores químicos, mas a preferencial foi 20 µg W + 4 µg Ir + 50 µg NH ₄ H ₂ PO ₄ com 0,2% (v/v) triton X-100 plus e 0,2% (v/v) ácido nítrico. A percentagem de concordância aumentou de 63 para 104% quando se passou a utilizar a mistura proposta.	97
Sedimento	As, Hg, Se e Sn	CVG-ETV-ICP-MS	Aproximadamente 50 mg da amostra foi preparada com 5% (v/v) de água régia e 1% (v/v) de HF em uma recipiente de plástico de 15 mL, sendo agitado por 15 minutos em banho ultra-sônico. As determinações foram feitas usando calibração de padrões.	98

Amostra de peixe	As, Se e Hg	USS-ETV-ICP-MS	Os resultados foram concordados com os valores certificados. A precisão entre replicates da amostra foram de 11% com o método de USS-ETV-ICP-MS.	99
Amostra de peixe	Cd, Hg e Pb	USS-ETV-ICP-MS	O EDTA foi usado como modificador para melhorar o sinal dos analitos. A técnica de adição de analito e o método de diluição isotópica foram usadas para determinação de Cd, Hg e Pb nas amostras de peixe.	100
Planta	Ge, As, Se, Cd e Pb	USS-ETV-ICP-MS	As influências das condições operacionais do instrumento e do preparo da suspensão nos sinais analítico foram investigada para determinação de Ge, As, Se, Cd e Pb em amostras da planta.	101
Alimentos	Cd e Pb	BIFF-AAS	As suspensões foram preparadas com 10 mL de água e centrifugada por 5 minutos (5400 rpm) e 400 µl do supernadante foi tomado e analisada por BIFF-AAS	102
Chocolate	Cu	FAAS	O método recomenda 0,2 g de amostra diluída em 2,0 mol L ⁻¹ de um solução de HCl e sonicada por 15 min. A calibração padrão foi utilizada para determinação de cobre.	103
Pigmentos de óxido de ferro	Cu, Mn, Cr e Zn	FAAS	A amostra foi preparada com água e introduzida diretamente no espectrômetro usando injeção em fluxo com auxílio de um compressor de ar. Os resultados foram concordantes quando comparados com dissolução ácida.	104

3.5. A técnica de amostragem em suspensão aplicada à espectrometria de absorção atômica com chama

O primeiro relato sob a aplicação da FAAS na análise de suspensão foi feito por Willis em 1975, que determinou Co, Ni, Cu, Zn, Mn e Pb, em amostras geológicas [105].

Nos últimos anos, há uma demanda no emprego da FAAS para análises de suspensões, por esta técnica espectrométrica ser rotineira, precisa, robusta, de fácil aquisição e de custeio baixo para seus suprimentos na determinação de mais de 60 elementos químicos. Na **Tabela 3.4** estão citados alguns trabalhos utilizando FAAS:

Tabela 3.4. Publicação utilizando FAAS na análise de suspensões:

Matriz	Analitos	Ano	Ref.
Camarão antártico	Cu, Fe, Mn e Zn	2000	106
Sedimento de rio	Cu, Zn e Pb	2001	107
Lapa antártico e sedimento de rio	Cu, Zn e Ni	2001	108
Ovos frescos	Pb, Cu, Zn, Mg, Ca e Fe	2002	109
Cabelo humano	Ca, Cu, Mg e Zn	2002	110
Frutos do mar	Cu, Fe, Mg e Zn	2002	111
Chocolate	Cu	2005	75
Líquenes ¹ e amostras botânicas	Fe e Zn	2005	96
Amostras de vegetais	Pb, Cu, Fe, Cd e Cr	2005	112
Chocolate	Mn e Zn	2006	113

Comparada com outras técnicas espectroanalíticas como GF AAS, ICP OES, ICP-MS, ETV-ICP OES, ETV-ICP-MS, FAAS é uma alternativa vantajosa e rápida nas análises de suspensões.

¹ Os líquenes são seres vivos muito simples que constituem uma simbiose de um organismo formado por um fungo (o micobionte) e uma alga ou cianobactéria (o fotobionte), e é encontrado em rochas e troncos de árvores.

3.6. Amostragem em suspensão versus análise direta de sólido empregando detecção por espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite

A **Tabela 3.5** apresenta uma relação de vantagens e limitações das técnicas de amostragem em suspensão e de amostragem direta de sólido, ambas usando GF AAS [114]:

Tabela 3.5. Amostragem em suspensão versus da amostragem direta de sólido, ambas usando GF AAS

Amostragem em suspensão	Amostragem direta de sólido
Massa típica injetada 0,02 mg	Massa tipicamente testada 0,1 – 1,0 mg
Massa representativa de até 50 mg;	Massa representativa de até 10 mg;
Aplicável em instrumentos de AAS;	Requerido em sistemas de forno (tubos e plataformas) para instrumentos AAS;
Automatização comercialmente disponível, no laboratório faz o sistema relativamente simples;	Dificuldade de automatização; no presente a semi-automação comercialmente disponível;
Fácil diluição;	Diluição dispensada (equivalente à massa da amostra do teste da redução);
Modificação da matriz fácil ;	Problema na modificação da matriz exceto amostra pulverizada;
Amostras moídas de fácil análise;	Análise de vários tipos de matrizes;
Risco de contaminação pelo uso de reagentes de um modo geral;	Nenhum ou mínimo risco de contaminação se algum reagente for usado;
Nível de miligramas (mg) requerida nas amostras;	Massa extremamente baixa de amostra requerida ou única, aplicável ao nível de micrograma (μg);
Vantagem do aumento da massa para obter homogeneidade da amostra;	Fácil determinação da homogeneidade com análise direta de sólido;
Limites de detecção comparáveis com análise de digestão, em alguns casos mais baixo.	Limites de detecção baixos comparados à análise convencional (para análise da amostra real).

Ambas as técnicas apresentam sua importância diante das suas particularidades nas respectivas comparações.

CAPÍTULO 4

Desenvolvimento de método para determinação de manganês em farinha de trigo por amostragem em suspensão usando espectrometria de absorção atômica com chama

4.1. Equipamentos e materiais utilizados

4.1.1. Instrumentos

Espectrômetro de absorção atômica Varian (Mulgrave, Victoria, Australia) - Modelo SpectrAA 220;

Microscópio de varredura eletrônica Shumadzu (Kioto, Japão) - Modelo Supercan SS-500;

Banho Ultra-sônico de limpeza VWR (Cortlant, Nova York, E.U.A.) - Modelo 75 D

Sistema de purificação de água EASYpure RF (Barnstedt, Dubuque, IA, E.U.A);
Placa de aquecimento

4.1.2. Preparo das soluções

Água ultrapura proveniente do sistema de purificação EASYpure RF foi usada para o preparo de todas as soluções. As vidrarias utilizadas foram mantidas em solução de ácido nítrico a 10% (v/v) durante 24 horas, sendo enxaguadas com água ultrapura e secas.

4.1.2.1. Solução de manganês 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$

Mediu-se 10,0 mL de uma solução de manganês (II) 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (Merck) em pipeta volumétrica e diluiu-se a 100 mL com água ultrapura.

4.1.2.2. Soluções de ácido nítrico

Mediu-se quantidades apropriadas em proveta graduada de uma solução de ácido nítrico P. A. 65% (v/v) (Merck) e diluiu-se a 1000 mL com água ultrapura para preparação de 1,0; 2,0; 3,0 e 4,0 mol L⁻¹ .

4.1.2.3. Soluções de ácido clorídrico

Mediu-se quantidades apropriadas em proveta graduada de uma solução de ácido clorídrico P. A. 37% (v/v) (Merck) e diluiu-se a 1000 mL com água ultrapura para preparação de 1,0; 2,0; 3,0 e 4,0 mol L⁻¹ .

4.2. Amostras

Foram utilizadas para preparação da suspensão durante a avaliação de fatores analíticos uma amostra de farinha de trigo Dona Benta e outra de farinha de arroz MAIZENA[®] e DURYEA[®] (Unilever Bestfoods Brasil Ltda, Garanhuns, Pernambuco, Brasil).

4.2.1. Materiais de referência certificados

Três materiais de referência certificados foram utilizados para confirmar a exatidão:

- Um material de referência certificado de farinha de arroz NIST 1568a (National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD, E.U.A.);
- Dois materiais de referência certificados de farinha de arroz Nies 1-a e 1-c (National Institute for Environmental Studies, Onagawa, Tsukuba, Japão)

4.2.2. Coleta, preparação e conservação das amostras de farinha de trigo

Foram coletadas 07 amostras de farinha de trigo em supermercados na cidade de Salvador, Bahia, no período de 04/01 a 30/03/2005. Aproximadamente 100 gramas das amostras foram armazenados em recipientes de polipropileno, previamente descontaminados com uma solução de ácido nítrico 10% (v/v), e lavados com água ultrapura. As amostras foram condicionadas em local seco e sem a incidência da luz.

4.3. Preparo das suspensões

As suspensões foram preparadas a partir de 0,5 g da amostra de farinha seca, transferida para um balão volumétrico de 50,0 mL com uma quantidade de 25 mL de ácido nítrico 2,0 mol L⁻¹ e sonicado por 15 minutos. Após o tempo de sonicação, o balão contendo a suspensão foi aferido para o volume de 50,0 mL com ácido nítrico 2,0 mol L⁻¹ e a solução foi aspirada diretamente pelo sistema de nebulização do espectrômetro de absorção atômica com chama (FAAS) para a determinação da concentração do manganês nas amostras de farinha de trigo. Para simular as partículas em suspensão da farinha de trigo na solução, o branco da suspensão foi preparado a partir da amostra de farinha de arroz com concentração abaixo do limite de quantificação do método proposto. A concentração de manganês nas amostras de farinha de trigos foram determinadas conforme parâmetros operacionais do espectrômetro de absorção atômica com chama com corretor de radiação de fundo de deutério descritos na

Tabela 4.1:

Tabela 4.1. Parâmetros operacionais do espectrômetro de absorção atômica em chama para determinação de manganês

Parâmetro	Valor
Comprimento de onda	279,5 nm
Largura da fenda	0,2 nm
Corrente da lâmpada de catodo oco	5,0 mA
Vazão de fluxo do acetileno	2,0 L min ⁻¹
Vazão de fluxo do ar	13,5 L min ⁻¹
Vazão de fluxo de aspiração da solução da amostra	5,0 a 6,0 mL min ⁻¹

4.4. Dissolução completa das amostras de farinha de trigo usando digestão úmida em placa de aquecimento

Aproximadamente 0,5 g da amostra de farinha de trigo foi transferido para béquer, sendo digeridos com auxílio de 5,0 mL de ácido nítrico concentrado 65% e 1,0 mL de peróxido de hidrogênio 30% (v/v) em placa de aquecimento durante 3 horas até a dissolução completa do material orgânico e o volume da solução se aproximar a 1,0 - 2,0 mL. Finalmente, a solução foi transferida para um balão volumétrico de 10,0 mL, aferida com água ultrapura e determinada a concentração de manganês empregando FAAS, conforme os parâmetros operacionais apresentados na **Tabela 4.1**.

4.5. Parâmetros de mérito

4.5.1. Limite de detecção e limite de quantificação

Limite de detecção (LD) representa a menor concentração do analito ou substância em uma amostra, que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada, sob determinadas condições experimentais. O limite de detecção pode ser definido usando vários critérios. Para métodos analíticos instrumentais, o critério adotado é a relação sinal/ruído de 3:1, expressa através da **Equação 4.1** [115]:

$$LQ = 3\sigma / s \quad \text{Equação 4.1}$$

em que, σ é o desvio padrão da resposta e s , é o coeficiente angular inclinação da curva de calibração construída em níveis próximos

Limite de quantificação (LQ) do método analítico representa a menor concentração do analito ou substância que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis, sob determinadas condições experimentais. É calculado como a concentração do analito para o qual a relação sinal/ ruído é de 10:1, expressa pela **Equação 4.2** [115]:

$$LQ = 10\sigma/s \quad \text{Equação 4.2}$$

4.5.2. Precisão

A precisão é um termo geral para avaliar a proximidade dos resultados obtidos em uma série de medidas de uma amostragem múltipla de uma mesma amostra. Os três níveis para expressá-la são por meio da repetitividade (precisão intra-corrída), precisão intermediária (precisão inter-corrídas) e a reprodutibilidade (precisão inter-laboratorial) [116].

A precisão de um método analítico usualmente é expressa como o desvio padrão ou desvio padrão relativo (RSD), ou ainda pelo coeficiente de variação (CV) de uma série de medidas, conforme a **Equação 4.3**:

$$RSD = \frac{\sigma}{CMD} \times 100 \quad \text{Equação 4.3}$$

em que, σ é o desvio padrão e CMD, a concentração média determinada[117].

Segundo Leite, a precisão pode ser determinada pela repetibilidade com três ou cinco análises sobre duas ou três amostras de concentrações diferente e pertinente à análise da substância a ser analisada [118].

4.5.3. Exatidão

A exatidão de um método analítico é confirmada pela proximidade dos resultados individuais encontrados em um determinado ensaio, em relação a um valor verdadeiro de referência aceito como mais provável. A exatidão, quando aplicada a uma série de resultados de ensaios, implica numa combinação de componentes de erros aleatórios e sistemáticos. Os processos normalmente utilizados para avaliar a exatidão de um método analítico são: uso de materiais de referência, materiais de referência certificados, participação em comparações interlaboratoriais, comparação de métodos, ensaios de adição/recuperação [117, 119].

4.6. Resultados e discussão

4.6.1. O tamanho da partícula

A investigação do tamanho da partícula foi um dos parâmetros primordiais para o desenvolvimento desse trabalho, uma vez que o mesmo é um fator crítico para introdução da amostra no sistema de nebulização do espectrômetro de absorção atômica com chama para a análise das suspensões. As dimensões, também implica no tempo gasto para todos os constituintes da partícula sólida serem atomizados. Partículas de tamanho grande podem obstruir o tubo capilar e/ou levar mais tempo para incineração na chama, reduzindo a precisão dos resultados. Já partículas de tamanho pequeno resolvem o problema da homogeneidade e estabilidade da amostra na suspensão, além de facilmente atomizada.

Neste trabalho, a medida do tamanho das partículas foi feita usando um microscópio de varredura eletrônica modelo Superscan SS-550 da marca Shimadzu. Conforme a micrografia de varredura eletrônica (MVE), **Figura 4.1**, tem-se uma noção dos aglomerados das partículas, formado por tamanhos variados. Foram feitas três micrografias demonstrando as medidas desses tamanhos em três amostras diferentes (**Figura 4.2**, **Figura 4.3** e **Figura 4.4**) em que a variação observada foi de 2,8 a 30,9 μm . Estas dimensão são aceitas para o preparo das suspensão, pois são menores que o diâmetro do capilar do tudo do sistema de aspiração do FAAS, que é de 200 μm .

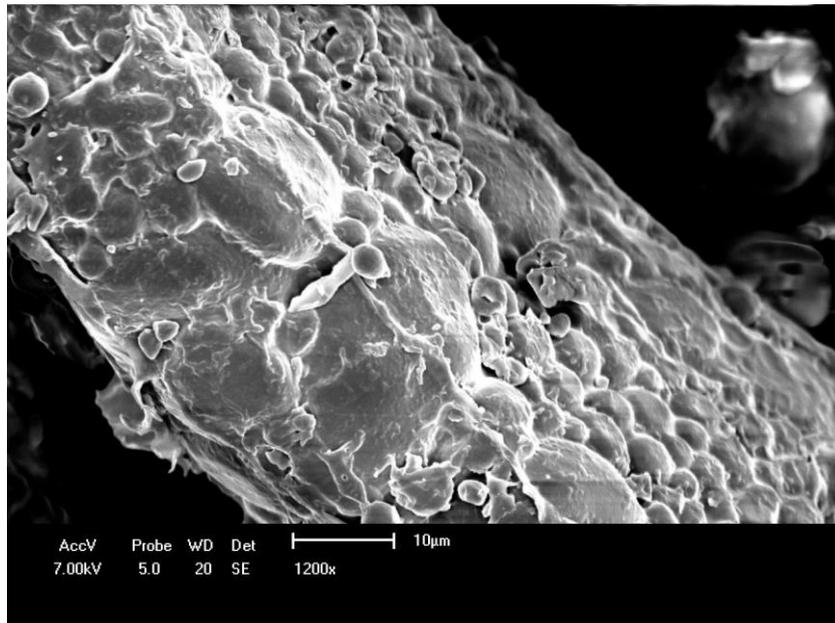


Figura 4.1. MVE – Aglomerados de farinha de trigo

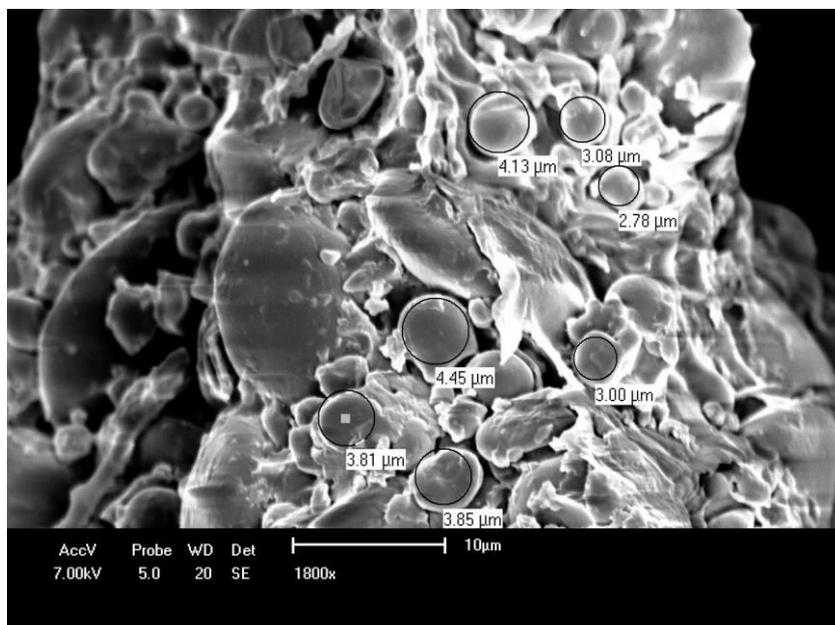


Figura 4.2. MVE – Tamanho das partículas de farinha de trigo

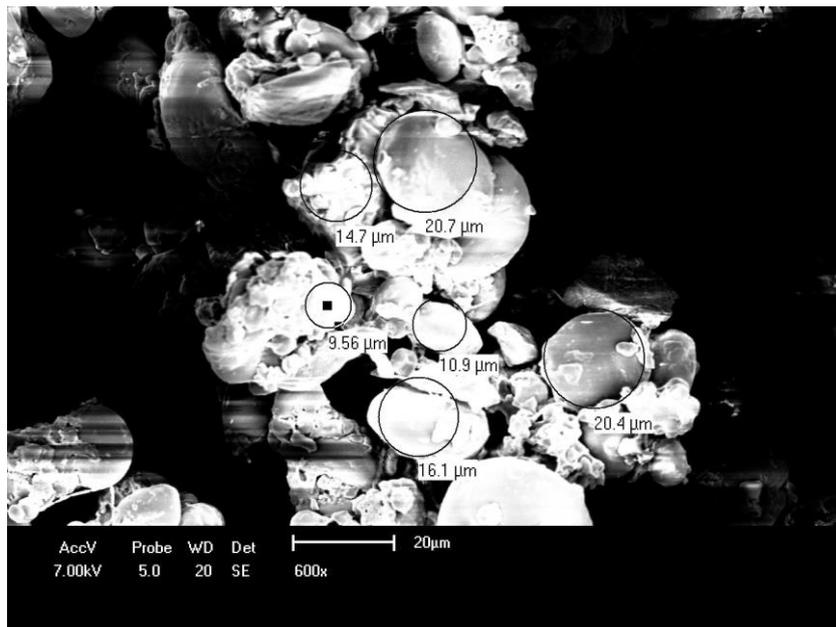


Figura 4.3. MVE – Tamanho das partículas de farinha de trigo

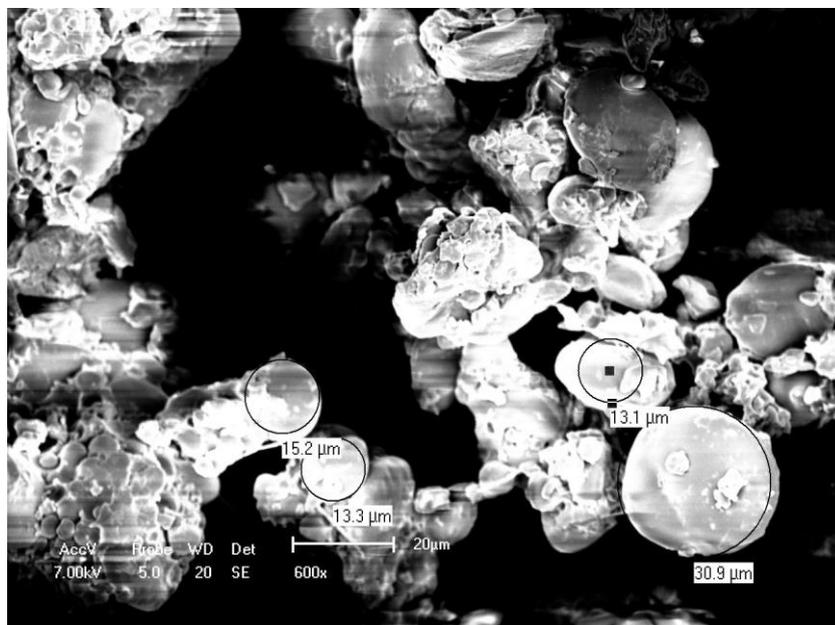


Figura 4.4. MVE – Tamanho das partículas de farinha de trigo

4.6.2. Condições experimentais para o preparo das suspensões

A otimização das condições experimentais para o preparo das suspensões para determinação de manganês em farinha de trigo foi desenvolvida usando metodologia univariada, envolvendo os seguintes fatores: natureza e concentração do ácido usado para o preparo da suspensão, tempo de sonicação e massa de amostra.

4.6.2.1. Natureza do ácido e sua concentração

O estudo da natureza do ácido e sua concentração ideal para preparo da suspensão demonstraram resultados independentemente das absorvâncias relativas às concentrações no intervalo de 1,0 a 4,0 mol L⁻¹ tanto para o ácido clorídrico, quanto ácido nítrico, apresentado na

Figura 4.5. A concentração de 4,0 mol L⁻¹ para o ácido clorídrico também se mostrou indiferente, entretanto, para o ácido nítrico houve um aumento no sinal analítico.

A solução 2,0 mol L⁻¹ de ácido nítrico foi escolhida como diluente no preparo das suspensões, devido o seu maior poder extrator em relação ao HCl. Essa concentração promove uma menor dano do equipamento do que as superiores. O uso de soluções tixotrópicas como triton-X para o aumento da viscosidade do meio, não trouxe nenhuma mudança significativa no sinal analítico em relação à solução de ácido nítrico. O sinal de absorvância do branco do ácido nítrico 2,0 mol L⁻¹ observado foi de 0,0010 ± 0,0002.

A investigação da eficiência de extração do ácido foi realizada usando o método proposto. A absorvância obtida na determinação de manganês em suspensão de uma amostra foi de 0,0170 ± 0,0002. Após 10 minutos de centrifugação e filtragem, a absorvância medida na mesma solução medida anteriormente foi de 0,0147 ± 0,0002, demonstrando que o processo de extração do manganês para a solução não foi completo nas condições experimentais, com aproximadamente 86% de redução da absorvância, sendo necessário a

aspiração da suspensão para determinação total do manganês nas amostras de farinha de trigo.

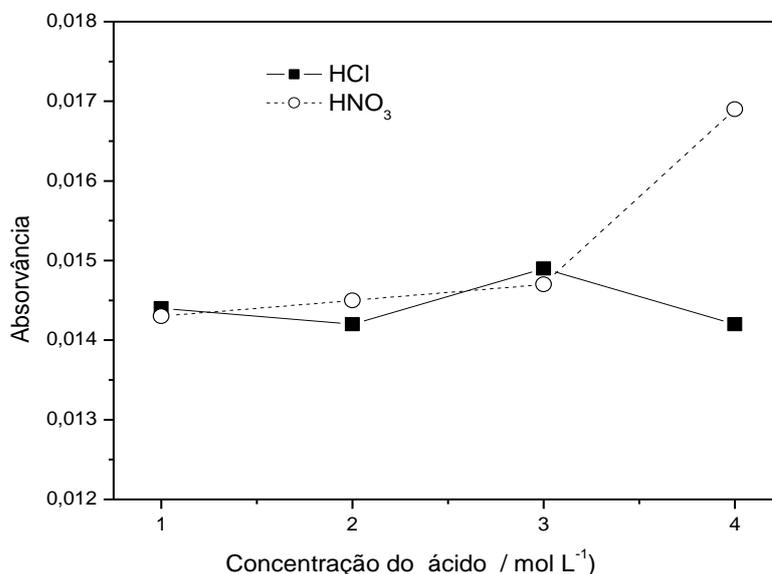


Figura 4.5. Estudo da natureza e concentração dos ácidos no preparo da suspensão de farinha de trigo.

4.6.2.2. Tempo de sonicação

Foi estudado o efeito do tempo de sonicação variando de 0 a 25 minutos. Observou-se que o tempo não influencia no sinal analítico, porém o preparo das suspensões utilizando tempo de sonicação menor do que 10 minutos mostra maior probabilidade de obstrução do tubo capilar. Tempo de sonicação superior que 10 minutos é também necessário para obtenção de uma suspensão estável. A **Figura 4.6** apresenta o estudo do efeito da sonicação sobre o preparo da suspensão. O tempo de sonicação escolhido foi de 15 minutos.

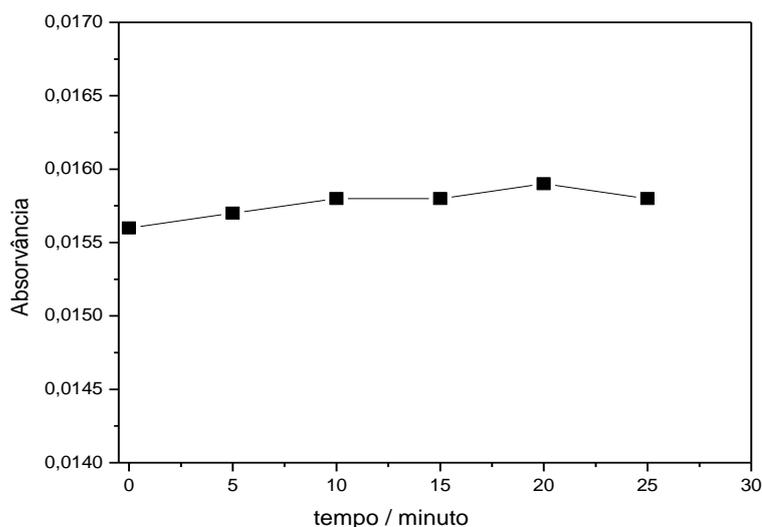


Figura 4.6. Estudo do tempo de sonicação no preparo da suspensão de farinha de trigo

4.6.2.3. Estudo relativo à massa de amostra

A **Figura 4.7** representa o estudo relativo a correlação entre o sinal de absorvância e a massa da amostra utilizada no preparo da suspensão. Ela evidencia a proporcionalidade linear para sinais analíticos obtidos a partir da variação da massa de 0,20 a 1,00 g, usando 50 mL ácido nítrico 2,0 mol L⁻¹ e sonicada por 15 minutos. Logo, a preparação da suspensão com até 0,6 g, não interverem na precisão e obstrução do tubo capilar do sistema de nebulização. Assim, a massa de amostra de 0,5000 ± 0,0001 g foi utilizada para análises. Cabe ressaltar, que a quantidade de massa muito pequena é propícia a não homogeneidade da amostra e a baixa precisão dos resultados. Já quantidades muito grandes, eliminam esses problemas, porém aumentam a probabilidade de ocorrer à obstrução do sistema de nebulização do equipamento.

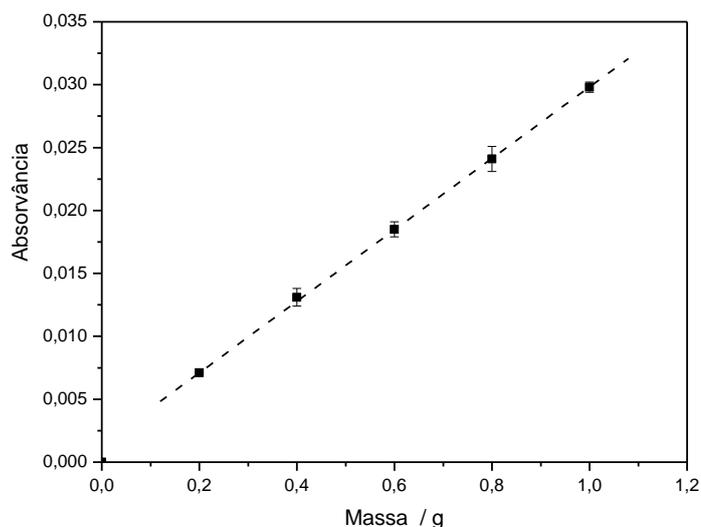


Figura 4.7. Estudo relativo à massa para o preparo da suspensão de farinha de trigo

4.6.2.4. Curva de calibração

As equações das curvas de calibração versus padrões aquosos preparada em 2 mol L^{-1} de ácido nítrico, com adição de analito na farinhas de trigo e de arroz foram utilizadas avaliar a exatidão e o efeito de matriz na determinação de manganês por FAAS, tendo coeficientes de correlações $> 0,999$. As equações das três calibrações estão dispostas na **Tabela 4.2**.

Tabela 4.2. Equações das calibrações analíticas para determinação de manganês em farinha de trigo por FAAS.

Curvas de calibração	Equação	Coefficiente de correlação
Preparada em 2 mol L^{-1} de ácido nítrico	$Abs = 0,1831.C_{Mn} + 0,0013$	1,0000
Adição analito em farinha de trigo	$Abs = 0,1834.C_{Mn} + 0,0084$	0,9991
Adição de analito em farinha de arroz	$Abs = 0,1855.C_{Mn} + 0,0002$	0,9987

Foi aplicado o teste estatístico ANOVA: fator único entre equações. O resultado demonstrou que não existe diferença significativa entre os tipos de calibrações a partir da comparação estatística com 59% de probabilidade de

esses valores serem semelhantes ($p > 5\%$), confirmando assim, a exatidão para o método de amostragem em suspensão proposto. A comparação das inclinações das calibrações analíticas evidencia também, nenhum efeito de matriz, devido à proximidade dos coeficientes lineares. Assim, durante as determinações do manganês nas suspensões, tanto o analito da amostra como o da solução padrão se encontram nas mesmas circunstâncias experimentais, podendo a concentração do elemento na farinha de trigo ser determinada usando calibração padrão.

4.6.3. Método proposto

Considerando os resultados obtidos durante a etapa de otimização univariada dos fatores envolvidos para determinação de manganês em farinha de trigo, o procedimento proposto recomenda uma massa de amostra de $0,5000 \pm 0,0001$ g, diluída para 50 mL usando solução de ácido nítrico $2,0 \text{ mol L}^{-1}$ e sonicação por 15 minutos, seguida de detecção empregando FAAS conforme parâmetros operacionais da **Tabela 4.1**.

4.6.3.1. Parâmetros de mérito

4.6.3.1.1. Limite de detecção e limite de quantificação

O LD calculado a partir da **Equação 4.1** para a determinação de manganês em farinha de trigo foi de $0,13 \mu\text{g g}^{-1}$, a partir do desvio padrão de 10 medidas consecutivas do branco, preparado usando $0,5000 \pm 0,0001$ g de farinha de arroz da marca MAIZENA[®] e DURYEA[®] e volume final de 50 mL. O LQ calculado a partir da **Equação 4.2** foi de $0,44 \mu\text{g g}^{-1}$ ($n = 10$).

4.6.3.1.2. Precisão

A precisão do método proposto foi expressa como desvio padrão relativo de até 3,5 % para 10 medidas consecutivas da suspensão de uma amostra de farinha de trigo contendo $7,6 \pm 0,1 \mu\text{g g}^{-1}$ de manganês.

4.6.3.1.3. Exatidão

Neste trabalho, a exatidão foi confirmada através da determinação de manganês em três materiais de referência certificados de farinha de arroz. Os resultados são expressos com intervalo de confiança com nível de 95 % de confiabilidade, apresentados **Tabela 4.3**.

Tabela 4.3. Determinação de manganês em materiais de referência certificados de farinha de arroz utilizando amostragem em suspensão e detecção por FAAS. (n = 3)

Farinha de arroz	Valor Certificado ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Método proposto/suspensão ($\mu\text{g g}^{-1}$)
NIST 1568a	$20,0 \pm 1,6$	$19,2 \pm 0,6$
NIES 1-a	$34,7 \pm 1,8$	$34,3 \pm 0,6$
NIES 1-c	$40,1 \pm 2,0$	$38,3 \pm 0,3$

NIST: National Institute of Standart and Technology

NIES: National Institute for Enrironmental Studies

A comparação estatística pelo Teste-t nos estudos com dados pareados, com grau de liberdade igual 2 (n=3), não mostrou diferença significativa entre os valores de manganês encontrados pela técnica de amostragem em suspensão e os valores certificados pelos materiais de referência de farinha de arroz (**Tabela 4.3**). O valor de t_{tabelado} é 4,303, sendo o valor absoluto de $t_{\text{calculado}}$ igual a 2,402 - menor que t valor crítico, aceitando a hipótese de que as médias de manganês nas amostras de farinha de arroz comparadas aos valores certificados não diferem estatisticamente, ao nível de significância de 95% ($\alpha = 0,05$).

4.6.4. Aplicação

O método desenvolvido foi aplicado para determinação da concentração de manganês em sete amostras de farinhas de trigo coletadas em supermercados da cidade de Salvador, Bahia, Brasil, no período de 04/01 a 30/03/2005 . A concentração de manganês encontrada em todas as amostras coletadas variou de $5,2 \pm 0,7$ e $7,6 \pm 0,5$ μg por grama de farinha de trigo. Essas amostras também foram analisadas após a dissolução de amostras por via úmida, usando uma mistura ácido nítrico e peróxido de hidrogênio, como descrito na seção 4.4. As concentrações de manganês foram determinadas empregando

FAAS. As concentrações determinadas para cada uma das amostras, nos respectivos métodos, estão apresentados na **Tabela 4.4**.

Tabela 4.4. Resultado da concentração de manganês obtida nas amostras de farinha de trigo por FAAS:

Amostra	Dissolução completa $\mu\text{g g}^{-1}$ (n=3)*	Método proposto / suspensão $\mu\text{g g}^{-1}$ (n=3)*
1	$5,8 \pm 0,3$	$5,8 \pm 0,2$
2	$5,1 \pm 0,1$	$5,2 \pm 0,7$
3	$5,8 \pm 0,4$	$6,0 \pm 0,8$
4	$7,8 \pm 0,5$	$7,6 \pm 0,5$
5	$5,4 \pm 0,1$	$5,5 \pm 0,3$
6	$7,1 \pm 0,1$	$7,3 \pm 0,6$
7	$5,9 \pm 0,4$	$6,2 \pm 0,1$

* Resultados expressos com intervalo de confiança com nível 95% de confiabilidade.

A comparação estatística pelo Teste-t nos estudos com dados pareados, com grau de liberdade igual 6 (n=7), não mostrou diferença significativa entre os valores de manganês obtidos pelas técnicas de dissolução por via úmida e por amostragem em suspensão, ambas utilizando detecção por FAAS (**Tabela 4.4**). O valor de t_{tabelado} é 2,447, sendo o valor absoluto de $t_{\text{calculado}}$ igual a 1,620, menor que t valor crítico, aceitando a hipótese de que as médias de manganês nas amostras de farinha de trigo não diferem estatisticamente por ambas as técnicas, ao nível de significância de 95% ($\alpha = 0,05$).

4.6.5. Conclusão

O método analítico desenvolvido apresenta limite de detecção, precisão e exatidão viável para a determinação do manganês em amostras da farinha de trigo empregando FAAS. O uso da técnica de calibração padrão facilita um procedimento simples e rápido.

A concentração de manganês nas amostras de farinha de trigo coletadas em supermercados da cidade de Salvador variou de $5,2 \pm 0,7$ a $7,6 \pm 0,5 \mu\text{g g}^{-1}$ e com uma média de $6,2 \pm 0,1 \mu\text{g g}^{-1}$.

Capítulo 5

Determinação de cádmio em amostra de farinha de trigo por espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite: uma comparação entre a amostragem direta de sólidos e a amostragem em suspensão.

5.1. Equipamentos e materiais utilizados

5.1.1. Instrumentos e acessórios

- ✓ Um Unique-Thorton modelo USC-2850 banho ultra sônico operado com uma frequência 37 ± 3 kHz (Thorton, São Paulo, Brasil), com uma temperatura controlada de até 80 ± 5 ° C, foi utilizado no preparo das suspensões.
- ✓ Um sistema de purificação de água Millipore (Bedford, MA, EUA)
- ✓ M2P microbalança (Sartorius, Göttingen, Alemanha)
- ✓ Espectrômetro de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite (Analytik Jena AG, Germany) - Modelo AAS5 EA equipado com um amostrador direto de sólidos manual (Analytik Jena AG, Alemanha)
- ✓ Um autoamostrador MPE 5 (Analytik Jena AG, Alemanha)
- ✓ Um Superscan SS-550 microscópio varredura eletrônica (Shimadzu, Kioto, Japão).

5.1.2. Reagentes

5.1.2.1. Solução de cádmio 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$

Mediu-se 25 μL de uma solução de cádmio (II) 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (Merck) em uma micropipeta volumétrica e diluiu-se a 25,0 mL com água ultrapura. Foi adicionado 250 μL da solução de ácido nítrico P. A. (Merck) 65%.

5.1.2.2. Solução de ácido nítrico

Mediu-se 1,0 mL em pipeta graduada de 10,0 mL uma solução de ácido nítrico bi-destilado 1,4 mol L^{-1} e diluiu-se a 100 mL com água ultrapura.

5.1.2.3. Solução mista de modificador

Solução estoque de Paládio modificador com $10 \pm 0,2 \text{ g L}^{-1}$ Pd em 15% (v/v) de ácido nítrico (Merck), solução estoque de magnésio modificador com $10 \pm 0,2 \text{ g L}^{-1}$ Mg em 17% v / v de ácido nítrico (Merck), Triton X-100 (Union Carbide) e H_2O_2 30% v / v (Merck) foram utilizados para preparar a solução mista de modificador.

5.2. Amostras

5.2.1. Materiais de referência certificados

Quatro materiais de referência certificados foram utilizados para confirmar a exatidão:

- Três materiais de referência certificados fornecidos pelo National Instituto of Standart and Technology (NIST), Gaithersburg, MD, E.U.A.): farinha de trigo (1567a), farelo de milho (8433) e folhas de maçã (1515)

- Um material de referência certificado de pão (BCR 191) fornecido pela Community Bureau of Reference of the European Communities Commission;

5.2.2. Coleta e identificação das amostras de farinha de trigo

Foram coletadas 06 amostras de farinha de trigo em supermercados nas cidades de Salvador/BA (01 amostra), Belém/PA (01 amostra), São Paulo/SP (01 amostra), Brasília/DF (01 amostra) e Porto Alegre/RS (02 amostras) no período de maio a dezembro de 2006.

5.3. Parâmetros operacionais empregando GF AAS

Todas as medidas foram realizadas usando um espectrômetro de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite AAS 5EA (Analytik Jena AG, Germany) equipado com amostrador direto de sólidos manual (Analytik Jena AG, Germany). O aquecimento do forno foi feito transversalmente com corretor de deutério para o sinal de fundo. Todos os experimentos para análise direta de sólidos foram realizados utilizando tubos sem orifício (Analytik Jena Part No. 07 - 8.130.325) e plataformas amostragem de sólidos (SS) (Analytik Jena Part No. 407-152,023). Um acessório de amostragem manual de sólidos SSA 5 (Analytik Jena) foi instalado na área de amostragem do espectrômetro, e um par de pinças pré-ajustados, que são parte do SSA 5, foi usado para transferir a plataforma SS para o atomizador. Argônio com pureza mínima de 99,996% (White Martins, Brasil) foi empregado como gás de purga e proteção. Foi utilizada uma farinha de trigo comercial para otimizar os parâmetros operacionais da amostragem direta de sólido empregando espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite (SS-GF AAS). As amostras de farinha de trigo foram pesadas diretamente na plataforma de grafite (Analytik Jena) usando a M2P microbalança (Sartorius, Göttingen, Germany). Tubos de grafite revestidos pirolítico com plataforma contatos integrada PIN (Analytik Jena, Part No. 407-A81.025) foram utilizados para os

experimentos com SIS. Um autoamostrador MPE 5 (Analytik Jena) foi utilizado para introdução de suspensões e soluções. O programa de temperatura utilizado para calibração versus padrões aquosos e para amostras sólidas na determinação de cádmio está apresentado na **Tabela 5.1**:

Tabela 5.1. Parâmetros operacionais do GF AAS para determinação de cádmio:

Parâmetro	Valor
Comprimento de onda	228,8 nm
Largura da fenda	0,8 nm
Corrente da lâmpada de catodo oco	4,0 mA
Vazão de fluxo do argônio	2,0 L min ⁻¹

5.4. Preparo das suspensões

As suspensões foram preparadas a partir de $0,1000 \pm 0,0001$ g da amostra de farinha seca, transferida para um balão volumétrico de 10,0 mL com uma quantidade de 5,0 mL de ácido nítrico $0,014 \text{ mol L}^{-1}$, 10 μL de peróxido de hidrogênio 30% (v/v). As suspensões foram homogeneizadas durante 15 minutos em banho de ultra-som. Logo após, o balão volumétrico foi aferido para o volume de 10,0 mL com ácido nítrico $0,014 \text{ mol L}^{-1}$ e a solução foi aspirada pelo sistema de autoamostrador do equipamento com agitação manual e constante para ser introduzida no tubo de grafite. O branco da suspensão foi preparado a partir da solução de ácido nítrico $0,014 \text{ mol L}^{-1}$ e 0,010 mL de peróxido de hidrogênio 30% (v/v) com volume final de 10,0 mL.

5.5. Resultados e discussão

5.5.1. Determinação de cádmio em farinha de trigo

A necessidade da determinação de elementos traço relacionados à análise de gêneros alimentícios ou materiais biológicos empregando espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite (GF AAS) é oportuna, uma vez que permite determinar o analito de interesse sem pré-tratamento, reduzindo assim, o tempo de análise e riscos de contaminações, além de apresentar baixos limites de detecção [52, 97].

A farinha de trigo é um produto muito importante consumida diariamente por milhares de pessoas. A determinação de seus constituintes é de interesse tanto nutricional como toxicológico. O cádmio é um elemento tóxico e acumulativo para os seres humanos [32]. A concentração deste elemento na alimentação é, portanto, de todo o mundo uma preocupação para a autoridade sanitária, que estão estabelecendo limites superiores e reduzindo a concentração de cádmio nos alimentos, que é considerado a principal fonte de ingestão deste contaminante para pessoas. Nos Estados Unidos, uma campanha da indústria alimentar existe a adquirir conhecimentos sobre a necessidade de restringir esta contaminação e preservar a saúde pública. No Brasil, a legislação permite uma concentração máxima de $1,0 \text{ mg kg}^{-1}$ em alimentos [120]. Métodos propostos para sua determinação envolvem a mineralização ou decomposição da amostra, sendo tediosos e requerendo reagentes de alto grau de pureza [47].

Os métodos otimizados devem considerar as condições e recursos STPF (Stabilized temperature platform furnace) propostos por Slavin em 1981, para minimizar as interferências espectrais e garantir o emprego de GF AAS para diversos tipos de análises [124].

5.5.2. Método de análise direta de amostras sólidas

5.5.2.1. Otimização das condições experimentais para amostragem direta de sólidos

5.5.2.1.1. Perfil de absorvância

Primeiramente, as condições para a determinação de cádmio em farinha de trigo, foram otimizadas considerando tanto a absorção atômica como de sinal de fundo como indicadores. Na Figura 5.1-a mostra os sinais de atomização e de fundo de uma amostra de farinha de trigo para Cd, com a adição de 10 μ g Pd + 3 μ g Mg + 0,05% Triton X-100 como modificador químico, uma mistura que tem sido utilizado com sucesso em aplicações anteriores de SS-GF AAS [121, 122]. Um sinal de fundo relativamente acentuado foi observado no início do estágio atomização nestas condições, causando uma ligeira distorção da linha base, que se tornou mais pronunciada para uma maior massa de amostra. A adição de 0,1% v / v H₂O₂ à solução com modificador reduziu significativamente a absorção de fundo e eliminou efeitos associados distorção da linha base, como pode ser visto na **Figura 5.1-b**. Além disso, houve um claro aumento do cádmio absorção sinal, tanto em altura e em absorvância integrada. Gonzalez et al. [34] utilizou uma mistura de ácido nítrico e peróxido de hidrogénio na determinação do cobalto, crómio e níquel em amostras de farinha de trigo, por SIS-GF AAS como modificador oxidante do resíduos carbono que são retidos na plataforma devido incompleta destruição da matriz orgânica. Cal-Prieto et al. [18] também incentivou a utilização de H₂O₂ para reduzir o sinal de fundo e o acúmulo de resíduos de carbono gerado por materiais biológicos

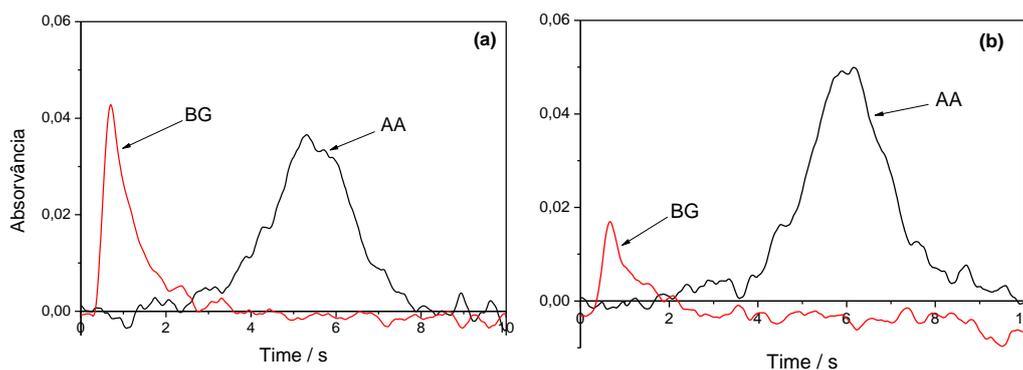


Figura 5.1. Sinal de atomização para Cd em cerca de 1 mg de farinha de trigo, utilizando análise direta sólida com uma pirólise temperatura de 700 ° C e uma temperatura de atomização 1600 ° C, a) com a adição de 10 µ g Pd + 3 µ g Mg + 0,05% Triton X-100 como a Modificador; b) mesmo que a), mas com o uso adicional de 0,1% H₂O₂; AA = absorção atômica; BG = absorção de sinal de fundo.

5.5.2.1.2. Estudo da massa

A massa de farinha de trigo que poderia ser utilizado para a determinação direta SS de cádmio no âmbito do referidas condições estabelecidas também foi investigada. A **Figura 5.2** mostra uma correlação linear entre o sinal de absorvância integrada e a massa da amostra no intervalo de 0,5 a 3,0 mg. Cada ponto de medição (**Figura 5.2**) corresponde a uma amostra individual pesagem e medida, como é quase impossível e também desnecessário pesar e introduzir repetidamente a mesma amostra de massa. Na farinha de trigo, massas > 5 mg, porém, não pôde ser pirolisada com eficientemente usando o programa temperatura do forno grafite apresentados na **Tabela 1**. Além disso, o volume de capacidade de amostragem sólido da plataforma também atingiu o seu limite, resultando em dificuldades na transferência de amostra para o forno grafite.

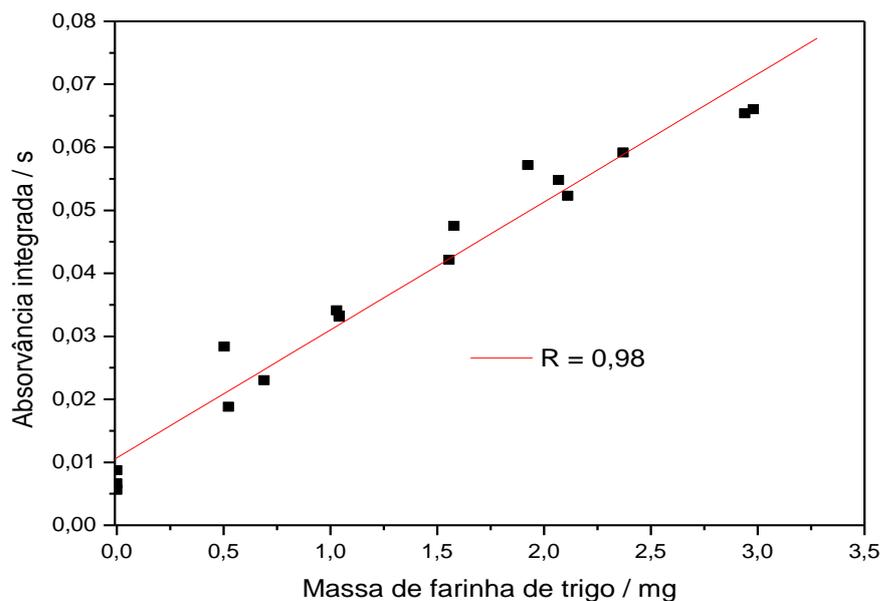


Figura 5.2. Correlação entre a massa de farinha de trigo introduzida no forno de grafite e os valores de absorvância integrada. $T_p = 700\text{ }^\circ\text{C}$; $T.a. = 1600\text{ }^\circ\text{C}$; modificador: $10\text{ }\mu\text{g Pd} + 3\text{ }\mu\text{g Mg} + 0,05\%$ Triton X-100 + $0,1\%$ H_2O_2 .

5.5.2.1.3. Otimização das temperatura de pirólise

Curvas pirólises foram estabelecidas para uma amostra de farinha de trigo, e uma solução aquosa usando $10\text{ }\mu\text{g Pd} + 3\text{ }\mu\text{g Mg} + 0,05\%$ Triton X-100 + $0,1\%$ H_2O_2 como modificador químico em ambos os casos, e são mostrados na **Figura 5.3**. A atomização temperatura de $1600\text{ }^\circ\text{C}$ foi otimizado em trabalhos anteriores [123], é também de acordo com a literatura dados de um transversalmente aquecida atomizador [124] e ainda não foi investigado. Os valores de absorvância integrada para amostra de farinha de trigo, na **Figura 5.3** foram 'normalizado' para 2 mg da amostra, devido à supra-discutida dificuldades para pesar e introduzir repetidamente a mesma amostra de massa no forno de grafite. Assim, uma amostra de massa perto de 2 mg foi pesada com precisão, e as absorvância integradas obtidas para a amostra efetivamente introduzido massa foi multiplicada com o fator correspondente ao desvio da massa real amostra de $2,0\text{ mg}$. É óbvio que o cádmio em solução aquosa é termicamente estável até $900\text{ }^\circ\text{C}$, sob as selecionadas condições, e sem perdas de cádmio são observados a partir de farinha de trigo, pelo menos até $800\text{ }^\circ\text{C}$. A pirólise

temperatura de 800 ° C, por isso, foi escolhida para todas as futuras investigações.

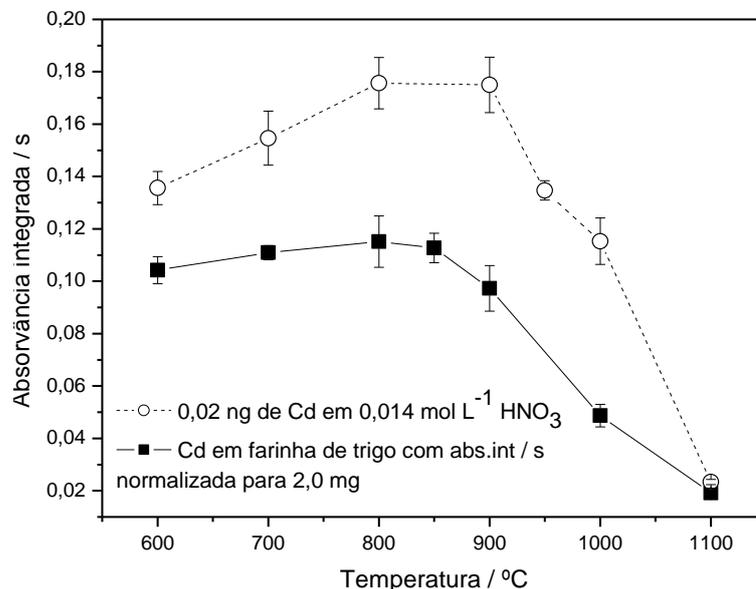


Figura 5.3. Curvas de pirólise para cádmio na presença de 10 µg Pd + 3 µg Mg + 0,05% Triton X-100 + 0,1% H₂O₂ como modificador; (●) 0,02 ng Cd em 0,014 mol L⁻¹ HNO₃; (■) absorvância integrada normalizada para 2,0 mg de amostra de farinha de trigo. Temperatura atomização = 1600 °C. Todos os pontos de média e desvio padrão de n = 5 medições.

Em adição à semelhança do comportamento térmico de cádmio no padrão aquoso e na amostra de farinha de trigo, **Figura 5.4-a**, também mostra que os sinais de atomização não são significativamente diferentes, indicando que a calibração versus padrões aquosos poderia ser viável. **Figura 5.4-b** também mostra a ausência de qualquer sinal significativo de fundo, o que demonstra a eficiência da remoção da matriz com farinha de trigo, na etapa de pirólise.

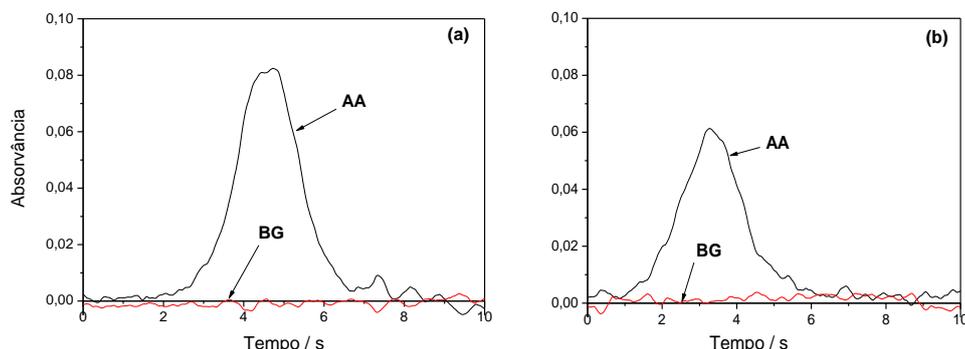


Figura 5.4. Pulsos de atomização de Cd, temperatura de pirólise de 800 ° C e temperatura de atomização = 1600 ° C, com o acréscimo de 10 µg Pd + 3 µg Mg + 0,05% v/v Triton X-100 + 0,1% v/v H₂O₂ como modificador; a) 0,02 ng Cd em 0,014 mol L⁻¹ HNO₃; b) 2,0 mg de farinha de trigo.

5.5.2.2. Método proposto para análise direta de amostras sólidas

Aproximadamente 2,0 mg de amostra de farinha de trigo foram pesados diretamente na plataforma SS. Dez µL de uma solução contendo 10 µg Pd + 3 µg Mg + 0,05% Triton X-100 + 0,1% H₂O₂ v/v foram adicionados com uma micropipeta como modificador químico e a plataforma SS foi transferido para o forno de grafite seguida de detecção por GF AAS. O programa de temperatura está descrito na **Tabela 5.1**. Pelo menos 5 repetições de cada amostra foram pesados e analisados. A calibração foi realizada utilizando a técnica calibração versus padrões aquosos nas mesmas condições experimentais.

5.5.3. Método de amostragem em suspensão

5.5.3.1. Otimização das condições experimentais para amostragem em suspensão

5.5.3.1.1. Estabilidade e diluente da suspensão

A eficiência da técnica de amostragem em suspensão utilizando GF AAS a respeito da flexibilidade em relação ao tamanho da partícula, deixa esta técnica mais atrativa em relação a outras técnicas como ICP OES, ICP-MS e FAAS, devido aos seus sistemas de nebulização.

No entanto, o tamanho da partícula está ligado a outro parâmetro muito importante na técnica de amostragem em suspensão, que é o uso de um agente estabilizante usado para dispersar as partículas do sólido homogeneamente no líquido. Logo, a escolha desse diluente deve ser muito cuidadosa, pois apesar de estabilizar a suspensão, alguns deles como glicerol e o viscalex podem causar problemas sérios na repetitividade dos volumes tomados pelo amostrador líquido automático, porque a solução da amostra adere à parte externa do capilar diminuindo a precisão entre as medidas [125].

O ácido nítrico é diluente e extrator mais utilizado no preparo de suspensão. Gonzalez e colaboradores utilizaram a mistura do ácido nítrico e peróxido de hidrogênio na determinação de cobalto, cromo e níquel em amostras de farinha de trigo por amostragem em suspensão. Eles comentam a eficiência extratora da mistura na determinação dos metais. Outro problema principal empregando a amostragem em suspensões de materiais biológicos citados pelos pesquisados são os resíduos carbonáceos que se formam sobre a plataforma do tubo, devido à destruição incompleta da matriz orgânica. A respeito desse assunto, a mistura $\text{HNO}_3\text{-H}_2\text{O}_2$ age como um modificador do oxidante [126]. Esta mesma situação foi observada na revisão proposta por Cal-Pietro e colaboradores [48], que recomendam o uso de H_2O_2 para redução do sinal de fundo e do acúmulo de resíduos carbonáceos de materiais biológicos. Entretanto, os autores chamam atenção para alta concentração de H_2O_2 que pode diminuir o sinal analítico e o tempo de vida do tubo de grafite.

Durante o estudo do estabilizante e diluente, o preparo da suspensão 1% (m/v) foi comparado ao uso do hidróxido de tetrametilamônio (TMHA) com a mistura ácido nítrico e peróxido de hidrogênio, porém os mesmos não apresentaram mudança significativa nos valores de absorvância.

O procedimento proposto para o preparo da suspensão 1% (m/v) está descrito na **seção 5.4**. O tempo de sonicação foi mantido em 15 minutos, conforme estudo preliminar feito para análise de suspensão em amostra de farinha de trigo para determinação de manganês usando FAAS, em que o estudo demonstrou que não há influência no sinal analítico na sua variação. Entretanto, mostrou-se eficiente na diminuição dos aglomerados de partículas formados na amostra.

5.5.3.1.2. Técnica de pré-concentração empregando a técnica de multi-injeções

Experimentos preliminares têm demonstrado que injeção de 20 µL de suspensão da farinha de trigo (mais 10 µL de solução modificador) não forneceu sensibilidade suficiente para a determinação de cádmio nas amostras de farinha de trigo. Significativamente maiores volumes de suspensão não poderiam ser injetados, sem o risco de um excesso devido à limitada capacidade da plataforma. Uma possível solução para resolver esse problema teria seria preparar uma suspensão mais concentrada; no entanto, as dificuldades foram enfrentadas com a estabilidade da suspensão. A etapa de pré-concentração usando múltiplas injeções foi investigada, por conseguinte, a fim de alcançar um nível de sensibilidade adequado. 20 µL de suspensão foram injetados no tubo de grafite aquecida a 90 ° C (etapa 1 na **Tabela 5.1**), seguido por um profundo secagem fase (etapas 2-3 da **Tabela 5.1**), antes da próxima uma nova alíquota foi injetada. Após a última injeção da suspensão, 10 µ L da solução modificador químico (30 µg Pd + 12 µg Mg + 0,05% Triton X-100 + 0,1% v/v H₂O₂) foi injetado e o programa de temperatura completo apresentado na **Tabela 5.1** foi executado. A **Figura 5.5** mostra os sinais de absorção obtidos para uma amostra com farinha de trigo, após a injeção de um, três e cinco alíquotas de 20 µL da suspensão no

tubo de grafite. O aumento da absorvância integrada foi diretamente proporcional ao número de alíquotas injetado no tubo de grafite.

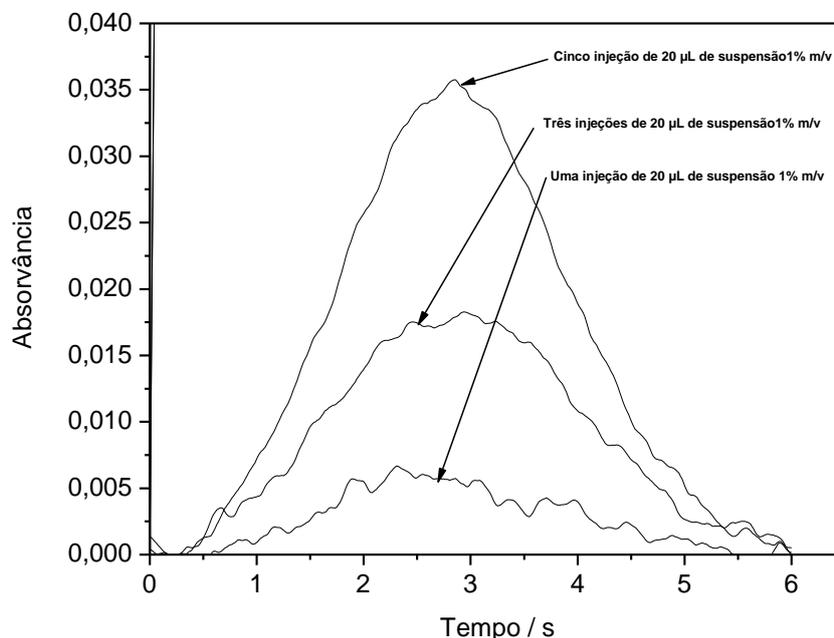


Figura 5.5. Sinais Atomização para Cd obtidos para uma, três e cinco alíquotas de 20 μ L de suspensão de 1% m / v de farinha de trigo em grafite de tubo com 30 μ g Pd + 12 μ g Mg + 0,05% Triton X-100 + 0,1% v / v H₂O₂ como modificador químico. T_p = 800 ° C e T.a. = 1600 ° C.

5.5.3.1.3. Seleção das temperaturas de pirólise e atomização

As curvas de pirólise estabelecida com uma solução aquosa padrão e uma suspensão de farinha de trigo, são mostradas nas **Figura 5.6**, são bastante semelhantes às aquelas em **Figura 5.3**. As pequenas diferenças na forma das curvas e no máximo da temperatura pirólise para perda livre (850 ° C para a solução aquosa padrão comparado a 900 ° C no Fig. 3), muito provavelmente devido às plataformas e aos tubos diferentes utilizados para a SS e SIS, respectivamente. A plataforma SS tem massas diferentes que plataforma PIN, sendo definitivamente fixada no tubo. Isto pode resultar em uma outra transferência de calor a partir do tubo com a plataforma e ligeiramente diferentes temperaturas de pirólise para as duas plataformas. No entanto, a temperatura de

pirólise ótima foi a mesma que para a análise direta SS, ou seja, temperatura de pirólise de 800 e temperatura de atomização de 1600 ° C.

Os sinais de atomização obtidos nestas condições estão apresentados na **Figura 5.7**. Como no caso da SS direta, os sinais para o padrão aquoso e cinco injeções de 20 µL alíquotas da suspensão de farinha de trigo, são muito semelhantes na aparência do tempo e da forma do pico, e não há nenhum de sinal de fundo essencialmente visível. Significativamente, a aparência do tempo mais cedo e a forma acentuada do pico em comparação com os sinais obtidos com SS (**Figura 5.4**) estão novamente devido à menor massa do PIN, em comparação com a plataforma SS e os diferentes mecanismos de transferência de calor. Um outro fator que influencia a forma do pico é a ausência de um orifício no caso do tubo SS, o que resulta em um maior tempo de permanência dos átomos no volume de absorção.

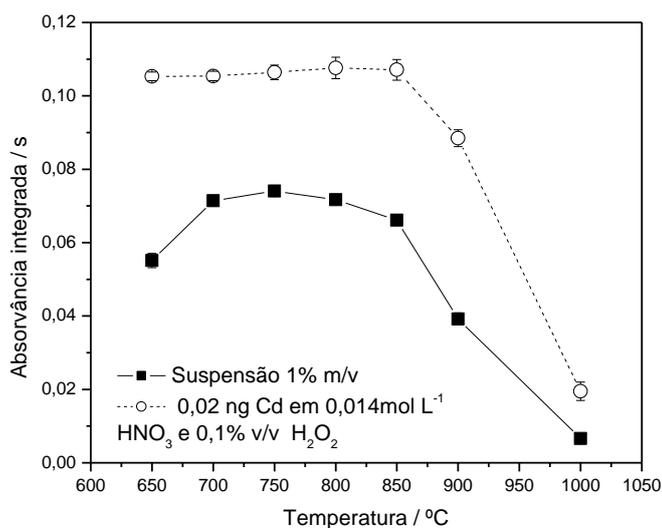


Figura 5.6. Curvas de pirólise para (●) 0,02 ng de Cd e (■) Suspensão 1,0% (m /v) de farinha de trigo (5 x 20 µ L), ambas com 30 µg Pd + 12 µg Mg + 0,05% triton X-100 como modificador químico. T.a. = 1600 ° C.

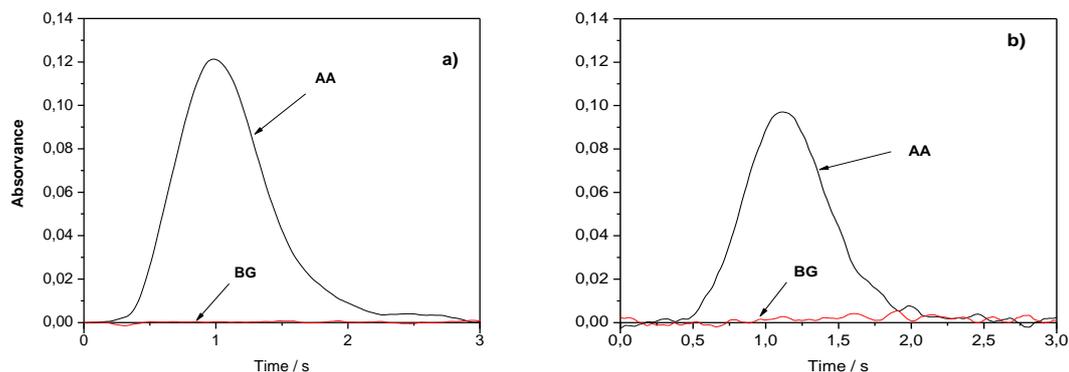


Figura 5.7. Sinais de atomização de Cd, utilizando a temperatura de pirólise de 800 ° C e temperatura de atomização de 1600 ° C, com adição de 30 µg Pd + 12 µg Mg + 0,05% triton X-100 como modificador químico. a) 0,02 ng Cd em 0,014 mol L⁻¹ HNO₃ + 0,1% v / v H₂O₂; b) 5 alíquotas de 20 µ L de uma suspensão 1% m / v de farinha de trigo.

5.5.3.2. Método proposto para análise de suspensão

As suspensões foram preparadas pesando 0,1 g de amostra seca (média da dimensão das partículas ~ 18 µm), adição de 10 µL de H₂O₂ 30% v/v em um balão volumétrico de 10mL e seguida avolumou-se com uma solução de ácido nítrico 0,014 mol L⁻¹. As suspensões foram homogeneizadas durante 15 minutos em banho de ultra-som. Ela foi agitada manualmente antes de serem introduzidos nos copinhos de autoamostrador para homogeneização antes de ter sido introduzido no tubo de grafite para determinação de cádmio. Cinco alíquotas de 20 µL foram geralmente injetado no tubo grafite, e cada injeção foi seguido pelas três primeiras fases do grafite forno temperatura programa apresentados na **Tabela 5.1**, a fim de secar completamente a amostra injetada. A ultima alíquota foi seguida por injeção de 10 µL da solução contendo 30 µ g Pd + 12 µg Mg + 0,05% Triton X-100 como modificador químico, seguida da execução do programa temperatura completo do forno de grafite.

5.5.4. Determinação de cádmio usando GF AAS: uma comparação entre amostragem em suspensão e a amostragem direta de sólido

5.5.4.1. Figuras de mérito

Os valores das figuras de mérito para a determinação de cádmio em amostras de farinha de trigo utilizando SS-GF AAS e SIS-GF AAS com múltiplas injeções estão resumidas na **Tabela 5.2**. Os limites de detecções (LODs), em ambas as situações foram calculadas como três vezes o desvio-padrão de 10 medidas de um branco dividido pela inclinação da curva de calibração; em SS-GF AAS as medidas branco foram realizadas de acordo com a técnica "zero massa resposta" [24], introduzindo repetidamente uma plataforma SS contendo a mistura do modificador e executar um ciclo completo do programa de temperatura (**Tabela 5.1**). Os limites de quantificações (LOQs) baseiam-se nas mesmas medidas, utilizando 10 vezes o desvio padrão das leituras em branco. A característica massa (m_0) é definida como a massa de análise o que corresponde a uma absorbância integrada de 0,0044 s.

Uma curva estabelecida utilizando um branco e oito soluções de calibração no intervalo de concentração de 0,25 – 5,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ Cd (5 – 100 pg Cd) em 0,014 mol L^{-1} HNO_3 , usando as condições descritas na parte Experimental e uma plataforma SS e o tubo dá a relação linear: $A_{\text{int}} = 7,989m + 0,0059$ ($R = 0,9997$), em que m é a massa analito. As mesmas soluções de calibração, utilizando a tubo de plataforma PIN, que foi utilizado para análise SIS, dá a relação linear: $A_{\text{int}} = 4,096m + 0,015$ ($R = 0,9998$).

A menor sensibilidade obtida no último caso, deve-se à ao orifício no tubo de plataforma PIN, que está ausente no tubo SS, o que resulta em um maior tempo de permanência dos átomos no volume absorção. O fato de uma parte significativa dos átomos serem difundidos para fora do orifício de um tubo convencional de grafite está bem descrita na literatura [36, 37, 38].

Tabela 5.2. Figuras de mérito para a determinação de Cd em farinha de trigo, utilizando SS-GFAAS e SIS-GF AAS.

Parâmetros	SS-GF AAS ^a	SIS-GF AAS ^b
LOD / ng g ⁻¹	0,4	0,7
LOQ / ng g ⁻¹	1,3	2,3
m ₀ / pg	0,6	1,0

^a Baseado na introdução de 3,0 mg da amostra no tubo de grafite.

^b Baseado em cinco injeções consecutivas de 20 µL de suspensão, correspondente a 1,0 mg da amostra introduzida no forno.

5.5.4.2. Exatidão do método

Os resultados obtidos para o cádmio nos materiais de referência certificado utilizando a técnica de calibração com padrões aquosos estão apresentados na **Tabela 5.3**. Não há nenhuma diferença estatisticamente significativa entre os resultados obtidos através SS-GF AAS e SIS-GF AAS para os valores certificados para farinha de trigo NIST 1567a, e entre os valores de outros materiais de referência certificados obtidos através SS-GF AAS com nível de confiança de 95 %, com base no teste *t-Student*. Este resultado mostra que o cádmio nas amostras farinha de trigo pode ser determinado diretamente usando a técnica de calibração externa com padrões aquosos. Os outros materiais de referências certificados não foram investigadas usando SIS-GF AAS significativamente diferente devido à sua estrutura física, que teria exigiram mais otimização do procedimento de preparação da suspensão. Os resultados encontrados foram comparados estatisticamente com o valor certificado mostrando que não são estatisticamente significativo ao nível de 95%, conforme a análise de variância (ANOVA): fator único para o teste de probabilidade ($p > 5\%$), sendo os valores encontrados variou de 13 a 54% (**Tabela 5.3**).

Tabela 5.3. Determinação de cádmio em materiais de referência certificado utilizando SS-GF AAS e SIS-GF AAS e calibração versus padrões aquoso; todos os valores médios e desvio padrão de $n = 5$ medidas.

Material Certificado	Valor certificado ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Valor Encontrado por SS ($\mu\text{g g}^{-1}$)*	$p > 5\%$	Valor encontrado por SIS ($\mu\text{g g}^{-1}$)*	$p > 5\%$
Farinha de trigo NIST 1567a	$0,026 \pm 0,002$	$0,022 \pm 0,006$	54	$0,023 \pm 0,001$	13
Farelo de milho NIST 8433	$0,012 \pm 0,005$	$0,016 \pm 0,003$	19	n.d.	n.d.
Pão BCR n° 191	$0,0284 \pm 0,002$	$0,0310 \pm 0,002$	27	n.d.	n.d.
Folhas de maçã NIST 1515	$0,013 \pm 0,002$	$0,016 \pm 0,003$	30	n.d.	n.d.

*Média \pm intervalo de confiança para 95% de confiabilidade
n.d. = não determinado

5.5.4.3. Análise de amostras de farinha de trigo

Os métodos propostos foram aplicados para a determinação de cádmio em farinha de trigo em seis amostras coletadas em supermercados de Salvador/BA, Porto Alegre/RS, São Paulo/SP, Belém/PA e Brasília/DF. Os resultados expressos com intervalo de confiança (no nível 95%) estão apresentados na Tabela 5.3. O teor de cádmio encontrados nestas amostras foi entre $8,9 \pm 0,5$ e 13 ± 2 ng g^{-1} ($n = 5$). Estes valores são cerca de duas ordens de grandeza mais baixa do que o valor permitido de $1,0$ mg kg^{-1} estabelecidos pelo governo brasileiro para os produtos alimentares [120]. O teste- t não apresentaram diferença significativa entre os valores obtidos com cádmio em SS e SIS com multi-injeções ($t_{\text{calculado}} = 1699$; $t_{\text{tabelado}} = 2,571$). A precisão calculada a partir de $n = 5$ medidas para cada amostras de farinha de trigo, expressa como desvio padrão relativo (%RSD), variou entre 6 e 16% para o método SS, com uma média de 10%, e entre 9 e 23% para o método SIS, com uma média de 16%. Os valores relativamente elevados de RSD encontrados para ambas as técnicas pode ser atribuído à pequena amostra de massa introduzida no atomizador e não a heterogeneidade

do analito nas amostras analisadas [127]. No entanto, é óbvio que, SS forneceu uma melhor comparação com SIS em relação ao %RSD, que está em contraste com o generalizado de parecer sobre estas duas técnicas [128].

Tabela 5.4. Resultados obtidos para determinação de cádmio em amostras de farinha de trigo, por SS-GF AAS e SIS-GF AAS (n = 5)

Amostra	SS-GF AAS* ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	RSD (%)	SIS-GF AAS* ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	RSD (%)
POA4	11 \pm 1	6	10 \pm 3	22
SSA3	8,9 \pm 0,5	5	11 \pm 2	14
BEL2	9,9 \pm 1,8	14	14 \pm 4	23
POA3	9,5 \pm 1,0	8	11 \pm 1	9
BSB1	13 \pm 2	10	16 \pm 3	16
SSP4	12 \pm 2	17	11 \pm 2	13

* Resultados expressos com intervalo de confiança (95% no nível).

5.5.5. Conclusão

Os parâmetros analíticos obtidos provar a viabilidade dos métodos propostos utilizando SS e SIS-GF AAS para determinação de Cd em amostras de farinha de trigo. Ambos os métodos são mais simples, rápido e mais sensível do que procedimentos de digestão adequados para o rastreamento de rotina de cádmio em farinha de trigo.

O método SS-GF AAS, no entanto, é claramente o mais simples, rápido e a técnica mais sensível, e que também forneceu a melhor precisão, em comparação com SIS-GF AAS. Outra vantagem da análise direta SS, é que ela parece pode ser aparentemente aplicado a gêneros alimentícios e a produtos de estrutura física diferente não significativa. Enquanto, que para a técnica SIS, o tamanho e estrutura das partículas a serem analisadas é mais dependente.

CAPÍTULO 6

Técnicas espectrométricas multielementares e a Quimiometria

6.1. Técnicas espectroanalíticas multielementares

Nos últimos anos é crescente a utilização de técnicas espectroanalíticas de análises multielementares como àquela que viabilizam procedimentos rápidos e simples para monitorar elementos de interesse nutricionais e toxicológicos em gêneros alimentícios [17, 166, 162, 175]. Entre as técnicas de análise multielementares mais aplicadas estão às espectrometrias de emissão óptica e de massa com plasma indutivamente acoplado devido suas às características particulares.

6.1.1. Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado

A espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) pode ser considerada como uma técnica de análise rotineira de elementos nutricionais e toxicológicos em diversos tipos de matrizes, devido à sua capacidade multielementar e o fato de as curvas analíticas serem geralmente lineares de quatro a seis ordens de magnitude, além do aspecto simultâneo de detecção [168].

A importância do plasma como fonte espectroscópica está na transferência de energia acelerada e outras partículas. Essa energia deve proporcionar ao mesmo uma fonte suficientemente estável para manter o equilíbrio dinâmico das partículas formadas.

No processo do plasma indutivamente acoplado (ICP), os elétrons e os íons livres recebem energia do campo magnético, produzido em uma bobina

energizada pela fonte de alta rádiofreqüência, o plasma na tocha, sendo esta constituída por três tubos concêntricos de quartzo, com entradas independentes para cada seção anular. No tubo central, o gás é introduzido tangencialmente, com fluxo superior a $12,0 \text{ L min}^{-1}$. Pela seção intermediária da tocha entra o gás auxiliar que proteger as paredes de quartzo, sendo sua vazão de $1,0 \text{ L min}^{-1}$, com a função de estabilizar o plasma. Por fim, o terceiro tubo, denominado injetor, no qual entra o aerossol da amostra, por arraste do gás em vazões menores que $1,0 \text{ L min}^{-1}$. O argônio é um gás muito utilizado como fonte de plasma devido ao seu potencial de ionização igual a $15,7 \text{ eV}$, sendo energia suficiente para atomizar e excitar mais de 70 elementos da Tabela Periódica, e por ser um gás facilmente ionizável [168].

A forma mais convencional de introduzir a amostra num plasma é através da formação de aerossol gás/líquido em um nebulizador, sendo o pneumático e o ultrassônicos os mais usados. A combinação do ICP OES a vaporização eletrotérmica (ETV) possibilita a análise de matrizes mais complexas, como cabelo e alumina, até mesmo amostras sólidas [59, 85].

Um sistema espectrométrico eficiente é acoplado à fonte de plasma permitindo a medição ampla da região espectral entre 160 a 800 nm com o máximo de sensibilidade e resolução. Dependendo da configuração, o sistema óptico terá observação do feixe luminoso na posição radial ou axial. Os espectrômetros mais modernos são equipados com rede Echelle que permite separar as radiações nas diferentes ordens, e assim, diminuir a superposição espectral e detecção simultânea empregando detector de estado sólido CCD (Charge Coupled Device) [171].

As condições dos parâmetros e desempenho analítico de uma linha de emissão em ICP OES dependem do número de átomos ou íons emitindo sob as condições experimentais utilizadas. A potência incidente fornecida pela rádio-freqüência, as vazões dos gases na tocha, a pressão do gás de nebulização local de observação do plasma para efetuar as medidas são os principais parâmetros possíveis de otimizar antes das determinações.

A análise multielementar com espectrômetro simultâneo, a estratégia de ajuste das condições de operação deve ser efetuada de forma a maximizar a razão sinal/sinal de fundo para a maioria dos elementos. A determinação de cada

elemento, além da escolha da linha de detecção, leva-se em consideração a matriz da amostras e a influência dos parâmetros experimentais supracitados [168, 171].

A sensibilidade, limites de detecção e quantificação, precisão, exatidão, interferências espectrais, robustez e faixa analítica são importantes parâmetros avaliados para cada matriz de amostra analisada. O efeito de matriz que pode interferir na análise da mesma é denominado de interferência não espectroscópica. Elas estão associadas às etapas de nebulização, transporte e efeitos energéticos no plasmas causados pela constituição da mesma.

O estudo de robustez do plasma diagnosticado pela razão Mg II 280,270 nm / Mg I 285,213 nm é utilizado para avaliar os parâmetros experimentais ligados a nebulização, transporte e a composição da matriz da amostra para ambas as configurações de ICP OES. A razão para ser considerada ótima deve ser maior ou igual que 8,0 [171].

Neste contexto, foi desenvolvido um método analítico para determinação da composição mineral da farinha de trigo empregando a espectrometria de emissão óptica com plasma de argônio indutivamente acoplado levando em consideração as condições ótimas para maior quantidade de elementos.

6.1.2. Espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado

A espectrometria de massa com fonte de plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) é uma técnica analítica bastante sensível para análise multielementar e isotópica. O instrumento de ICP-MS emprega o plasma indutivamente acoplado (ICP) como fonte de ionização e um analisador do espectrômetro de massa para detectar os íons produzidos [129].

O gás usado no plasma é o argônio, devido a sua capacidade simultânea de excitar e ionizar a maioria dos elementos da tabela periódica, o qual produz a análise multielementar possível. A formação do plasma está condicionada a entradas independentes para cada seção anular do gás em uma série de tubos concêntricos de quartzo que dão forma ao ICP. No processo indutivo, a tocha fica situada no centro de uma bobina de rádiofrequência (RF), através do campo intenso produzido por ela, causando colisões entre os átomos de argônio, gerando o plasma de alta energia, com os elétrons e os íons livres [129, 131].

O aerosol da amostra é aspirado no plasma (aproximadamente 7000K) para formar os átomos dos analitos que são ionizados simultaneamente. Os íons produzidos são extraídos do plasma por um par de orifícios, situado nos cones de amostragem e o *skimmer*, sendo transportados para uma região de vácuo elevado (tipicamente 10^{-3} Pa) na região do espectrômetro de massa. Os íons do analito são focalizados então por uma série de lentes de íons seguindo então para um analisador de massa quadrupolo, que separa os íons baseados na sua relação massa-carga, m/z . Finalmente, os íons são medidos usando um multiplicador de elétron, que gera um sinal através de efeito cascata para cada íon que se choca contra sua superfície [130].

Existem diversos acessórios para a introdução de amostras sólidas, líquidas ou gasosas. Entretanto, a grande maioria das amostras analisadas por ICP-MS é convertida antes para a forma de soluções. Os nebulizadores pneumáticos, os ultra-sônicos ou os vaporizadores eletrotérmicos constituem-se os dispositivos de introdução de amostras mais amplamente empregados [131, 132].

Apesar de suas limitações intrínsecas, os nebulizadores pneumáticos ainda são os acessórios de introdução de amostras mais empregados em análises químicas de rotina por ICP-MS. Isto se deve à simplicidade operacional, rapidez, boa estabilidade na formação do aerossol, baixo custo relativo, baixo efeito de memória, além da compatibilidade com o fluxo de argônio que sustenta o plasma [131].

Em determinações multielementares, os analitos encontram-se distribuídos em um espectro largo de concentrações. Conseqüentemente, os intervalos de concentrações dos elementos nas soluções analíticas multielementares também são amplos, tornando o preparo de soluções uma etapa laboriosa. Esta pode ser substituída por diluidores ou dispensadores automatizados, disponíveis comercialmente.

Entretanto, uma aplicação mais ampla da técnica em rotina analítica de larga escala tem sido limitada por efeitos de matriz. Os sólidos totais dissolvidos podem provocar depósitos sólidos sobre o cone de amostragem e o *skimmer* quando soluções com teores de sólidos totais dissolvidos superiores a 1% - 2% (m/v) são aspiradas continuamente. Como consequência, há uma diminuição da

sensibilidade, levando ainda a efeitos imprevisíveis nas taxas de contagens dos elementos. Quando as análises químicas de matrizes complexas apresentam-se bastante complicadas, recomenda-se o uso da padronização interna, de ajustes das condições operacionais, de recalibrações freqüentes, de técnicas de diluição isotópica ou de adições de analito. Além das interferências não espectrais, devem ser consideradas as interferências espectrais, como as provocadas por espécies poliatômicas ($^{40}\text{Ar}_2^+$, $^{40}\text{ArH}^+$, $^{16}\text{O}_2^+$, $^{16}\text{OH}^+$, $^{14}\text{N}^+$, e outros). Este tipo de interferência pode ser reduzida pela substituição do argônio na formação do plasma por mistura de gases ou mesmo através de correções matemáticas [133].

A técnica de ICP-MS oferece uma ampla detecção dos elementos na tabela periódica, ou seja, grande número dos elementos em níveis de traço e ultratraço podem ser medidos em uma única análise. Pode executar análises qualitativamente, semi-quantitativamente e quantitativamente através da relação m/z. Além de medir razões isotópicas, empregando o analisador de massa. A Versatilidade, dessa técnica pode torna-la uma ferramenta poderosa na sua potencialidade analítica [129,131].

Os Elementos micronutrientes e elementos traço podem ser determinados em alimentos por diferentes técnicas analíticas usuais, tais com FAAS [113], GF AAS [80], espectrometrias de absorção atômica com geração de hidreto (HG AAS) [134] e com vapor a frio (CV AAS) [135], ICP OES [162, 166], ativação neutrônica térmica (TNAA) [136] e a análise de ativação neutrônica instrumental (INAA) [137].

No entanto, a espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado apresenta a capacidade multielementar de análise e com baixos limites de detecção na ordem de nanograma por grama para diversos elementos.

Autores avaliaram a ingestão de elementos traço diário relacionado ao consumo de gêneros alimentícios de habitantes adultos da cidade do Rio de Janeiro usando esta técnica. Concentrações de Al, Cd, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb, U e Zn foram determinados em vegetais, derivados e amostras de carnes freqüentemente consumidas na referida cidade. O total de 90 amostras foi analisado por ICP-MS [138].

Amostras de vinhos ingleses e espanhóis foram analisadas por ICP-MS, priorizando a determinação da sua composição de elementos traços para avaliar

a sua autenticidade através pela análise multivariada de dados. O total de 112 vinhos foi analisado com observação de 48 elementos traço [139].

Sperková e Suchanek analisaram 43 amostras de vinhos, classificando-as de acordo com a sua região da Bohemia na República Czech, Europa Central, usando PCA e DA. A determinação dos elementos foi por ICP-MS e ICP OES para os 27 elementos. A identificação original das amostras foi avaliadas pelas concentrações de Al, Ba, Ca, Co., K, Li, Mg, Mo, Rb, Sr, V e a razão entre Sr/Ba, Sr/Ca e Sr/Mg [162].

6.2. Quimiometria

O avanço da instrumentação e automação dentro dos laboratórios de análises trouxe consigo a possibilidade de geração de forma rápida de uma enorme quantidade de dados. A classificação e interpretação dessa gama de dados podem ser fatores limitantes nas análises, principalmente sem a utilização de um tratamento adequado. Para descrever as técnicas e operações associadas aos tratamentos matemáticos, estatísticos e à interpretação dos dados químicos foi proposto no final da década de 1970 o uso do termo Quimiometria.

Desenvolve-se assim a Quimiometria, segundo Massart, como “uma disciplina Química que utiliza a Matemática, a Estatística e a lógica formal para traçar ou selecionar procedimentos experimentais ótimos, proporcionar a máxima informação química relevante a partir da análise dos dados químicos, e conseguir conhecimento a partir dos sistemas químicos”. Dessa forma, ela permite realizar a investigação de uma análise química, com dados confiáveis em um número reduzido de experimentos.

Desde a década de 1970, evoluindo até os dias de hoje, muitas técnicas quimiométricas se encontram incorporadas em programas computacionais diretos nas instrumentações químicas aplicadas às necessidades dos laboratórios químicos. Além de dispor de revistas especializadas na investigação Quimiométrica, como *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* (1986) [140] e o *Journal of Chemometrics* (1987) [141].

Diferentes métodos são englobados pela quimiometria, tais como a otimização de experimentos; otimização e validação de métodos analíticos; planejamentos de experimentos; ajuste de curva, processamentos de sinais; análise de fatores e análise multivariada [142,143, 144,145].

6.2.1. Análise multivariada

A área da química analítica vem utilizando cada vez mais os métodos quimiométricos para desenvolver e avaliar métodos analíticos, assim como os seus resultados. Entre os mais utilizados, está a análise multivariada, por sua versatilidade de permitir análises não destrutivas dos dados e estimar parâmetros para classificá-los.

Os dados multivariados são, em geral, organizados em matrizes através de vetores em linhas e colunas, para facilitar a sua manipulação. Logo, as técnicas de processamento procedem para o processo propriamente dito dos dados, possibilitando sua aplicação, melhorando os resultados ou evitando conclusões incorretas e absurdas. Assim, a primeira etapa do tratamento multivariado é a padronização dos dados, ou seja, após a ela as variáveis terá igual grau de relevância [151, 154].

A análise desses dados pode empregar técnicas multivariadas de dados divididas como método supervisionado e métodos não supervisionados [146, 147].

O método supervisionado pode ser definido como aquele no qual uma variável ou conjunto de variáveis são modelados como a variável dependente a ser predita ou explicada por outras variáveis conhecidas como independentes. A análise de regressão múltipla, análise de correspondência múltipla e análise discriminante são exemplos da técnica supracitada.

Em contrapartida, o método não supervisionado é aquele no qual nenhuma variável ou grupo de variáveis é definida como independente ou dependente, sendo que a análise pode ser feita simultaneamente entre todas as variáveis do conjunto. Técnicas multivariadas como a análise fatorial, análise de agrupamento, análise de correlação canônica e análise de componentes principais são exemplos de técnicas interdependentes.

6.2.1.1. Análise de agrupamento

A técnica de análise de agrupamento hierárquico (do inglês *cluster analysis hierarchical – HCA*) é um procedimento de modelagem da independência das variáveis que consiste em reconhecer entre elas um grau de similaridade suficiente para reuni-las num mesmo conjunto. Dependendo dos requisitos como os dados são formados, os resultados podem ordenar conjuntos hierárquicos e não hierárquicos. Muitos exemplos utilizam a medida da similaridade, que, entre esses dados é baseada na distância euclidiana quadrada.

As etapas de uma análise por agrupamento são as seguintes:

1 – coleta dos dados, que serão reunidos numa tabela com p colunas (descritores) e n linhas (amostras);

2 – escolha do modo de análise: modo Q (agrupamento de amostras) ou modo R (agrupamentos de descritores), de acordo com o objetivo do trabalho;

3 – escolha do coeficiente de associação (similaridade, distância, dependência);

4 – escolha do método de agrupamento: (1) ligação simples (*single link*), (2) ligação completa (*complete link*), (3) ligação média (*average link*), e ligação centróide (*centroid linkage*) (4) método Ward (*Ward's method*) (5);

5 – elaboração e interpretação do dendrograma.

Das etapas, a escolha do método de agrupamento é a mais crítica em relação à escolha do coeficiente de associação. A inserção de uma amostra dentro de um ou outro grupo já formado dependerá da classificação conforme o método de agrupamento escolhido [148, 151, 154].

6.2.1.2. Análise de componentes principais

Entre os métodos quimiométricos mais utilizados para classificação exploratória de dados multivariados, está a análise de componentes principais (*Principal Component Analysis - PCA*). Esta, por sua vez, é uma técnica de análise multivariada de dados utilizada para redução de multidimensões, baseada na projeção linear do espaço original das variáveis X 's, que possui m dimensões

em um sub-espço de k dimensões ($k < m$), sendo possível serem representadas em gráficos de baixa dimensionalidade, normalmente bi ou tridimensionais [147, 149, 150].

Assim, a correlação entre as variáveis originais agrupa aquelas que são mais correlacionadas dão uma nova variável denominada de componente principal (*principal component* - PC). As novas variáveis representadas agora pelas PC's são mais informativas e em menor número do que os descritores originais.

Através da combinação das propriedades lineares dos descritores originais e por estarem mutuamente ortogonais, as componentes principais são definidas em ordem decrescente a partir da quantidade de variância que são capazes de explicar. Ou seja, a informação contida numa componente principal não está presente em outra, e a variância que elas descrevem é uma medida da quantidade de informação que as mesmas contêm [149, 150]. As relações entre os compostos não são alteradas nessa transformação. Como os novos eixos são ordenados por sua importância - a ordem de variância citada acima - pode-se visualizar a estrutura do conjunto de dados em gráficos de baixa dimensionalidade, como por exemplo, PC1 versus PC2, PC1 versus PC3, etc.

6.2.1.2.1. Descrição matemática das componentes principais

Matematicamente, a matriz de dados \mathbf{X} , produto de duas matrizes menores - uma de escores (score) \mathbf{T} e a outra de pesos (*loading*), \mathbf{L}^T conforme a **Equação 1**:

$$\mathbf{X} = \mathbf{T} \cdot \mathbf{L}^T \quad \text{Equação 1}$$

representada pela **Figura 6.1**, em que \mathbf{X} é a matriz de dados originais constituídos por n linhas (objetos) e p colunas (variáveis); \mathbf{T} é a matriz de escores com n linhas e d colunas (número de PC's); \mathbf{L}^T é a matriz de pesos (*loading*) com d colunas e p linhas. Nesse contexto, os escores são as novas coordenadas de cada objeto no novo sistema de eixos, e a informação de quanto cada descritor

original contribui está contida nos pesos. Os escores \mathbf{T} expressam as relações entre os objetos, enquanto os pesos \mathbf{L}^T mostram as relações entre as variáveis. As colunas em \mathbf{T} são vetores de escores e as linhas em \mathbf{p} são chamados de vetores de pesos. Ambos vetores são ortogonais, i. e., $\mathbf{p}_i^T \mathbf{p}_j = 0$ e $\mathbf{t}_i^T \mathbf{t}_j = 0$, para $i \neq j$ [144, 142, 151, 152].

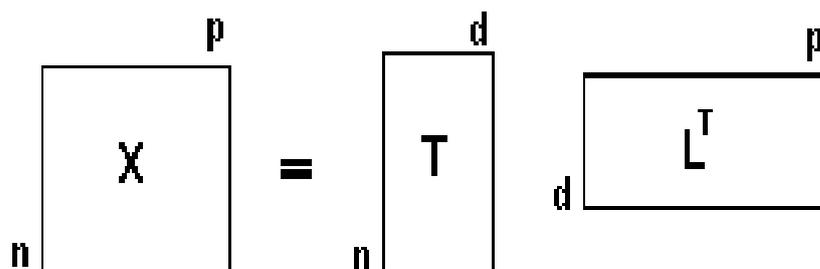


Figura 6.1. A matriz original (\mathbf{X}) de tamanho $n * p$ é decomposta em duas matrizes reduzidas de tamanho $n * d$ e $d * p$, sendo mais fácil de interpretar, compreender e conter toda informação relevante. Fonte [143]

No processo de seleção de variáveis, a PCA identifica agrupamentos de descritores, proporcionando um entendimento de como eles estão correlacionados e o quanto de informação eles contêm. Este é o fundamento de seu uso na seleção das variáveis. No entanto, freqüentemente o número de descritores originais selecionados é maior que o desejado. Embora isso não constitua problema do ponto de vista matemático, corre-se o risco de tornar a interpretação difícil ou mesmo impossível para o problema ao qual o PCA esteja sendo aplicado. Portanto, deve haver equilíbrio entre o aspecto matemático e a possibilidade das correlações encontradas poderem ser explicadas através de hipóteses. Os resultados da análise de componentes principais costumam ser visualizado em gráfico bi ou tridimensional, facilitando a identificação de agrupamentos.

Com isso, os pesos de um gráfico contêm informações referentes às variáveis e são usados para determinar quais delas são mais importantes para descrever a variação dos dados originais. Já os escores de um mesmo gráfico contêm informação sobre os compostos, tornando visíveis os agrupamentos, similaridades e as diferenças entre os mesmos, baseando-se nas variáveis

utilizadas. Portanto, é importante a análise em conjunto, tanto dos pesos como dos escores [150, 153, 154].

6.3. Aplicações da análise exploratória de dados na Química Analítica

A Química, com a complexidade dos resultados gerados pela crescente sofisticação das técnicas instrumentais, impulsionadas pela facilidade de manipulação de microprocessadores e microcomputadores nas suas atividades científicas e tecnológicas, vem utilizando a Quimiometria para desenvolver e avaliar métodos analíticos, assim como os seus resultados [142, 144].

Segundo Sena e colaboradores, ao findar da década de 1990, os métodos quimiométricos apresentaram uma enorme potencialidade no tratamento de dados, gerando grande avanço tecnológico nas análises químicas, como por exemplo, em contaminações orgânicas (pesticidas) e inorgânicas (metais pesados) de solos através das técnicas instrumentais [153].

Atualmente, a Química Analítica, vem acompanhando todo desenvolvimento tecnológico através das suas técnicas instrumentais (espectroscópicas e cromatográficas), cada vez mais eficientes e precisas nas determinações, aplicando os seus resultados as técnicas de análise exploratórias de dados, como PCA e a HCA, para indicar tendências.

Uma aplicação muito interessante desses métodos quimiométricos está voltada à veracidade dos produtos comercializados [155]. Combustíveis, bebidas e gêneros alimentícios são visados de adulterações. Assim, a autenticidade do produto comercializado é um assunto importante de nível econômico e social que envolve os setores de produção e os consumidores. Ela garante as características e a qualidade original do produto ajudando a prevenir possível adulteração destes para a comercialização. A técnica de análise exploratória de dados é uma ferramenta usada para agrupar produtos autênticos, distinguindo-os dos adulterados ou descobrir tendência que possa diferenciá-los.

Pereira e colaboradores desenvolveram um método analítico de baixo custo para certificar e autenticar a qualidade dos combustíveis usados no Brasil.

A espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) combinada às técnicas multivariadas (análise de componentes principais e análise discriminante linear) foram usadas para determinar a adulteração e identificar o solvente (thinner, nafta pesada, querosene e nafta leve) adicionado na gasolina. A sensibilidade do método foi 8% (v/v) do solvente adicionado à gasolina com eficiência de 96% na classificação de adulterado e não adulterado e a eficiência de 93% na identificação do tipo de solvente [156].

Outra aplicação crescente das técnicas exploratórias de dados junto às técnicas instrumentais analíticas está voltada à classificação da origem e de fatores que influenciam a contaminação de solos [157, 158], poluição de sedimentos [159], composição química de vários gêneros alimentícios como: cereal [160, 161], mel [17,166], vinhos [162], cachaça e rum [163] e outros [164, 165]

Fernandez-Torres [17] e Terrab e seus colaboradores [166], empregaram a espectrometria de emissão ótica com plasma indutivamente para detecção simultânea de elementos em amostras de méis espanhóis e avaliaram os dados aplicando PCA e HCA, observando tendências e agrupamentos de acordo a sua origem botânica e geográfica, respectivamente. A partir das análises exploratórias, cada trabalho pode utilizar-se de ferramentas mais específicas para a classificação das origens das amostras de méis.

Sperkova e Suchanek determinaram 27 elementos químicos empregando ICP OES e ICP-MS em 53 amostras de vinhos de diferentes regiões boêmias, desde elementos, 12 metais e a relação entre 3 deles obtiveram bons resultados, contribuindo para a identificação dos vinhos. Tal estudo envolveu PCA para identificar grupos de metais presentes em determinadas regiões, pois o conteúdo dos elementos dos vinhos é influenciado por vários fatores, como solo, fertilizantes e praticamente todas as condições de processamento. Entretanto, traço de alguns elementos são característicos da região de Bohemia da República Czech (Europa Central), sendo um bom determinante para a classificação origem do vinho através do método supervisionado da análise discriminante – *Discriminant analysis* (DA) [162].

Andersson e colaboradores utilizaram PCA para demonstrar a variabilidade natural da composição química de 49 amostras de farinha de trigo,

através da determinação de proteínas, polissacarídeos solúveis e insolúveis e amido durante o inverno e a primavera de dois anos consecutivos (1987 e 1988), na Suécia. O estudo relevou maior quantidade de polissacarídeos solúveis na farinha de trigo durante o inverno de 1987 [16].

Cabe ressaltar que a análise de componentes principais tem como finalidade a redução em k -dimensões sub-espaciais em p -variáveis originais, para observar tendências dos dados correlacionados. Por outro lado, a análise de agrupamento hierárquico consegue formar conjuntos através da similaridade entre os dados, formando, com isso, novos grupos a partir desse critério. Sendo assim, essas duas técnicas exploratórias de dados se completam, possibilitando a aplicação de uma análise classificatória mais aprofundada (métodos supervisionados).

CAPÍTULO 7

Determinação da composição mineral da farinha de trigo de cidades brasileiras empregando ICP OES e caracterização por técnicas exploratórias de dados

7.1. Equipamentos e materiais utilizados

7.1.1. Instrumentos

- ✓ Um Espectrômetro de emissão óptica com plasma de argônio indutivamente acoplado simultâneo com arranjo axial e detector de estado sólido (VARIAN, Milgrave, Austrália);
- ✓ Um sistema de purificação de água Millipore (Bedford, MA, EUA)
- ✓ Uma placa de aquecimento.

7.1.2. Preparo das soluções

7.1.2.1. Solução multielementar de cobre, ferro, manganês e zinco

Mediu-se quantidades apropriadas em pipetas volumétricas de soluções de $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ (Merck) de cobre, ferro, manganês e zinco e diluiu-se a 100 mL com água ultrapura para preparo de uma solução multielementar de $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ de cobre, $50,0 \text{ mg L}^{-1}$ de ferro, $10,0 \text{ mg L}^{-1}$ de manganês e $10,0 \text{ mg L}^{-1}$ de zinco. A solução multielementar foi utilizada para o preparo da curva analítica multielementar em balão volumétrica de 10,0 mL.

7.1.2.2. Solução de cálcio, magnésio e potássio

Mediu-se quantidades apropriadas em micropipetas volumétricas de 1000 μL de soluções de 1000 mg L^{-1} (Merck) de cálcio, magnésio e potássio e diluiu-se para 10 mL com ácido nítrico 3,0 mol L^{-1} para preparo da solução multielementar padrão da curva analítica.

7.1.2.3. Solução de fósforo

Mediu-se quantidades apropriadas em micropipetas volumétricas de 10 mL da solução de 1000 mg L^{-1} de fosfato (Merck) e diluiu-se a 10 mL com com ácido nítrico 3,0 mol L^{-1} para preparo das diferentes soluções multielementar padrão da curva analítica.

7.1.2.4. Solução de ácido nítrico

Mediu-se a quantidade de 209 mL em proveta graduada de uma solução de ácido nítrico P.A. (Merck) 65% e diluiu-se a 1000 mL com água ultrapura para preparo da solução de ácido nítrico 3,0 mol L^{-1} .

7.2. Amostras

7.2.1. Material de referência certificado

Foi utilizado um material de referência certificado para confirmar a exatidão:

- Material de referência certificado de farinha de trigo NIST 1567a fornecido pelo National Institute of Standards and Technology (Gaithersburg, MD, E.U.A.);

7.2.2. Coleta e identificação das amostras de farinha de trigo

Foram coletadas 53 amostras de farinha de trigo em supermercados das cidades de Salvador (BA), Feira de Santana (BA), Jequié (BA), Belém (PA), Macapá (AM), Fortaleza (CE), Recife (PE), Aracaju (SE), Rio de Janeiro (RJ), Niterói, (RJ), São Paulo (SP), Poços de Caldas (MG), Brasília (DF), Porto Alegre (RS), Natal (RN), e Florianópolis (SC), e uma amostra a granel da cidade de São Bento (PB) no período de 01/05/2005 a 13/02/2006, totalizando 54 amostras. As amostras foram identificadas conforme a sua cidade de coleta, como mostra a

Tabela 7.1.

Tabela 7.1: Siglas das amostras conforme a sua cidade de coleta

Cidade de coleta (Estado)	Sigla da amostra
Aracaju – SE	AJU
Brasília – DF	BSB
Feira de Santana - BA	FSA
Florianópolis - SC	PLP
Fortaleza – CE	FTZ
Jequié – BA	JEQ
Macapá – AM	MCP
Natal – RN	RGN
Niterói – RJ	NIT
Poços de Caldas – MG	PDC
Porto Alegre – RS	POA
Recife – PE	REC
Rio de Janeiro – RJ	RIO
Salvador – BA	SSA
São Bento - PB	PAB
São Paulo - SP	SSP

7.2.3. Dissolução ácida das amostras de farinha de trigo

Aproximadamente $0,5000 \pm 0,0001$ g da amostra (triplicata) de farinha de trigo foram transferidas para béqueres de 80 mL, sendo digeridos com auxílio de 10,0 mL da solução ácido nítrico concentrado 65% (v/v) e 0,5 mL da solução peróxido de hidrogênio 30% (v/v). O aquecimento foi feito em placa aquecedora até a dissolução completa do material orgânico por 3 horas e uma temperatura de aproximadamente de 120 °C. O volume da solução do digerido foi reduzido aproximadamente 1,0 - 2,0 mL. Finalmente, a solução foi transferida para um balão volumétrico de 10,0 mL e aferida com água ultrapura. A solução branco foi prepara nas mesmas condições experimentais das amostras e subtraída dos sinais das amostras de farinha de trigo e utilizada para calcular o limite de detecção (LD) e de quantificação (LQ) do método. A determinação simultânea das concentrações de cálcio, cobre, ferro, potássio, magnésio, manganês, fósforo e zinco foi feita empregando o espectrômetro de emissão óptica com plasma de argônio indutivamente acoplado (ICP OES) com configuração axial.

7.3. Figuras de mérito

7.3.1. Concentração equivalente ao sinal de fundo, limite de detecção e limite de quantificação

Conforme os parâmetros operacionais para ICP OES foram obtidas as seguintes características analíticas para o método proposto para análise da farinha de trigo: a razão entre a intensidade do sinal líquido e do sinal de fundo (SBR), a concentração equivalente ao sinal de fundo (BEC), os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ), calculados de acordo com as **Equações 7.1, 7.2, 7.3, 7.4 e 7.5** [167].

$$BEC = I_{branco} / m \quad \text{Equação 7.1}$$

a **Equação 7.1** também pode ser escrita como

$$BEC = C_{analito} / SBR \quad \text{Equação 7.2}$$

em que,

m - coeficiente angular da curva analítica;

I_{branco} – intensidade do branco;

$C_{analito}$ – concentração do analito;

SBR – razão sinal analito / sinal de fundo

Assim,

$$SBR = \frac{(I_{analítico} - I_{branco})}{I_{branco}} \quad \text{Equação 7.3}$$

tem-se que

$I_{analítico}$ – intensidade do sinal analítico;

I_{branco} – intensidade do sinal do branco.

O LD e o LQ foram calculados conforme as **Equações 7.4 e 7.5**, respectivamente [168],

$$LD = 3 \times RSD \times BEC \quad \text{Equação 7.4}$$

$$LQ = 10 \times RSD \times BEC \quad \text{Equação 7.5}$$

sendo que,

RSD_{branco} – desvio padrão relativo da solução branco (n=10).

7.4. Análise multivariada dos dados

7.4.1. Análise de componentes principais

Usando a composição química determinada na análise das 54 amostras de farinha de trigo de diferentes localidades brasileiras, foi construída a matriz da análise de componentes principais (*Principal Component Analysis* - PCA) partir das 8 variáveis, descritas pelas concentrações dos elementos químicos Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, P e Zn e os nomes das diversas localidades brasileiras representando as linhas. Essa técnica exploratória foi utilizada para redução das dimensões das informações obtidas, isto é, projetar sub-espacos de m -dimensões em p -variáveis originais ($p > m$). Empregou-se o autoescalamento. O programa STATISTICA versão 6.05 (2001) para Windows foi utilizado em todos os cálculos quimiométricos e figuras.

7.4.2 Análise de agrupamento

A matriz de dados para a análise de agrupamento hierárquico (*Hierarchical Cluster Analysis* – HCA) foi construída usando as concentrações dos elementos como variáveis nas colunas e as 54 amostras de farinha de trigo como linhas. A distância Euclidiana foi aplicada como critério de similaridade entre as amostras e o método aglomerativo de ligação simples para agrupamento das amostras. Empregou-se o autoescalamento. O programa STATISTICA versão 6.05 (2001) para Windows foi utilizando em todos os cálculos quimiométricos e dendograma.

7.5. Resultados e discussão

7.5.1. Otimização das condições experimentais para determinação de elementos em farinha de trigo usando ICP OES.

7.5.1.1. Dissolução da amostra

Foram otimizadas as condições de dissolução da amostra de farinha de trigo, de modo a se obter a digestão da maior quantidade massa possível usando aquecimento em placa. O volume final da solução digerida foi de 1,0 - 2,0 mL transferida para balão volumétrico de 10 mL e aferido com água ultra pura. A concentração ácida da solução digerida foi de 3,0 mol L⁻¹. Foram testadas as seguintes sugestões apresentadas na **Tabela 7.2**, com os seus respectivos resultados:

Tabela 7.2: Condições para dissolução da amostra de farinha de trigo usando digestão ácida utilizando placa de aquecimento (n = 2).

Massa de farinha de trigo (g)	Volume de peróxido de hidrogênio (mL)	Volume de ácido nítrico concentrado (mL)	Resultado
0,5	0,5	5,0	Dissolução parcial
0,5	0,5	10,0	Dissolução total
1,0	1,0	10,0	Dissolução parcial
2,0	1,0	20,0	Dissolução parcial

A melhor situação observada na **Tabela 7.2** foi utilizando a massa de 0,5 g de farinha de trigo para um volume de 10,0 mL de ácido nítrico concentrado e 0,5 mL de peróxido de hidrogênio. Após essa etapa, foi avaliada a composição da farinha de trigo de marcas diferentes, através dos seguintes elementos químicos: cádmio, chumbo, níquel, alumínio, cobalto, cálcio, potássio, magnésio, manganês, zinco, fósforo, cobre, ferro, vanádio, estanho, selênio, molibdênio, sódio e cromo. Destes, somente cálcio, cobre, ferro, potássio, magnésio, zinco, fósforo e manganês puderam ser determinados a partir do método de dissolução

proposto, pois os demais apresentam baixa sensibilidade para a técnica de ICP OES.

7.5.1.2. Otimização dos parâmetros experimentais de operação do ICP OES

Mermet [169] expressa a robustez do plasma e a performance analítica como a transferência de energia, o tempo de residência e resposta do plasma referente à mudança de atomização das condições de excitação promovido pela composição química da solução aspirada. A otimização dos parâmetros experimentais do ICP OES, vazão de nebulização e potência da radio-frequência (RF), foi realizada através da razão das medidas das linhas Mg I 280,270 nm / Mg II 285,213 nm para obter as condições de operação do equipamento durante a aspiração da solução multielementar usada como calibração padrão e da matriz da amostra.

Para otimizar os parâmetros operacionais experimentais foram preparadas quatro soluções. As duas primeiras são referentes à amostra de farinha de trigo digerida pelo procedimento proposto e seu branco. As outras duas subsequentes se referem à solução multielementar preparada em 3,0 mol L⁻¹ de ácido nítrico com os seguintes elementos e suas respectivas concentrações com a finalidade de simular a matriz da amostra digerida: Ca (10,0 mg L⁻¹), Cu (0,5 mg L⁻¹), Fe (5,0 mg L⁻¹), Mg (18 mg L⁻¹), K (60,0 mg L⁻¹), Mn (0,5 mg L⁻¹), P (60,0 mg L⁻¹) e Zn (0,5 mg L⁻¹) e o seu branco. Nas soluções das amostras digeridas não foram necessária adicionar magnésio, uma vez que este elemento já está presente na composição da matriz .

As soluções foram analisadas em diferentes potências (de 1,0 a 1,4 kW) e vazões de nebulização (de 0,60 a 0,90 L min⁻¹) de forma univariada. Dennaud e colaboradores estabeleceram a correção 1,8 nas razões Mg I 280,270 nm / Mg II 285,213 nm obtidas na grade Echelle e o detector de estado sólido [170]. Os resultados das razões obtidas estão apresentados na **Tabela 7.3** . Conforme Brenner e Zander [171], as condições ótimas ou robustas de operação do ICP OES são aquelas na qual o valor da razão seja ≥ 8 .

Após análise da **Tabela 7.3** juntamente com as **Figura 7.1** e **Figura 7.2**, obtêm-se um intervalo no qual as condições robustas prevaleçam tanto para a solução com padrão multielementar de Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, P e Zn em meio de ácido nítrico 2 mol L⁻¹ como para a solução contendo a amostra digerida com as variáveis estudadas: vazões de nebulização de 0,70 e 0,75 L min⁻¹ com potência RF variando de 1,1 a 1,4 kW e vazão de nebulização de 0,80 L min⁻¹ com potência RF variando de 1,2 a 1,4 kW. As condições selecionadas para os estudos subsequentes foram: potência da RF 1,3 kW e vazão de nebulização de 0,7 L min⁻¹, que resultaram em razões Mg I 280,270 nm / Mg II 285,213 nm de 9,1 e 10,3; para a solução padrão multielementar e a solução da amostra digerida, respectivamente. Os parâmetros operacionais após estudo estão dispostos na **Tabela 7.4**.

Tabela 7.3: Razões Mg II 280,270 nm / Mg I 285,213 nm

Vazão (L min ⁻¹)	Potência (kW)	Razão Mg I / Mg II	
		Solução ácida multielementar	Amostra
0,60	1,0	6,4	6,9
0,60	1,1	6,6	7,2
0,60	1,2	7,2	7,7
0,60	1,3	7,6	8,1
0,60	1,4	7,9	8,3
0,70	1,0	7,8	8,9
0,70	1,1	8,2	9,4
0,70	1,2	8,8	10,0
0,70	1,3	9,1	10,4
0,70	1,4	9,5	10,7
0,75	1,0	7,6	8,8
0,75	1,1	8,2	9,5
0,75	1,2	8,6	9,9
0,75	1,3	9,0	10,3
0,75	1,4	9,5	10,7
0,80	1,0	7,1	8,1
0,80	1,1	7,9	9,0
0,80	1,2	8,3	9,6
0,80	1,3	8,8	10,0
0,80	1,4	9,4	10,6
0,90	1,0	5,7	6,5
0,90	1,1	6,4	7,3
0,90	1,2	7,0	8,1
0,90	1,3	7,6	8,8
0,90	1,4	8,4	9,6

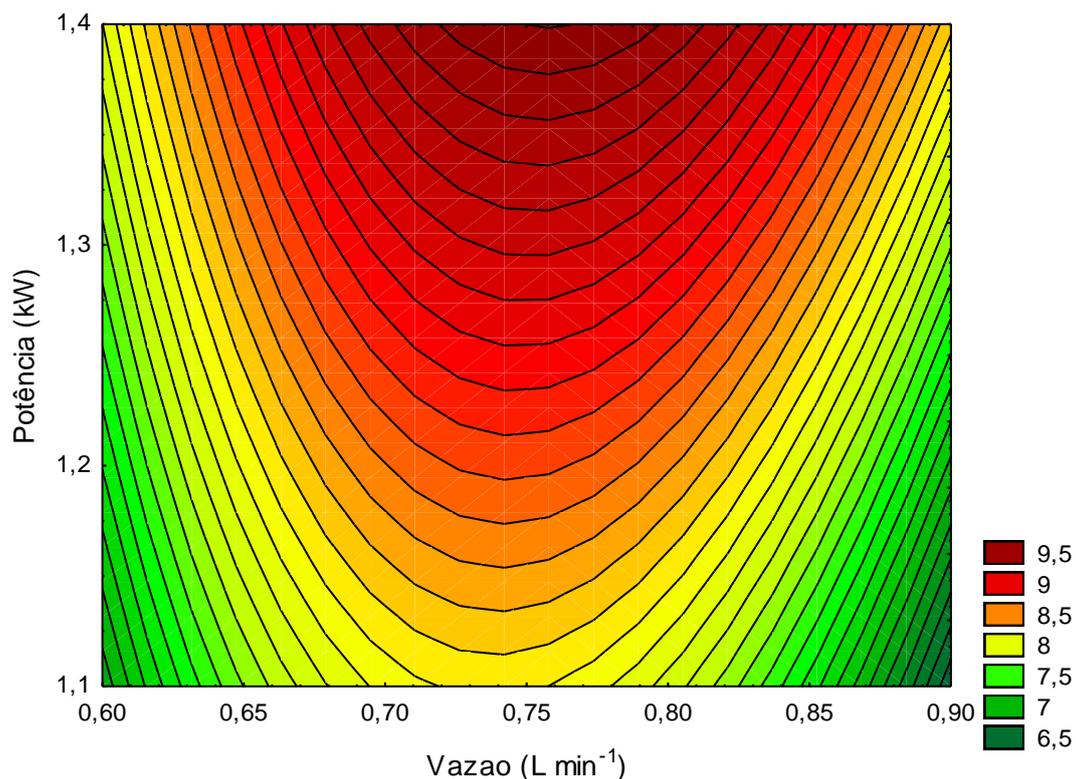


Figura 7.1. Razão Mg I/Mg II solução multielementar de Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, P e Zn em meio de ácido nítrico 2 mol L⁻¹

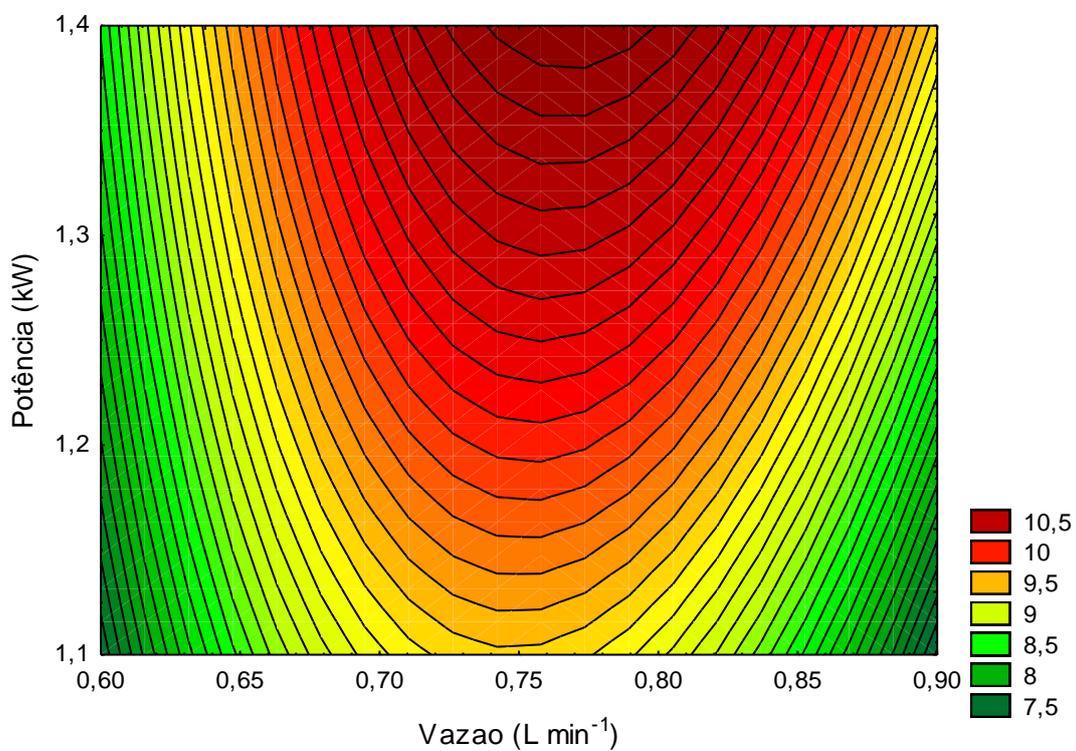


Figura 7.2. Razão Mg I / Mg II para a amostra de farinha de trigo

Tabela 7.4: Parâmetros operacionais do ICP OES:

Parâmetro	Valor
Potência da rádio frequência	1,3 Kw
Rádio frequência	40,00 MHz
Pressão de nebulização	200 KPa
Fluxo do argônio auxiliar	1,5 L min ⁻¹
Fluxo do argônio principal	15 L min ⁻¹
Tempo de integração	1,0 s
Tempo de estabilização	15 s
Tempo de leitura	1 min
Replicatas	3
Nebulizador pneumático	Sea Spray
Câmara de Nebulização	Ciclônica

7.5.1.2.1. Seleção das linhas de emissão

As linhas espectrais e suas respectivas faixas de trabalho estudadas para análise da farinha de trigo estão apresentadas na **Tabela 7.5**.

Tabela 7.5: Linhas de emissões e suas respectivas faixas de trabalho:

Elementos	Faixa de trabalho (mg L⁻¹) (n=6)	Linhas de emissões (nm)	
Cálcio	6,00 – 20,00	317,933 (II)	422,673 (I)
Cobre	0,04 – 0,20	324,754 (I)	327,395 (I)
Ferro	0,90 – 3,00	238,209 (II)	259,940 (II)
Potássio	20,00 – 100,00	766,467 (I)	769,897 (I)
Magnésio	7,00 – 20,00	279,553 (II)	285,213 (I)
Manganês	0,20 – 1,00	257,610 (II)	259,372 (II)
Fósforo	20,00 – 100,00	177,434 (I)	213,613 (I)
Zinco	0,20 – 1,00	202,548 (II)	213,857 (I)

(I) Linha atômica / (II) Linha Iônica

7.7.2.1.2 Estudo do efeito de matriz na farinha de trigo

Na **Tabela 7.6** estão apresentadas as inclinações das equações da calibração de padrões preparada em $3,0 \text{ mol L}^{-1}$ de HNO_3 e técnica de adição de analito conforme método proposto para análise de farinha de trigo, com adição dos padrões da calibração para duas linhas de emissão de cada elemento (cálcio, cobre ferro, potássio, magnésio, manganês, fósforo e zinco).

Os efeitos de matriz estão ligados às etapas de nebulização, transporte e efeitos energéticos no plasma, caracterizando-as como interferências não espectrais. Assim, durante a determinação dos elementos na matriz de farinha de trigo, tanto os analitos na solução de calibração padrão como os mesmos na amostra devem se encontrar nas mesmas circunstâncias experimentais. Caso isso esteja acontecendo, a concentração desses analitos na análise da farinha de trigo pode ser determinada usando a técnica de calibração padrão.

Segundo Montaser e Golightly, os efeitos da mudança das propriedades físicas da solução da amostra afetam na sensibilidade relativa para o analito, quando que as diferentes concentrações da solução dos ácidos minerais são usadas, em especial, ácido sulfúrico e fosfórico, ocasionando grandes mudanças na densidade e na viscosidade nas soluções. Para resolver esse problema, a solução da amostra e das soluções dos padrões da curva de calibração, podem ser ajustadas a uma concentração similares, em que às propriedades físicas do solvente (a densidade, viscosidade e tensão superficial), apresente condição de compromisso para ambas situações. [168].

Sob circunstâncias robustas e não robustas, Stefan e colaboradores estudaram o efeito de matriz e a eficiência da padronização interna em um ICP OES com configuração axial para Ca e Na numa concentração de até $10,0 \text{ g L}^{-1}$, além do efeito da concentração de até 20 % (v/v) HNO_3 para um grande número de elementos com linhas atômicas na escala da energia da excitação 2,9 - 7,8 eV e linhas iônicas, variando a soma da energia de 7,7 - 16,5 eV. O estudo demonstrou uma depressão na sensibilidade mesmo em condições robustas. Este efeito depressivo foi atribuído principalmente ao fenômeno de transporte do aerossol, dependendo da concentração do elemento e do ácido estudado. Em relação à concentração de ácido nítrico 20% (v/v) em condições robustas, os

autores mostram que a razão obtida entre a solução com ácido e sem ácido foi de 61 – 91% para as linhas atômicas e de 77 – 87 % para as linhas iônicas. O estudo da concentração do ácido estendeu-se para 2 e 10 %, em que se observou a variação da razão dependendo da concentração. Efeito similar foi encontrado também para 1,0 g L⁻¹ de Na e Ca, sendo menos drástico que o efeito da concentração do ácido. Stefan e colaboradores sugeriram o uso da padronização interna para compensar o efeito de matriz para as linhas iônicas. Outros autores também estudaram o efeito de matriz relacionado à concentração de K, Ca e Mg [172], Na [173] e do ácido [174] para linhas iônicas, chegando às mesmas conclusões.

Assim, as inclinações das equações das curvas analíticas obtidas através da calibração de padrões e da técnica de adição de analito foram comparadas. Analisando a **Tabela 7.6**, as linhas (II) 317,933 nm para cálcio; (I) 324,754 e (I) 327,395 nm para cobre; (II) 238,209 nm e (II) 259,940 nm para ferro; (I) 177,434 nm e (I) 213,613 nm para fósforo; (II) 257,610 nm e (II) 259,372 nm para manganês; (II) 202,548 nm para zinco foram as linhas que apresentaram a maior proximidade unitária entre a razão dos valores das inclinações nas respectivas equações. No entanto, para as linhas, Ca (I) 422,673 nm, Zn (I) 213,857 nm e as duas linhas selecionadas para os elementos potássio (I) 766,467 nm e (I) 769,897 nm) e magnésio (II) 279,553 nm e (I) 285,213 nm, as suas equações mostraram razões menores do que o valor unitário (0,56 – 0,88) entre as duas técnicas de calibração.

Tabela 7.6. Comparação entre equações das técnicas de calibrações analíticas para Ca, Cu, Fe, Mg, K, Mn, P e Zn.

Linha	Meio*	Equação	Razão**	R
Ca 317,933 nm (II)	A. A.	$I = 10360C_{Ca} + 75317$	0,93	0,9991
	S. A.	$I = 11138C_{Ca} + 3231,9$		0,9996
Ca 422,673 nm (I)	A. A.	$I = 7236,6C_{Ca} + 45451$	0,86	0,9991
	S. A.	$I = 8416,6C_{Ca} - 164,25$		0,9998
Cu 324,754 nm (I)	A. A.	$I = 14993C_{Cu} + 1668,2$	0,99	0,9986
	S. A.	$I = 15221C_{Cu} + 238,37$		0,9992
Cu 327,395 nm (I)	A. A.	$I = 1836,4C_{Cu} + 236,79$	0,91	0,9951
	S. A.	$I = 2018,6C_{Cu} + 43,588$		0,9975
Fe 238,204 nm (II)	A. A.	$I = 39807C_{Fe} + 40317$	0,97	0,9986
	S. A.	$I = 41206C_{Fe} + 1838,7$		0,9998
Fe 259,940 nm (II)	A. A.	$I = 18268C_{Fe} + 18958$	0,97	0,9988
	S. A.	$I = 18847C_{Fe} + 684,24$		0,9998
K 766,467 nm (I)	A. A.	$I = 12053C_K + 704986$	0,76	0,9979
	S. A.	$I = 15868C_K + 24254$		0,9993
K 769,897 nm (I)	A. A.	$I = 6098,5C_K + 329748$	0,82	0,9978
	S. A.	$I = 7422,0C_K + 23507$		0,9999
Mg 279,553 nm (II)	A. A.	$I = 119819C_{Mg} + 300000$	0,58	0,9966
	S. A.	$I = 206615C_{Mg} + 78249$		0,9971
Mg 285,213 nm (I)	A. A.	$I = 11450C_{Mg} + 174939$	0,86	0,9987
	S. A.	$I = 13290C_{Mg} + 5744,5$		0,9990
Mn 257,610 nm (II)	A. A.	$I = 82619C_{Mn} + 44309$	0,92	0,9996
	S. A.	$I = 89555C_{Mn} + 1351,1$		0,9995
Mn 259,372 nm (II)	A. A.	$I = 473105C_{Mn} + 25099$	0,93	0,9988
	S. A.	$I = 50707C_{Mn} + 773,33$		0,9995
P 177,434 nm (I)	A. A.	$I = 473,8C_P + 30278$	0,95	0,9984
	S. A.	$I = 501,15C_P + 249,3$		0,9999
P 213,618 nm (I)	A. A.	$I = 1427,6C_P + 80875$	0,95	0,9993
	S. A.	$I = 1499,9C_P + 128,66$		0,9999
Zn 202,548 nm (II)	A. A.	$I = 38365C_{Zn} + 20039$	0,92	0,9972
	S. A.	$I = 41795C_{Zn} + 67782$		0,9996
Zn 213,857 nm (I)	A. A.	$I = 32612C_{Zn} + 17314$	0,88	0,9983
	S. A.	$I = 37178C_{Zn} + 570,06$		0,9998

(I) Linha atômica / (II) Linha lônica

* Técnica de adição de analito (A. A.) / Técnica de calibração de padrões preparada em $3,0 \text{ mol L}^{-1}$ de ácido nítrico (S. A.).

** Razão entre as inclinações das curvas obtidas pela técnica de adição de analito e a técnica de calibração de padrões.

Análise de regressão linear é muito usada para confirmar os efeitos de matriz e a validação da exatidão do método analítico proposto. A análise é feita através da construção do gráfico dos dados, sendo a situação “ideal” teórica ocorrendo quando o coeficiente angular (**a**) e de correlação (**R**) serem unitários e o valor do intercepto (**b**) da função linear é igual a zero [146].

Momem e colaboradores compararam quatro procedimentos diferentes de digestão, avaliando prováveis efeitos na análise de legumes na determinação de elementos essenciais (Cr, Cu, Fe, Mg, Mn e Zn) e tóxicos (Al, Cd e Pb) por ICP OES com configuração axial. As características analíticas, tais como limites da quantificação, precisão dos procedimentos totais e exatidão foram avaliados estatisticamente (test-*t* de *Student* e análise de regressão linear) para otimizar os parâmetros do ICP OES e para avaliar os procedimentos investigados. Eles recomendam a técnica de adição de analito para determinação dos elementos que estejam ocorrendo efeito de matriz [175].

Por outro lado, Halmos e colaboradores propuseram a técnicas de amostragem em suspensão em comparação ao método de digestão para a determinação de cobre, zinco, chumbo e manganês em cinzas por ICP OES. As avaliações foram feitas através da análise de regressão linear para cada elemento. A digestão também foi analisada pela espectrometria de fluorescência de raio-X e comparou-se os resultados obtidos à técnica de amostragem em suspensão. Baseado nos valores obtidos dos coeficientes angular da análise, os valores encontrados de concentração nos métodos analíticos são similares para zinco, chumbo e manganês. Os resultados obtidos para cobre diferem entre os métodos utilizados evidenciando o efeito de matriz [176].

Neste contexto, o estudo desenvolvido neste trabalho refere-se à investigação e seleção do tipo da técnica de calibração a partir do preparo de padrões aquosos e de soluções digeridas de farinha de trigo com adição de padrões. O efeito de matriz que pode interferir na determinação de Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, P e Zn foi estudado a partir do estudo da regressão linear. O coeficiente angular (**a**) da análise foi obtido pela construção gráfica das intensidades dos padrões versus as intensidades das soluções digeridas com adição de analito para cada elemento nas duas linhas escolhidas (**Tabela 7.7**). Os valores calculados de (**a**) variaram de 0,56 – 0,96 cps μg^{-1} L com valores de coeficiente

de correlação (R) no intervalo de 0,9922 a 0,9993, para o estudo em questão. Quanto mais próximos os valores de (**a**) e **R** forem da unidade, menor é o efeito de matriz nas análises da farinha de trigo empregando ICP OES.

Tabela 7.7. Técnica de regressão linear para análise de farinha de trigo

Elementos	Comprimento de onda (nm)*	a (cps μg^{-1} L)	R
Ca	317,933 (I)	0,93 \pm 0,03	0,9980
	422,673 (II)	0,86 \pm 0,02	0,9986
Cu	324,754 (I)	0,98 \pm 0,03	0,9971
	327,395 (I)	0,90 \pm 0,07	0,9922
Fe	238,204 (II)	0,97 \pm 0,04	0,9980
	259,940 (II)	0,97 \pm 0,03	0,9983
K	766,467 (I)	0,76 \pm 0,03	0,9964
	769,897 (I)	0,82 \pm 0,03	0,9975
Mg	279,553 (II)	0,56 \pm 0,01	0,9989
	285,213 (I)	0,80 \pm 0,04	0,9959
Mn	257,610 (II)	0,92 \pm 0,02	0,9993
	259,372 (II)	0,93 \pm 0,02	0,9984
P	177,434 (I)	0,95 \pm 0,02	0,9987
	213,618 (I)	0,95 \pm 0,02	0,9992
Zn	202,548 (II)	0,92 \pm 0,04	0,9968
	213,857 (I)	0,89 \pm 0,03	0,9970

* (I) Linha atômica / (II) Linha lônica

O procedimento proposto foi aplicado na análise do material referência certificado de farinha de trigo NIST 1567a por ICP OES para cada linha espectral de emissão selecionada, conforme **Tabela 7.8**:

Tabela 7.8. Análise do material de referência certificado de farinha de trigo NIST 1567a para todas as linhas espectrais:

Elemento	Comprimento de onda (nm)	Valor Certificado ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Valor Encontrado ($\mu\text{g g}^{-1}$) (n=3)*	%Concordância*	%p ($p > 5\%$)	Resultado**
Ca	317,933 (I)	191 \pm 4	188 \pm 6	98 \pm 3	40	NS
	422,673 (II)		158 \pm 7	83 \pm 4	1,0	S
Cu	324,754 (I)	2,1 \pm 0,2	2,1 \pm 0,1	101 \pm 4	61	NS
	327,395 (I)		2,2 \pm 0,2	107 \pm 10	31	NS
Fe	238,204 (II)	14,0 \pm 0,5	14,1 \pm 1,3	101 \pm 9	95	NS
	259,940 (II)		13,0 \pm 1,0	93 \pm 7	16	NS
K	766,467 (I)	1330 \pm 30	1000 \pm 24	75 \pm 2	0,1	S
	769,897 (I)		950 \pm 37	71 \pm 3	0,2	S
Mg	279,553 (II)	400 \pm 20	354 \pm 8	88 \pm 2	0,3	S
	285,213 (I)		314 \pm 10	79 \pm 2	0,6	S
Mn	257,610 (II)	9,4 \pm 0,9	9,9 \pm 0,6	105 \pm 6	21	NS
	259,372 (II)		9,7 \pm 0,7	103 \pm 7	42	NS
P	177,434 (I)	1340 \pm 60	1334 \pm 45	100 \pm 3	87	NS
	213,618 (I)		1311 \pm 60	98 \pm 5	58	NS
Zn	202,548 (II)	11,6 \pm 0,4	11,1 \pm 1,6	95 \pm 6	54	NS
	213,857 (I)		11,9 \pm 0,3	103 \pm 3	16	NS

(I) Linha atômica / (II) Linha Iônica

* Média \pm intervalo de confiança com 95% de confiabilidade

**Diferença significativa (S) ou Diferença não significativa (NS)

Os valores encontrados foram comparados com os seus respectivos valores certificados estatisticamente pela Análise de variância (ANOVA: fator único). Os valores de probabilidade dos valores serem semelhantes obtidos ($p > 5\%$), mostraram diferença significativa (S) entre eles no nível de 95% de confiabilidade para as linhas de Ca (I) 422,673 nm; K (I) 766,467 nm e K

(I) 769,897 nm; Mg (II) 279,553 nm e Mg (I) 285,213 nm. Nos demais, os valores de probabilidade variaram de 16 a 95%, sendo considerados estatisticamente não significantes (NS).

A técnica de adição de analito foi recomendada para a determinação de potássio e magnésio no material de referência certificado de farinha de trigo, **Tabela 7.9**, para superar ou eliminar a maioria dos erros devido às interferências da não linearidade e / ou da matriz que reduz a sensibilidade. De todas as linhas de emissões selecionadas para magnésio e potássio, apenas a Mg (II) 279,553 nm apresentou diferença estatística (S) com nível de 95% dos seus resultados, pois com valor de probabilidade do valor ser semelhante foi de 0,5% ($p > 5\%$), ou seja, a mesma não pôde ser utilizada na determinação de magnésio na farinha de trigo. Demais linhas os valores de p variaram de 7,6 a 30%, sendo considerados estatisticamente não significativos (NS).

Tabela 7.9. Valores obtidos a partir da técnica de adição de analito

MRC Farinha de trigo NIST 1567a					
Elemento	Valor certificado ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Valor encontrado ($\mu\text{g g}^{-1}$) (n=3)*	%Concordância*	%p ($p > 5\%$)	Resultado**
K (I) 766,467 nm	1330 \pm 30	1356 \pm 41	102 \pm 3	30	NS
K (I) 769,897 nm		1268 \pm 39	95 \pm 3	7,6	NS
Mg (II) 279,553 nm	400 \pm 20	609 \pm 32	152 \pm 8	0,5	S
Mg (I) 285,213 nm		391 \pm 18	98 \pm 4	37	NS

* Média \pm intervalo de confiança com 95% de confiabilidade

**Diferença significativa (S) ou Diferença não significativa (NS)

7.5.2. Parâmetros de mérito

7.5.2.1. Concentração equivalente de sinal de fundo, limite de detecção e limite de quantificação

Os limites de detecção e quantificação foram calculados baseados no BEC de cada elementos e suas respectivas linhas de emissão conforme as Equações 7.2, 7.4 e 7.5, e estão apresentados na Tabela 7.10.

Tabela 7.10. Parâmetros de mérito, BEC, LD e LQ, obtidos para a determinação de Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, P e Zn em farinha de trigo por ICP OES

Elemento	Comprimento de onda (nm)	BEC* (mg L ⁻¹)	LD* (mg L ⁻¹)	LQ* (mg L ⁻¹)	BEC* (µg g ⁻¹)	LD** (µg g ⁻¹)	LQ** (µg g ⁻¹)
Ca	317,933 (I)	0,119	0,144	0,480	2,4	2,9	9,6
	422,673 (II)	0,111	0,050	0,166	2,2	1,0	3,3
Cu	324,754 (I)	0,014	0,012	0,039	0,3	0,2	0,8
	327,395 (I)	0,015	0,010	0,033	0,3	0,2	0,7
Fe	238,204 (II)	0,023	0,033	0,111	0,5	0,7	2,2
	259,940 (II)	0,024	0,016	0,052	0,5	0,3	1,0
K	766,467 (I)	0,038	0,023	0,077	0,8	0,5	1,5
	769,897 (I)	1,795	0,724	2,412	36	14	48
Mg	279,553 (II)	0,013	0,013	0,044	0,3	0,3	0,9
	285,213 (I)	0,012	0,006	0,019	0,2	0,1	0,4
Mn	257,610 (II)	0,001	0,001	0,003	0,02	0,02	0,07
	259,372 (II)	0,002	0,001	0,004	0,03	0,03	0,09
P	177,434 (I)	0,044	0,031	0,103	0,9	0,6	2,1
	213,618 (I)	0,010	0,006	0,020	0,2	0,1	0,4
Zn	202,548 (II)	0,006	0,006	0,021	0,1	0,1	0,4
	213,857 (I)	0,006	0,004	0,013	0,1	0,1	0,3

* Concentração calculada a partir n = 10 medidas da solução do branco.

** Concentração calculada a partir n = 10 medidas da solução do branco relacionada com a massa de amostra de 0,5 g com volume final de 10 mL.

O método proposto apresentou LOD, BEC e LOQ na ordem de µg g⁻¹ esses parâmetros podem ser considerados adequados para as determinações. Os valores encontrados para LD, LQ e BEC são compatíveis os encontrados na literatura [168].

7.7.2.2. Precisão

Esta foi expressa como desvio relativo padrão (RSD) determinada pela repetibilidade entre três análises de duas amostras com concentrações diferentes e pertinentes à análise para cada elemento determinado (**Tabela 7.11**). Para concentrações menores a precisão variou de 0,8 a 4,2%. Concentrações mais elevadas os valores encontrados variaram de 3,4 a 5,0%.

Tabela 7.11. Desvio padrão relativo dos oito elementos determinados na amostra de farinha de trigo por ICP OES

Elemento	Concentração ($\mu\text{g g}^{-1}$)	%RSD (n=3)	Concentração ($\mu\text{g g}^{-1}$)	%RSD (n=3)
Ca	108,5 \pm 3,0	1,1	1958 \pm 165	3,4
Cu	1,0 \pm 0,1	2,0	2,8 \pm 0,2	3,4
Fe	10,5 \pm 1,2	4,2	146,6 \pm 15,2	4,2
K	812 \pm 81	0,8	3156 \pm 370	4,7
Mg	188,3 \pm 17,0	3,6	511,2 \pm 47,5	3,7
Mn	3,89 \pm 0,19	2,0	14,74 \pm 1,79	4,9
P	810 \pm 3	1,1	7151 \pm 464	5,0
Zn	5,1 \pm 0,5	4,2	13,9 \pm 1,7	4,1

* Média \pm intervalo de confiança com 95% de confiabilidade

Essas faixas de precisão são consideradas satisfatórias para o método proposto para as determinações por ICP OES.

7.5.3. Aplicação do método proposto

7.5.3.1. Determinação analítica

Selecionou-se das linhas de emissão estudadas empregando ICP OES, uma para cada elemento utilizada na determinação simultânea das concentrações de cálcio, cobre, ferro, potássio, magnésio, manganês, fósforo e zinco, conforme a **Tabela 7.12**.

Tabela 7.12. Linhas de emissões selecionadas para análise das amostras de farinha de trigo por ICP OES

Elemento	Linhas de espectrais (nm)
Cálcio	317,933 (II)
Cobre	324,754 (I)
Ferro	238,209 (II)
Potássio	766,467 (I)
Magnésio	285,213 (I)
Manganês	259,372 (II)
Fósforo	213,613 (I)
Zinco	202,548 (II)

7.5.3.2. Concentração de Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, P e Zn nas farinhas de trigo

Os resultados obtidos da determinação da concentração de Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, P e Zn nas 54 amostras de farinha de trigo por ICP OES estão apresentados na **Tabela 7.13**.

Tabela 7.13. Concentração dos elementos encontrados nas amostras de farinha de trigo de diferentes cidades brasileiras*

Amostra	Ca ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Cu ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Fe ($\mu\text{g g}^{-1}$)	K ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Mg ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Mn ($\mu\text{g g}^{-1}$)	P ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Zn ($\mu\text{g g}^{-1}$)
AJU1	148,86 ± 4,43	1,54 ± 0,04	30,32 ± 2,12	1808,34 ± 24,10	309,84 ± 26,88	4,74 ± 0,23	1149,66 ± 38,59	7,05 ± 0,44
BEL1	138,23 ± 14,65	2,33 ± 0,05	28,05 ± 1,82	1502,39 ± 91,22	331,68 ± 15,75	7,59 ± 0,21	1095,65 ± 30,66	8,75 ± 0,10
BEL2	169,06 ± 2,42	2,03 ± 0,04	88,63 ± 1,51	1784,71 ± 91,31	388,29 ± 18,26	8,87 ± 0,62	1338,92 ± 67,80	8,31 ± 0,65
BSB1	212,05 ± 21,42	2,30 ± 0,18	22,27 ± 2,11	2058,11 ± 47,12	442,53 ± 6,47	7,41 ± 0,41	1381,87 ± 18,99	12,37 ± 0,76
BSB2	209,43 ± 22,31	2,26 ± 0,14	31,11 ± 2,72	1795,77 ± 214,78	428,96 ± 39,21	8,72 ± 1,26	1373,91 ± 109,10	13,93 ± 1,73
BSB3	183,17 ± 6,74	2,54 ± 0,18	31,88 ± 0,24	1835,82 ± 23,52	413,42 ± 30,12	11,09 ± 0,64	1449,81 ± 99,10	9,54 ± 0,99
BSB4	177,71 ± 18,78	2,80 ± 0,24	32,59 ± 0,55	1779,12 ± 199,73	372,21 ± 17,85	14,74 ± 1,79	1340,73 ± 135,58	11,53 ± 0,30
FLP1	157,90 ± 11,29	1,54 ± 0,12	46,64 ± 4,52	1386,36 ± 70,03	386,07 ± 26,92	8,45 ± 0,57	1167,68 ± 116,89	9,07 ± 0,72
FLP2	139,51 ± 8,68	1,44 ± 0,07	54,44 ± 4,61	1172,27 ± 50,92	284,85 ± 11,08	5,38 ± 0,15	910,87 ± 45,15	6,32 ± 0,41
FLP3	174,49 ± 10,01	1,17 ± 0,12	52,88 ± 1,74	1726,10 ± 186,59	345,91 ± 34,97	5,96 ± 0,39	1165,27 ± 96,92	7,52 ± 0,73
FSA1	172,79 ± 7,19	2,02 ± 0,03	31,41 ± 0,48	2594,54 ± 65,66	400,57 ± 13,49	9,55 ± 0,70	1150,68 ± 38,47	11,80 ± 1,21
FSA2	184,68 ± 3,09	2,40 ± 0,23	20,61 ± 2,44	2440,34 ± 141,51	395,17 ± 33,41	12,03 ± 0,84	1099,51 ± 65,57	13,65 ± 0,64
FSA3	196,12 ± 6,02	1,64 ± 0,15	18,89 ± 1,76	2568,34 ± 120,31	365,12 ± 40,52	6,51 ± 0,14	1081,94 ± 83,49	9,20 ± 0,41
FSA4	199,20 ± 13,58	1,69 ± 0,14	26,72 ± 2,86	2608,61 ± 38,54	343,47 ± 11,48	6,98 ± 0,20	1135,53 ± 32,24	12,36 ± 1,32
FTZ1	147,21 ± 3,60	2,04 ± 0,05	13,36 ± 0,68	1610,03 ± 14,80	366,70 ± 4,78	9,00 ± 0,65	1371,97 ± 62,94	10,11 ± 0,47
FTZ2	158,08 ± 0,44	1,46 ± 0,04	32,43 ± 2,00	1614,27 ± 70,02	257,59 ± 10,84	5,68 ± 0,43	1107,91 ± 65,25	6,61 ± 0,72
JEQ1	159,75 ± 19,23	1,69 ± 0,04	29,07 ± 2,05	1699,23 ± 78,44	286,01 ± 12,66	8,90 ± 1,05	1079,52 ± 36,55	8,40 ± 0,53
JEQ2	213,42 ± 10,41	2,56 ± 0,18	30,33 ± 2,94	2287,93 ± 185,11	511,24 ± 47,47	14,57 ± 1,25	1577,36 ± 108,47	13,78 ± 1,01
JEQ3	137,31 ± 10,63	1,47 ± 0,04	24,83 ± 2,57	1352,53 ± 42,65	194,33 ± 6,26	4,89 ± 0,11	895,56 ± 56,68	6,29 ± 0,49
JEQ4	542,34 ± 56,90	1,99 ± 0,23	35,91 ± 2,83	2697,53 ± 219,47	376,41 ± 27,34	9,51 ± 0,45	6221,05 ± 499,86	9,04 ± 0,18
MCP1	133,55 ± 11,88	2,29 ± 0,15	45,71 ± 3,82	757,46 ± 14,41	312,41 ± 36,32	9,21 ± 0,14	1197,06 ± 60,82	8,02 ± 0,81
MCP2	112,33 ± 8,12	2,46 ± 0,23	36,22 ± 2,87	811,67 ± 81,41	361,39 ± 41,90	9,79 ± 0,47	1311,82 ± 97,13	9,07 ± 0,49
NIT1	117,53 ± 8,23	1,66 ± 0,08	23,56 ± 0,74	868,05 ± 71,85	277,01 ± 27,83	6,49 ± 0,50	1090,47 ± 92,18	7,70 ± 0,18
NIT2	174,47 ± 1302	1,68 ± 0,07	20,71 ± 2,26	961,97 ± 43,10	332,32 ± 30,14	6,66 ± 0,41	1244,89 ± 76,43	8,03 ± 0,56
NIT3	185,20 ± 6,89	2,35 ± 0,18	39,71 ± 1,21	999,74 ± 17,85	355,95 ± 13,02	7,43 ± 0,16	1309,52 ± 41,93	9,03 ± 0,21
NIT4	158,71 ± 13,39	1,57 ± 0,04	13,92 ± 1,27	902,94 ± 4,29	308,44 ± 35,84	6,24 ± 0,04	1191,25 ± 58,32	6,50 ± 0,78
NIT5	166,10 ± 5,38	2,22 ± 0,14	11,80 ± 1,83	813,08 ± 21,24	345,02 ± 15,63	11,03 ± 0,38	1157,39 ± 87,96	12,63 ± 1,32
NIT6	143,59 ± 16,93	1,40 ± 0,02	30,71 ± 1,40	902,96 ± 35,46	303,38 ± 16,31	6,06 ± 0,19	1169,46 ± 139,66	7,32 ± 0,90
NIT7	520,95 ± 55,32	1,59 ± 0,08	50,84 ± 4,51	1527,60 ± 126,26	390,17 ± 13,48	8,89 ± 0,37	7151,21 ± 463,66	10,03 ± 1,23
PAB1	468,57 ± 24,97	2,39 ± 0,08	40,77 ± 1,26	1364,14 ± 27,06	366,48 ± 4,53	11,53 ± 0,17	5934,53 ± 296,99	11,95 ± 0,50
PDC1	160,34 ± 16,71	2,00 ± 0,05	34,18 ± 1,37	1812,50 ± 126,01	340,74 ± 39,63	11,90 ± 1,06	992,34 ± 33,72	11,75 ± 1,89

GPQA - Grupo de Pesquisa em Química Analítica - Instituto de Química - UFBA

PDC2	166,82 ± 13,93	2,00 ± 0,01	20,06 ± 0,68	1725,28 ± 66,32	312,21 ± 16,48	8,41 ± 0,84	1039,56 ± 1,47	8,68 ± 1,93
PDC3	146,82 ± 12,74	1,56 ± 0,08	37,87 ± 3,36	1477,72 ± 117,32	188,27 ± 16,99	4,06 ± 0,10	810,25 ± 21,39	6,41 ± 0,07
POA1	177,69 ± 4,49	1,87 ± 0,08	44,29 ± 3,14	1677,92 ± 115,80	407,01 ± 27,73	9,86 ± 0,58	1331,71 ± 44,03	10,87 ± 0,78
POA2	180,41 ± 9,08	1,34 ± 0,11	143,12 ± 7,13	1476,65 ± 92,94	309,78 ± 14,96	7,01 ± 0,29	1065,20 ± 42,28	10,08 ± 0,98
POA3	162,07 ± 19,33	1,36 ± 0,10	146,58 ± 15,24	1436,56 ± 144,94	285,88 ± 12,90	6,35 ± 0,43	1051,12 ± 73,80	7,71 ± 0,47
REC1	232,56 ± 21,64	1,77 ± 0,07	42,67 ± 4,68	1685,97 ± 33,44	335,99 ± 17,33	7,49 ± 0,28	1245,77 ± 91,85	8,06 ± 0,61
REC2	553,50 ± 23,40	1,83 ± 0,02	21,19 ± 1,95	2878,84 ± 113,79	388,28 ± 7,79	9,18 ± 0,27	6230,14 ± 91,33	9,47 ± 0,61
RGN1	1958,33 ± 165,46	1,35 ± 0,11	37,15 ± 3,57	1035,18 ± 29,48	198,54 ± 7,94	4,24 ± 0,09	5337,23 ± 341,92	5,07 ± 0,53
RIO1	786,70 ± 71,62	1,98 ± 0,11	12,58 ± 0,14	3156,28 ± 370,30	490,84 ± 48,70	9,31 ± 0,75	7111,40 ± 878,05	13,02 ± 1,12
RIO2	193,47 ± 15,71	1,88 ± 0,18	47,29 ± 3,96	1726,00 ± 182,46	359,53 ± 39,42	7,30 ± 0,65	1237,18 ± 130,39	9,52 ± 0,24
RIO3	131,97 ± 5,85	1,89 ± 0,18	29,00 ± 2,44	884,96 ± 6,52	324,09 ± 27,83	7,00 ± 0,12	1176,45 ± 65,17	9,13 ± 0,30
RIO4	603,95 ± 62,84	1,63 ± 0,06	26,63 ± 2,07	2622,32 ± 75,07	316,28 ± 31,05	7,19 ± 0,25	5670,47 ± 82,46	7,20 ± 0,50
SSA1	293,01 ± 23,86	1,17 ± 0,12	10,46 ± 1,15	2052,59 ± 120,94	399,13 ± 17,50	5,77 ± 0,34	1267,53 ± 39,15	10,15 ± 0,98
SSA2	247,99 ± 26,74	1,67 ± 0,12	77,52 ± 7,24	1711,37 ± 42,36	434,61 ± 14,22	9,06 ± 0,13	1344,89 ± 24,92	11,25 ± 0,77
SSA3	298,39 ± 2,23	1,25 ± 0,07	83,37 ± 7,59	1854,61 ± 98,46	341,23 ± 19,20	7,90 ± 0,54	1147,86 ± 84,91	9,69 ± 0,74
SSA4	249,72 ± 30,34	1,25 ± 0,04	41,07 ± 4,66	1800,57 ± 129,77	327,08 ± 7,24	7,53 ± 0,09	1082,58 ± 68,35	8,87 ± 0,70
SSA5	229,98 ± 22,47	1,00 ± 0,05	36,93 ± 4,35	1595,76 ± 33,82	245,97 ± 6,92	3,89 ± 0,19	918,05 ± 11,20	7,51 ± 0,33
SSA6	1000,95 ± 9,40	1,04 ± 0,05	39,96 ± 0,10	2230,01 ± 78,36	240,58 ± 5,89	4,26 ± 0,05	4960,90 ± 297,49	6,96 ± 0,23
SSP1	146,09 ± 5,07	1,89 ± 0,23	10,83 ± 1,14	2307,85 ± 44,32	366,41 ± 26,16	7,61 ± 0,67	1090,19 ± 119,72	6,43 ± 0,14
SSP2	127,20 ± 0,62	2,42 ± 0,14	22,57 ± 2,39	2012,25 ± 103,52	431,86 ± 52,47	11,44 ± 0,32	1308,35 ± 36,79	12,05 ± 0,93
SSP3	148,84 ± 17,03	2,65 ± 0,29	18,50 ± 1,41	2185,11 ± 105,24	437,46 ± 31,28	13,47 ± 1,09	1151,79 ± 33,06	12,92 ± 1,53
SSP4	107,52 ± 3,00	1,70 ± 0,11	21,63 ± 1,47	1257,48 ± 49,76	326,74 ± 33,68	9,92 ± 0,59	1179,04 ± 38,20	8,70 ± 0,78
SSP5	149,32 ± 11,50	1,90 ± 0,18	32,85 ± 1,93	1629,12 ± 105,64	332,33 ± 17,21	7,76 ± 0,54	1272,37 ± 135,45	8,31 ± 0,81

*Valores da média da triplicata da amostra ± intervalo de confiança com 95% de confiabilidade.

A média, a variação e o desvio padrão das concentrações de Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, P e Zn encontradas nas 54 amostras de farinha de trigo estão apresentadas na **Tabela 7.14**.

Tabela 7.14. Média, variação e desvio padrão das concentrações das encontradas nas 54 amostras de farinha de trigo (n =3)

Elementos	Média ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Variação ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Desvio padrão ($\mu\text{g g}^{-1}$)
Ca	269,95	107,52 – 1958,33	294,41
Cu	1,84	1,00 – 2,80	0,44
Fe	37,82	10,46 – 146,58	27,02
K	1328,20	587,72 – 2448,99	451,32
Mg	285,84	155,14 – 421,29	55,90
Mn	8,25	3,89 – 14,74	2,51
P	1919,35	810,25 – 7151,21	1798,33
Zn	9,41	5,07 – 13,93	2,23

A presença desses elementos na farinha de trigo está vinculada à necessidade da planta de retirá-los do solo na forma de nutrientes adequados para seu desenvolvimento. Segundo a EMBRAPA, o trigo necessita de treze nutrientes, sendo alguns absorvidos em grandes quantidades (macronutrientes) e outros, em pequenas quantidades (micronutrientes). O nitrogênio (N), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), fósforo (P) e enxofre (S) são os macronutrientes. Já o boro (B), cloro (Cl), cobre (Cu), ferro (Fe), manganês (Mn), molibdênio (Mo) e zinco (Zn) são considerados micronutrientes [3]. A deficiência dos teores desses nutrientes resulta em menor crescimento das plantas e uma menor produção de grão. Solos férteis são aqueles que apresentam teores dos nutrientes adequados ao desenvolvimento da planta. A complementação ou correção das quantidades dos nutrientes presentes nos solos, e feita através da prática de adubação, muito utilizada para garantir bons rendimentos de grãos.

Outro aspecto que limita o crescimento de uma planta é a acidez do solo. No Brasil, principalmente na Região do cerrado são predominantes os solos ácidos, prejudiciais ao desenvolvimento da planta, porque contêm alumínio em formas tóxicas às raízes, impedindo a absorção de água e nutrientes. A análise química do solo a ser utilizado para plantio mostrará o índice de acidez, propondo assim, doses de fertilizantes eficazes que devem ser aplicados [3].

O Brasil apresenta três grandes regiões de cultivo de trigo (Região Sul, Centro-Sul e Central) bastante diferenciadas. Elas estão sujeitas às diversas

condições do solo e climáticas do país. Por exemplo, o norte e oeste do Estado do Paraná são encontrados solos de matas, de alta fertilidade e elevados teores de matéria orgânica com grande capacidade de retenção de água. Por outro lado, no Mato Grosso do sul, os solos são de campo e de cerrado possuindo baixa fertilidade e alumínio em níveis tóxicos, necessitando de correção. Sendo assim, cada região de cultivo terá uma correção específica a necessidade do solo [5].

7.5.4. Análise multivariada dos dados

7.7.4.1. Análise de componentes principais

A avaliação exploratória das 54 amostras de farinha de trigo foi realizada através PCA, envolvendo 8 variáveis (concentração de Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, P e Zn). Os dados foram autoescalonados. Como mostra a **Tabela 7.15** foi observado que as três primeiras componentes principais (PCs) representam 78,70 % da variabilidade total dos dados.

Tabela 7.15. Pesos das variáveis das três primeiras componentes principais

	PC1	PC2	PC3
Ca	0,2354	-0,8562	-0,0422
Cu	-0,8189	0,1783	-0,2383
Fe	0,2754	0,1441	0,9111
K	-0,4456	-0,5515	0,1793
Mg	-0,8850	-0,0760	0,1851
Mn	-0,8948	0,0841	0,0331
P	-0,0755	-0,9073	0,0159
Zn	-0,8892	-0,0018	0,1817
% Total de variância	42,26	24,07	12,37
% Acúmulo de variância	42,26	66,33	78,70

A primeira componente principal (PC1) representa 42,26 % da variabilidade dos dados e é constituída principalmente pelas variáveis Cu, Mg, Mn e Zn. Como os pesos obtidos são altos (em módulo) e próximos entre si, observa-se uma correlação entre estas variáveis (**Tabela 7.15**). Assim, a maior variabilidade nas amostras se deve às concentrações destes metais. Segundo a

EMBRAPA, a presença desses elementos está ligada à necessidade da planta de absorver macro e micronutrientes para o seu desenvolvimento, podendo estar influenciadas por vários fatores, como o tipo de solo, prática de fertilizantes, clima e/ou processo de produção [3].

O cálcio e fósforo são as variáveis que apresentam os maiores pesos (em módulo) na segunda componente principal (PC2), seguido do peso referente à variável do potássio. Estas variáveis, portanto, apresenta a segunda maior fonte de variabilidade dos dados, concentrando 24,07 % da variância total dos dados obtidos. A prática de fertilização do solo é o fator probabilístico para a contribuição desses elementos nas plantas, pois elas precisam dos elementos cálcio e fósforo para o seu crescimento. Tal prática também é necessária quando o solo de cultivo apresenta acidez, sendo necessária a sua correção através adubação fosfórica, potássica e calcária, através de análise da situação do solo [2, 3].

A terceira componente principal (PC3) é governada principalmente pela variabilidade da concentração de ferro nas amostras de farinha de trigo, com 12,37% das informações obtidas pela PCA.

A **Figura 7.3** mostra a projeção de PC1 versus PC2 que juntas descrevem 66,33% da variação total dos dados. Dois conjuntos dos pontos podem ser observados. O conjunto superior com escores elevados na PC2 é povoado densamente, visto que o mais baixo contém somente oito amostras. A PC2 apresenta valores de pesos altos negativos para concentração de cálcio e fósforo nas amostras, espera-se valores com concentrações elevadas destes elementos nos pontos mais baixos do conjunto, visto que as concentrações do cálcio para amostras da escala superior do conjunto variaram de 0,11 a 0,29 mg g⁻¹, aquele grupo mais baixo apresenta valores mais elevados, entre as concentrações variando de 0,47 a 1,96 mg g⁻¹. A concentração de fósforo para amostras no conjunto superior - 0,81 a 1,58 mg g⁻¹ – é mais baixa do que para aquelas no conjunto mais baixo - 4,96 a 7,15 mg g⁻¹. Entretanto, a PC1 não discrimina entre estes dois grupos dos pontos. Porque não existe nenhuma diferença significativa nas concentrações do cobre, do magnésio, do manganês e do zinco, sendo todos os pesos negativos altos nesta PC para amostras destes dois grupos.

As amostras do conjunto baixo são PAB1, RIO1, RIO4, JEQ4, REC2, NIT7, SSA6 e RGN1. Pode-se esperar alta concentração de cálcio e fósforo para estas amostras.

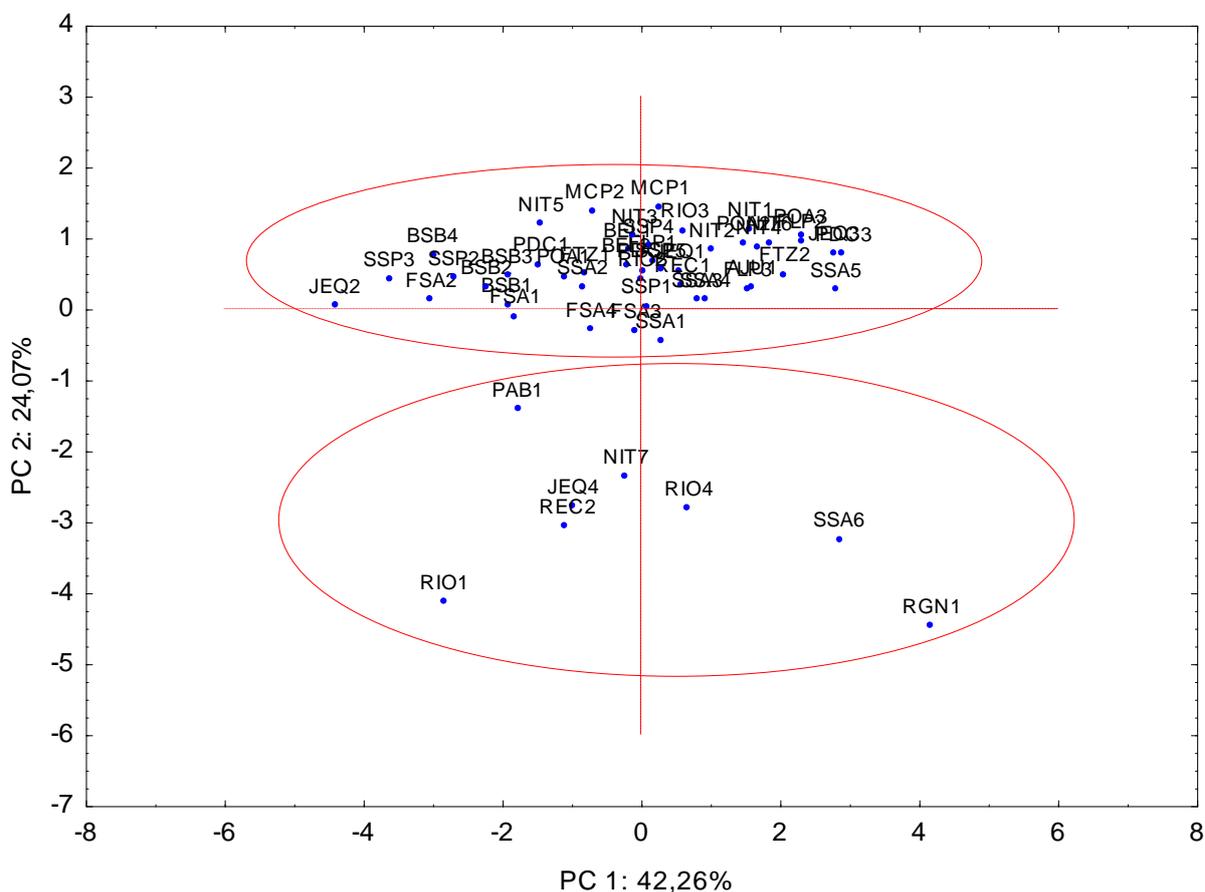


Figura 7.3. Gráfico de escores para agrupamentos os dois formados a partir da análise das duas primeiras componentes principais.

O gráfico de escores para PC1 versus PC3 está apresentado na **Figura 7.4**. Cinco amostras, BEL2, POA2, POA3, SSA2 e SSA3 são separadas do conjunto principal a partir dos escores da PC3, sendo ela essencialmente governada pela concentração do ferro. Visto que estas cinco amostras têm as concentrações do ferro de 77,5 a 146,1 $\mu\text{g g}^{-1}$, as demais amostras têm concentrações do ferro variando de 10,5 a 54,4 $\mu\text{g g}^{-1}$. A variabilidade da concentração de ferro nas amostras pode ser atribuída ao fato de haver uma regulamentação nacional. No Brasil, o enriquecimento de farinha de trigo pelo elemento ferro é regulamentado pela Portaria 593/00 do Ministério da Saúde

controlado pela ANVISA. Segundo regulamentação, a concentração de ferro nas amostras deve ser de 42,0 μg por grama de farinha de trigo e milho e seus respectivos derivados. Entretanto, das 54 amostras analisadas, apenas 24% delas apresentam-se em conformidade com a regulamentação.

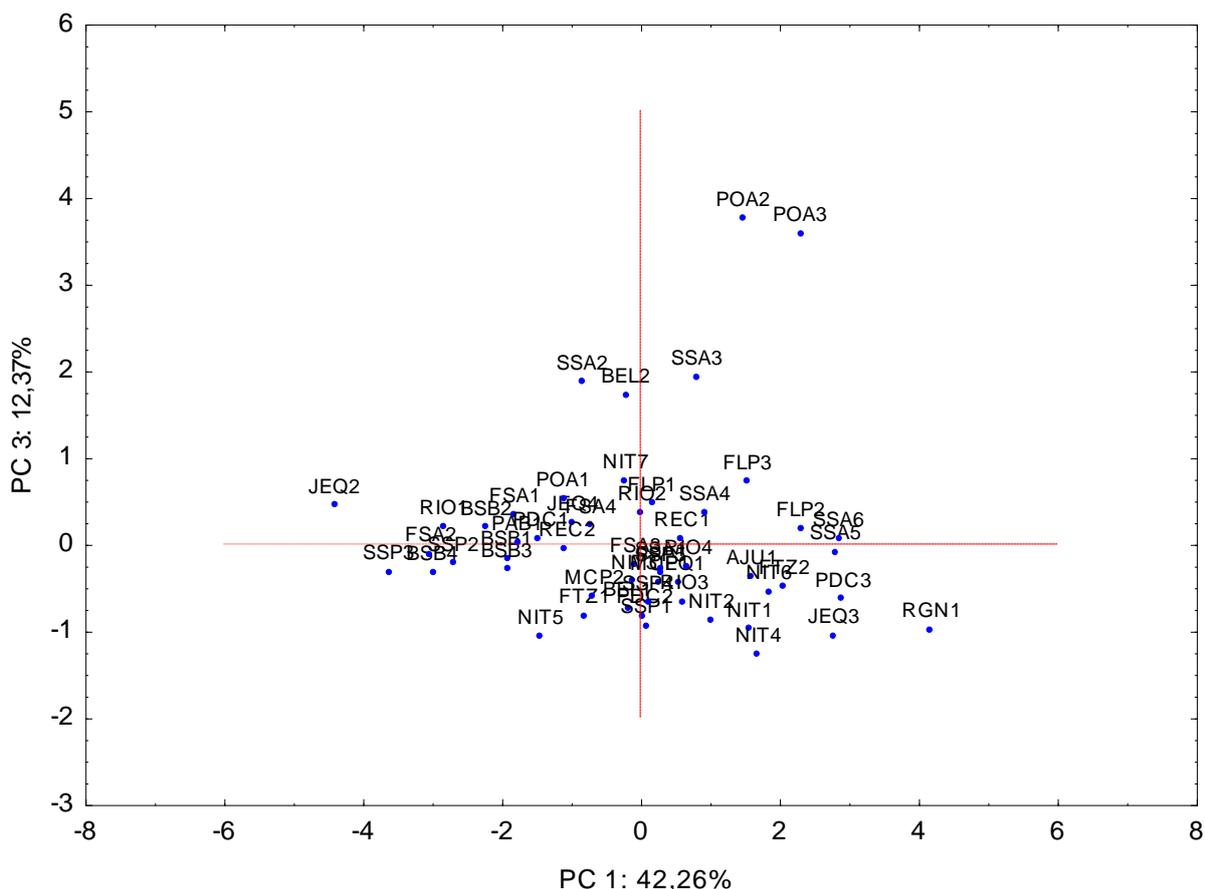


Figura 7.4. Gráfico de escores da PC1 versus PC3 para as amostras de farinha de trigo brasileiras

7.5.4.2. Análise de agrupamento

A análise de agrupamento hierárquico foi aplicada aos dados autoescalados. O método de ligação foi usado para agrupamento das amostras com a medida Euclidiana das distâncias. Um procedimento aglomerativo hierárquico foi empregado para estabelecer conjuntos. Os resultados obtidos esta apresentado pelo dendrograma na Figura 7.5. Dois conjuntos são separados claramente, um com as mesmas oito amostras

encontrado no conjunto mais baixo da figura citada, e outro com o resto das amostras. Embora o dendograma confirme a existência dos dois conjuntos encontrados na PCA, ele não discrimina os outliers POA2 e POA3 do resto das amostras.

A análise de agrupamento hierárquico (HCA) foi aplicada aos dados autoescalados. O método de ligação simples foi usado para agrupamento das amostras com a medida Euclideana das distâncias. Um procedimento aglomerativo hierárquico foi empregado para estabelecer conjuntos. Os resultados obtidos são mostrados como um dendograma na **Figura 7.5**. Para a distância entre 1400 a 3500 (metade da distância sobre a coordena) pode-se observar a existência de dois agrupamentos, ou seja, neste intervalo há duas linhas verticais. Isto mostra que os dois grupos em duas dimensões de projeção na **Figura 7.5** são separadas em oito dimensões de espaço verdadeiro desde dendograma, sendo baseado na distância real entre as amostras, enquanto as componentes principais são separadas por projeções. Um dos agrupamentos tem as mesmas oito amostras, como mostra o menor conjunto na **Figura 7.5**, enquanto o outro com o restante das amostras. Embora o dendograma confirme a existência dos dois conjuntos encontrados na PCA, ele não discrimina SSA2, SSA3, BEL2, POA2 e POA3 do resto das amostras. Isto pode ser entendido, uma vez que apenas estas amostras são atípicas na PC3 que tem apenas metadas da variância da segunda componente principal.

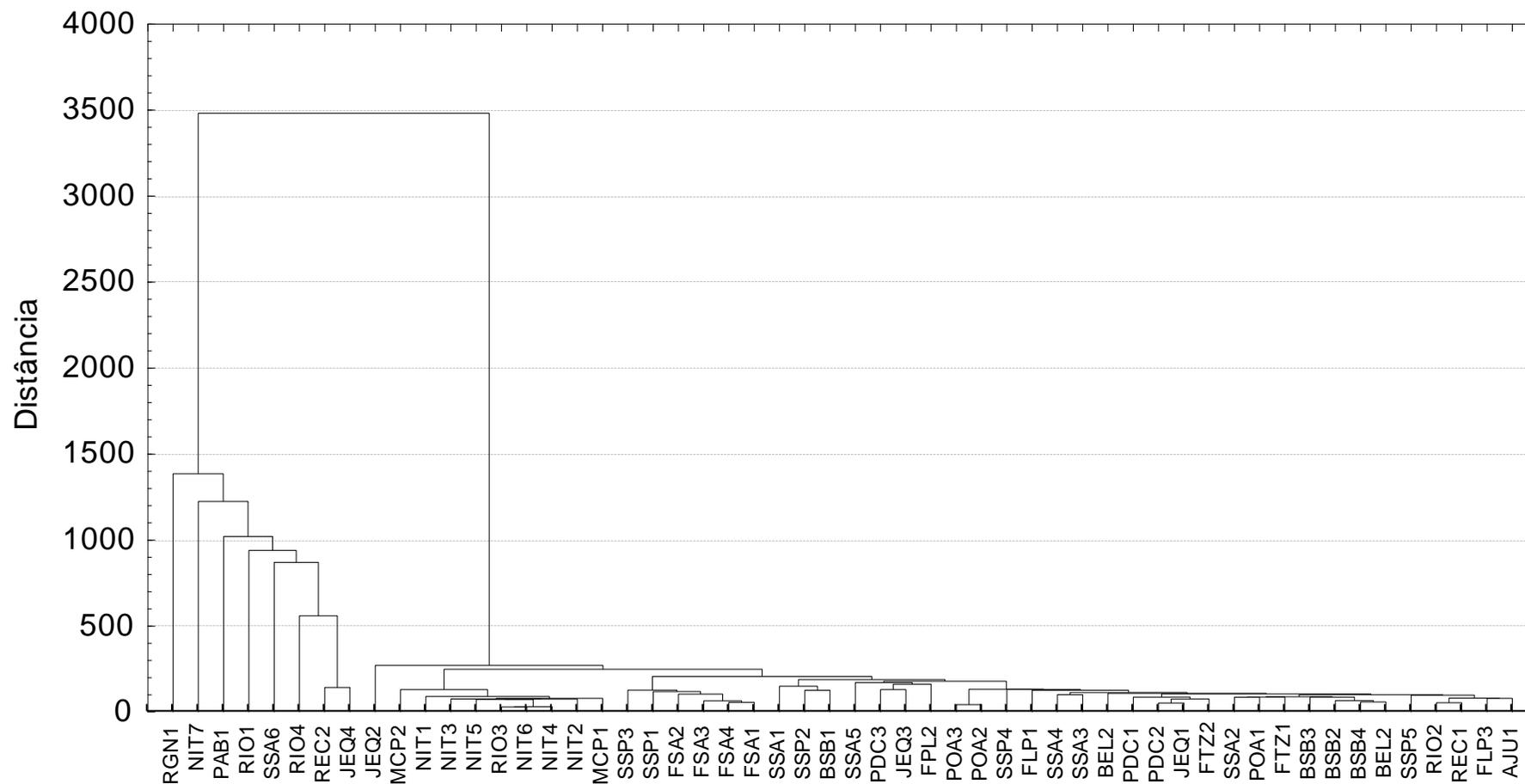


Figura 7.5: Dendrograma: método da ligação simples com distância Euclideana.

7.5.4.1.1 – Síntese dos dados

A **Tabela 7.16** contém a média, a mediana e os desvios padrões das concentrações de todos os oito elementos em cada um dos três grupos: a farinha de trigo regular, a farinha de trigo tratada e as atípicas (outliers). Os elementos que têm fonte de variabilidade na PC1, como Cu, Mg, Mn e Zn têm essencialmente as mesmas concentrações nos três grupos de farinha de trigo supracitados. Assim, a PC1, é uma aproximação média das concentrações destes elementos na farinha de trigo brasileira, ou seja, a medida nas amostras são relativamente constante nestes três grupos.

Tabela 7.16: Média, mediana e desvio padrão para os oitos elementos

Elementos	Ca (mg g ⁻¹)	Cu (µg g ⁻¹)	Fe (µg g ⁻¹)	K (mg g ⁻¹)	Mg (mg g ⁻¹)	Mn (µg g ⁻¹)	P (mg g ⁻¹)	Zn (µg g ⁻¹)
F.T. regular								
Média	0,17	1,9	30,0	1,62	0,35	8,3	1,18	9,5
Mediana	0,16	1,9	30,5	1,68	0,34	7,6	1,17	9,0
Desvio padrão	0,04	0,4	11,5	0,53	0,06	2,6	0,16	2,3
F.T. tratada								
Média	0,80	1,7	33,1	2,19	0,35	8,0	6,08	9,1
Mediana	0,58	1,7	36,5	2,43	0,37	9,0	6,08	9,3
Desvio padrão	0,50	0,4	12,2	0,78	0,09	2,6	0,78	2,6
F.T. atípica								
Média	0,21	1,5	107,8	1,65	0,35	7,8	1,19	9,4
Mediana	0,18	1,4	88,6	1,71	0,34	7,9	1,15	9,7
Desvio padrão	0,06	0,3	34,0	0,19	0,06	1,2	0,14	1,4

F.T. – farinha de trigo

A segunda PC, tem sua variabilidade de dados mais importante nos pesos do Ca, P e K. Estes elementos apresentam alta concentração nas amostras tratadas e menor nas amostras de farinhas regulares e atípicas. Embora haja apenas oito amostras tratadas, as diferentes concentrações de Ca, P e K nas farinhas são maiores em relação às outras amostras, descrevendo nesta segunda PC mais da metade da variância da primeira.

Finalmente, a PC3 é governada pela variável ferro, e esta variação se deve aos índices elevados desse elemento nas amostras atípicas (outliers), mas suas concentrações são baixas e muito similares nas amostras de farinha de trigo regular e tratada. Os pesos negativos e elevados das variáveis Cu, Mg, Mn e Zn na PC1, indica uma alta correlação entre elas. Todos os possíveis pares destes elementos apresentam correlações entre 0,6 a 0,8. A **Figura 7.6** mostra um

gráfico das concentrações de Cu versus Mn para todos grupos de amostras para o coeficiente de correlação igual a 0,8. Estas parecem ser correlações intrínsecas a todas as amostras farinha se estão tratadas ou não.

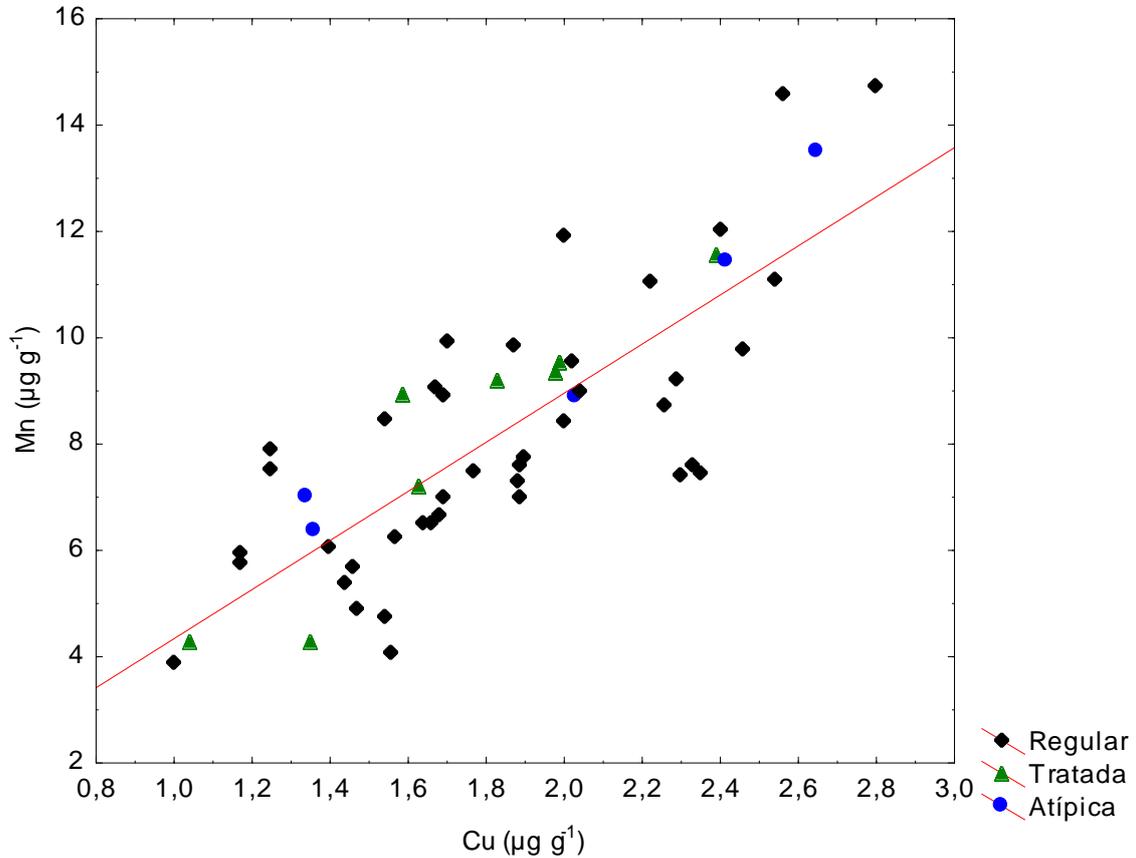


Figura 7.6. Gráfico da concentração de Mn versus a concentração de Cu ($R = 0,80$) para as 54 amostras de farinha de trigo.

7.5. Conclusão

O emprego da técnica de espectrometria de emissão ótica com fonte de plasma indutivamente acoplado (ICP OES) mostrou-se adequado para a determinação simultânea dos elementos minerais para as amostras de farinha de trigo uma vez que os níveis de precisão e exatidão foram satisfatórios.

Os elementos Ca, Cu, Fe, Mn, P e Zn foram determinados usando calibração padrão com ajuste da acidez. Entretanto, foi recomendada a técnica de calibração de adição de analito para determinação de Mg e K para análise de farinha de trigo e detecção por ICP OES.

Os macronutrientes cálcio, potássio, magnésio e fósforo encontrados na composição das 54 amostras de farinha de trigo consumidas em cidades brasileiras apresentaram uma média de concentração de 0,27; 1,33; 0,28 e 1,92 mg g⁻¹ e uma variação de 0,11 – 1,96; 0,59 – 2,45; 0,16 – 0,42 e 0,81 – 7,15 mg g⁻¹, respectivamente. Já os micronutrientes cobre, ferro, manganês e zinco determinados também nas amostras obtiveram uma média de 1,84; 37,82; 8,25 e 9,34 µg g⁻¹ e uma variação de 1,00 – 2,80; 10,46 – 146,58; 3,89 – 14,74 e 5,07 – 13,93 µg g⁻¹, respectivamente.

A análise de componentes principais foi eficiente para mostrar as tendências das amostras de farinha de trigo consumidas em cidades brasileiras. A matriz de dados foi construída com as 54 amostras e 8 variáveis (concentração de Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, P e Zn), em que as três primeiras PC's totalizaram uma variabilidade de 78,70 % dados.

A partir das análises exploratórias utilizando PCA e HCA, pode-se concluir que a farinha de trigo brasileira apresenta uma uniformidade em relação aos elementos Ca, Cu, Fe, Mg, K, Mn, P e Zn, sem a formação de grupos distintos para uma possível classificação.

CAPÍTULO 8

Análise multielementar de farinha de trigo de cidades brasileiras por ICP-MS e técnicas exploratórias de dados

8.1. Equipamentos e materiais utilizados

8.1.1. Instrumentos

- ✓ Um espectrômetro de massa mono-quadrupolar com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS), modelo ELAN 9000 (Perkin Elmer, Norwalk, CT, EUA);
- ✓ Um forno de microondas *ETHOS PLUS* da *Milestone* (Sorisole, Itália) MLS 1200 plus com rotor tipo HPR 600/10 para 10 frascos de digestão (media pressão TFM frascos - 100 mL)

8.1.2. Preparo das soluções

8.1.2.1. Solução utilizada para a daily performance

Uma solução contendo $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Mg, Rh, Ba, Ce, Pb em 2 % (v/v) HNO_3 (Perkin Elmer) é recomendada pelo fabricante e foi utilizada para otimização de parâmetros instrumentais.

8.1.2.2. Solução de ródio e germânio $100 \mu\text{g L}^{-1}$

Mediu-se quantidades apropriadas em micropipeta volumétrica de $100 \mu\text{L}$ de soluções de 10 mg L^{-1} (Perkin Elmer) de ródio e $10,2 \mu\text{L}$ de germânio (Aldrich Chemical Company Inc, $980 \mu\text{g mL}^{-1}$) diluiu-se a 10 mL com água ultrapura e $200 \mu\text{L}$ de HNO_3 para preparo da solução com concentração de $100 \mu\text{g L}^{-1}$.

8.1.2.3. Solução de multielementar de 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$

Mediu-se quantidades apropriadas em pipetas volumétricas a solução padrão multielementar de 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$ contendo Ag, Al, As, Ba, Be, Bi, Cd, Co, Cr, Cs, Cu, Fe, Ga, In, K, Li, Mn, Ni, Pb, Rb, Mo, Se, Sr, Tl, V, U e Zn foram preparadas por diluição apropriada de uma solução estoque multielementar de 10,0 mg L^{-1} (Perkin Elmer).

8.1.2.4. Solução de padrão multielementar

Diluiu-se quantidades apropriadas da solução padrão multielementar de 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$ para 10 mL com água ultrapura e 200 μL de HNO_3 concentrado para o preparo dos padrões de 1, 5, 10, 25, 50 e 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ usado na calibração analítica.

8.2. Amostras

8.2.1. Material de referência certificado

Foi utilizado um material de referencia certificado para confirmar a exatidão:

- Material de referência certificado de farinha de trigo NIST 1567a fornecida pelo National Institute of Standards and Technology, (Gaithersburg, MD, E.U.A.);

8.2.2. Coleta, preparação e conservação das amostras de farinha de trigo

Foram coletadas 25 amostras de farinha de trigo em supermercados das cidades de Salvador (BA), Feira de Santana (BA), Belém (PA), Macapá (AM), Fortaleza (CE), Recife (PE), Rio de Janeiro (RJ), Niterói, (RJ), São Paulo (SP), Poços de Caldas (MG), Brasília (DF), Porto Alegre (RS) e Florianópolis (SC) no período de 01/05/2005 a 13/02/2006. As siglas das amostras conforme a sua cidade de coleta estão apresenta na **Tabela 8.1**. Aproximadamente 100 gramas das amostras foram armazenados individualmente em recipientes de polipropileno, previamente descontaminados com uma solução de ácido nítrico 10% (v/v) durante 24 horas, lavados com água ultrapura e secas. As amostras foram acondicionadas em local seco e sem a incidência da luz.

Tabela 8.1: Siglas das amostras conforme a sua cidade de coleta

Cidade de coleta (Estado)	Sigla da amostra
Brasília – DF	BSB
Feira de Santana - BA	FSA
Florianópolis - SC	PLP
Fortaleza – CE	FTZ
Macapá – AM	MCP
Niterói – RJ	NIT
Poços de Caldas – MG	PDC
Porto Alegre – RS	POA
Recife – PE	REC
Rio de Janeiro – RJ	RIO
Salvador – BA	SSA
São Paulo - SP	SSP

8.3. Procedimentos de digestão assistida por forno de microondas

O programa de aquecimento utilizado para digestão das amostras de farinha de trigo assistida por forno de microondas está apresentado na **Tabela 8.1**. Esse programa foi aplicado para um rotor com 10 frascos reacionais de média pressão. Para uma massa de cerca de 0,5 g de amostra, pesada diretamente nos frascos reacionais, adicionou-se 2,0 mL de ácido nítrico 65% (v/v, Merck) e 1,0 mL de H₂O₂ 30% (v/v). Após resfriamento, os digeridos foram

transferidos para tubos cônicos de 50 mL, sendo adicionado 500 µL da solução multielementar de 1000 µg L de ródio, índio e germano. O tubo foi aferido com água ultra pura. A solução branco foi preparada nas mesmas condições experimentais das amostras digeridas de farinha de trigo e utilizada para calcular os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) do método.

Tabela 8.2: Programa de aquecimento do forno de microondas utilizada para digestão das amostra de farinha de trigo

Etapa	Tempo (min)	Potência (kW)*
1	1	250
2	2	0
3	5	250
4	5	400
5	5	600

* Espera de 10 minutos em ventilação após a última etapa

8.4. Otimização das condições operacionais do ICP-MS

Para otimização do desempenho do espectrômetro de massa com plasma indutivamente acoplado foram feitos testes e ajustes iniciais, visando à obtenção de sinais analíticos altos, associados à baixa formação de óxidos e íons bivalentes. Para esta finalidade, foi aspirada uma solução analítica mista contendo os elementos Mg, Rh, Ba, Ce, Pb na concentração de 10 µg.L⁻¹ de cada (solução recomendada pelo fabricante). Foram verificados os seguintes parâmetros para maximizar as intensidades dos íons M⁺ e para minimizar a formação de óxidos (BaO, CeO): (1) alinhamento e distância tocha-amostrador e (2) vazão do gás nebulizador. As condições operacionais otimizadas estão dispostas na **Tabela 8.3:**

Tabela 8.3: Características operacionais do ICP-MS

Parâmetro	Valor
Potência da rádio freqüência	1,0 Kw
Rádio freqüência	40,00 MHz
Vazão de nebulização	0,80 mL min ⁻¹
Vazão do argônio auxiliar	1,2 L min ⁻¹
Vazão do argônio principal	15 L min ⁻¹
Leitura	<i>Peak hopping</i>
Replicatas	3
Varreduras por leitura	1
Modo de operação do detector	<i>Dual</i>
Resolução	0,7 amu (10% altura pico)
Nebulizador	fluxo cruzado (<i>cross-flow</i>)
Câmara de Nebulização	duplo-passo tipo <i>Scott</i>
Rotação da bomba peristáltica	26 rpm
Tubo injetor da tocha	2,0 mm

8.4.1. Curva de calibração externa

Os isótopos foram selecionados para sua monitoração em amostras de farinha de trigo: ^{6,7}Li, ⁹Be, ²⁷Al, ⁵¹V, ^{52,53}Cr, ⁵⁹Co, ^{58,60}Ni, ^{69,71}Ga, ⁷⁵As, ^{78,82}Se, ^{85,87}Rb, ^{86,88}Sr, ^{6,98}Mo, ^{107,109}Ag, ^{112,114}Cd, ¹³³Cs, ^{137,138}Ba, ^{203,205}Tl, ^{206,208}Pb.

A determinação dos elementos foi utilizada a partir da curva de calibração com padrões aquosos que consistiu na construção de curvas individuais para cada elemento. As calibrações multielementar foram produzidas pela aspiração de soluções com concentrações conhecidas, ajustada a concentração final 2 % (v/v) de ácido nítrico. Foram avaliados o uso dos elementos Rh e Ge como padrão interno.

8.5. Parâmetros analíticos do método analítico

8.5.1. Limites de detecção e de quantificação

A técnica ICP-MS é caracterizada pela alta sensibilidade e baixa detecção instrumental. O limite de detecção (LD) foi calculado a partir de três sigmas do desvio padrão de 10 medidas da concentração do branco equivalente a cada analito. O limite de quantificação (LQ) correspondente ao valor mínimo de concentração do analito com nível de confiança aceitável que pode ser expresso pelo produto de 10 vezes o sigma do desvio padrão da medida concentração do branco.

8.6. Tratamento dos dados

8.6.1. Análise de componentes principais

Usando a composição química determinada na análise das 25 amostras de farinha de trigo de diferentes localidades brasileiras, foi construída a matriz da análise de componentes principais (*Principal Component Analysis* - PCA) partir das 7 variáveis, descritas pelas concentrações dos elementos químicos e os nomes das diversas localidades brasileiras representando as linhas. Empregou-se o autoescalamento.

8.6.2 Análise de agrupamento hierárquico

A matriz de dados para a análise de agrupamento hierárquico (*Hierarchical Cluster analysis* – HCA) foi construída usando a análise dos elementos como colunas e as 25 amostras de farinha de trigo como linhas. O autoescolamento foi aplicado aos dados antes da HCA. A distância Euclidiana como critério de medida da similaridade entre as amostras e o método hierárquico para aglomeramento das amostras. As ligações entre as os agrupamentos foram feitas através do cálculo pelo método de ligação simples.

8.7. Resultados e discussão

8.7.1. Otimização das condições experimentais para análise por ICP-MS

Em geral, a dissolução de amostras sólidas é um dos fatores críticos que está ligada à precisão e a exatidão para a determinação da concentração de elementos de traço em amostras de alimentos. Muitos procedimentos clássicos da dissolução estão disponíveis para a digestão das amostras. Neste estudo foi investigada a digestão da amostra de farinha de trigo assistida por microondas com cavidade fechada e a sua análise por ICP-MS. Os dados das concentrações dos elementos determinados foram avaliados pela análise exploratória de dados.

8.7.1.1. Seleção dos isótopos

Dos isótopos que foram selecionados para sua monitoração em amostras de farinha de trigo, apenas ^{51}V , $^{52,53}\text{Cr}$, $^{58,60}\text{Ni}$, $^{69,71}\text{Ga}$, ^{82}Se , $^{85,87}\text{Rb}$, $^{86,88}\text{Sr}$, $^{96,98}\text{Mo}$, $^{137,138}\text{Ba}$ apresentaram bons resultados.

8.7.1.2. Digestão da amostra de farinha de trigo assistida por microondas

A digestão assistida por microondas em sistemas pressurizados é uma metodologia apropriada para a determinação de quase todos os elementos nas amostras de farinha de trigo, uma vez que os vapores produzidos são condicionados no frasco reacional. É um método alternativo, rápido e simples para digestão de amostras, fornecendo resultados coincidentes com o tratamento por sistemas abertos, no sentido da dissolução completa da amostra para posterior análise por ICP-MS [131]. A dissolução da amostra de farinha de trigo comercial foi realizada em triplicada conforme procedimento da **seção 8.3**. O tratamento da amostra com ácido nítrico favorece a eliminação do Cl que pode formar cloreto de nitrosila, minimizadas estas interferências espectrais no caso da determinação de Cr e Ni [177]

Assim, no estudo relacionado à digestão de uma farinha de trigo comercial, o teste de recuperação foi realizado com a adição de uma concentração de $10\mu\text{ L}^{-1}$ ($1,0\ \mu\text{g g}^{-1}$) e $50\ \mu\text{L}^{-1}$ ($5,0\ \mu\text{g g}^{-1}$) de cada elemento determinado para confirmar a exatidão do método.

Para a correção de variações nas intensidades dos sinais analíticos, devido a efeitos tais como mudanças nas condições de excitação, transporte do analito e outros processos, foram usados ^{103}Rh e ^{74}Ge como padrões internos (P.I.). Foram obtidos bons resultados com ambos elementos, sendo que as porcentagens de recuperações para $10,0\ \mu\text{g L}^{-1}$ variaram de 94 ± 1 a $110 \pm 0,2$ e 96 ± 2 a 112 ± 1 , respectivamente para os padrões internos ^{103}Rh e ^{74}Ge . Para a recuperação de $50,0\ \mu\text{g L}^{-1}$ os valores variaram de 91 ± 3 a 123 ± 2 e 94 ± 2 a 126 ± 3 , respectivamente para os padrões internos Rh e Ge. Os resultados da média, intervalo de confiança e porcentagem de recuperação sem e com padrão interno estão dispostos na **Tabela 8.4**.

A análise do material de referência certificado de farinha de trigo NIST 1567a confirmou a exatidão do método para determinação de Rb, Se e Mo. Os dados foram comparados estatisticamente.

Tabela 8.4: Resultados referentes a recuperação 10 e 50 µg L⁻¹ para todos elementos sem e com adição do padrão interno (n=3).

Elemento (m/z)	Sem padrão interno	Padrão Interno - Rh	Padrão interno - Ge
	%Recuperação	%Recuperação	%Recuperação
¹³⁷ Ba			
10,0 µg L ⁻¹	77 ± 2	98 ± 1	99 ± 0,5
50,0 µg L ⁻¹	77 ± 1	102 ± 1	104 ± 3
¹³⁸ Ba			
10,0 µg L ⁻¹	78 ± 1	99 ± 1	103 ± 2
50,0 µg L ⁻¹	75 ± 2	102 ± 2	104 ± 1
⁵² Cr			
10,0 µg L ⁻¹	75 ± 1	94 ± 1	96 ± 2
50,0 µg L ⁻¹	74 ± 2	97 ± 2	99 ± 0,3
⁵³ Cr			
10,0 µg L ⁻¹	76 ± 0,3	96 ± 0,5	99 ± 1
50,0 µg L ⁻¹	76 ± 1	100 ± 1	102 ± 1
⁶⁹ Ga			
10,0 µg L ⁻¹	81 ± 0,5	103 ± 1	105 ± 1
50,0 µg L ⁻¹	78 ± 1	101 ± 2	103 ± 2
⁷¹ Ga			
10,0 µg L ⁻¹	81 ± 0,3	102 ± 0,4	105 ± 1
50,0 µg L ⁻¹	78 ± 1	101 ± 1	103 ± 1
⁵⁸ Ni			
10,0 µg L ⁻¹	80 ± 0,3	100 ± 0,1	103 ± 1
50,0 µg L ⁻¹	75 ± 2	98 ± 3	100 ± 1
⁶⁰ Ni			
10,0 µg L ⁻¹	78 ± 0,5	97 ± 0,4	99 ± 1
50,0 µg L ⁻¹	76 ± 1	93 ± 1	99 ± 1
⁸⁵ Rb			
10,0 µg L ⁻¹	85 ± 1	104 ± 2	109 ± 2
50,0 µg L ⁻¹	80 ± 2	105 ± 1	108 ± 3
⁸⁷ Rb			
10,0 µg L ⁻¹	87 ± 2	110 ± 1	112 ± 1
50,0 µg L ⁻¹	82 ± 4	107 ± 3	109 ± 2
⁸⁶ Sr			
10,0 µg L ⁻¹	82 ± 0,5	104 ± 1	106 ± 1
50,0 µg L ⁻¹	81 ± 2	105 ± 3	107 ± 1
⁸⁸ Sr			
10,0 µg L ⁻¹	87 ± 0,5	110 ± 2	112 ± 1
50,0 µg L ⁻¹	81 ± 2	106 ± 3	108 ± 1
⁸² Se			
10,0 µg L ⁻¹	77 ± 0,4	96 ± 2	106 ± 1
50,0 µg L ⁻¹	75 ± 2	91 ± 3	94 ± 2
⁵¹ V			
10,0 µg L ⁻¹	77 ± 2	98 ± 0,4	99 ± 1
50,0 µg L ⁻¹	70 ± 3	98 ± 1	100 ± 2
⁹⁶ Mo			
10,0 µg L ⁻¹	84 ± 0,2	107 ± 0,6	109 ± 1
50,0 µg L ⁻¹	95 ± 1	124 ± 1	127 ± 3
⁹⁸ Mo			
10,0 µg L ⁻¹	83 ± 0,5	104 ± 0,6	107 ± 1
50,0 µg L ⁻¹	95 ± 3	123 ± 2	126 ± 3

Tabela 8.5: Análise do material de referência certificado de farinha de trigo NIST 1567a por ICP-MS

Elemento (m/z)	Sem padrão interno		Padrão Interno - Rh -		Padrão Interno - Ge -		
	Valor Certificado ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Valor encontrado ($\mu\text{g g}^{-1}$)* (n=3)	%Concordância	Valor Certificado ($\mu\text{g g}^{-1}$)* (n=3)	%Concordância	Valor encontrado ($\mu\text{g g}^{-1}$)* (n=3)	%Concordância
⁸⁵ Rb	0,68 ± 0,03	0,60 ± 0,01	89 ± 1	0,70 ± 0,02	103 ± 3	0,73 ± 0,03	107 ± 5
⁸⁶ Rb	0,68 ± 0,03	0,59 ± 0,01	86 ± 2	0,76 ± 0,03	112 ± 5	0,80 ± 0,03	117 ± 4
⁸² Se	1,1 ± 0,2	1,0 ± 0,1	90 ± 10	1,4 ± 0,1	123 ± 14	1,4 ± 0,1	128 ± 9
⁹⁶ Mo	0,48 ± 0,03	0,44 ± 0,01	92 ± 1	0,51 ± 0,01	106 ± 2	0,54 ± 0,03	112 ± 5
⁹⁸ Mo	0,48 ± 0,03	0,44 ± 0,01	92 ± 1	0,51 ± 0,01	106 ± 2	0,54 ± 0,03	112 ± 6

*Media ± intervalo de confiança com nível de 95% de confiabilidade.

Os valores da **Tabela 8.5** foram comparados estatisticamente e não apresentaram diferença significativa no nível de 95%. O Teste t com dados pareados foi aplicado para os resultados obtidos para dois elementos usados como padrão interno na análise do material de referência certificado de farinha de trigo NIST 1567a. O valor absoluto de $t_{\text{calculado}}$ foram 1,734 e 2,502, respectivamente para Rh e Ge, com 4 graus de liberdade (n=5) e t_{tabelado} igual a 2,776.

8.7.1.3. Escolha do padrão interno

A **Figura 8.1** representa a comparação pela análise de regressão linear aplicada aos valores de concentração dos isótopos monitorados na amostra comercial. Os valores obtidos do coeficiente de angular (**a**), coeficiente de correlação (**R**) e o intercepto da reta (**b**) mostram-se ideais ($a = 1$, $R = 1$ e $b = 0$) confirmando que não existe diferença significativa entre os valores encontrados para ambos os padrões internos.

O padrão interno (P.I.) escolhido foi ^{74}Ge , apesar do ^{103}Rh ser muito reportado na literatura [168], devido ser um monoisótopo. A escolha do germano como P.I. deu-se porque ele é um elemento que apresenta isótopo com massa/carga média próxima aos demais elementos determinados.

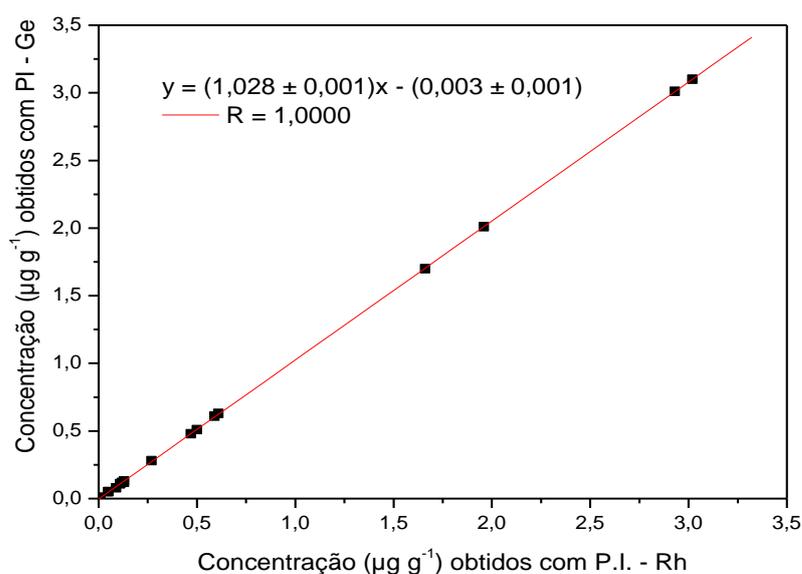


Figura 8.1: Análise de regressão linear entre as concentrações dos elementos químicos obtidas pelo uso dos padrões internos Rh e Ge

8.7.2. Avaliação do potencial das interferências espectrais

Matrizes biológicas e ambientais, geológicas, entre outras, podem ser analisadas por ICP-MS. Entretanto, prováveis interferências espectrais envolvidas nas determinações têm sido investigadas para não levar a resultados errôneos [178, 179, 180].

O uso de materiais de referências certificados é satisfatório para confirmar a exatidão de métodos analíticos e seus respectivos resultados, inclusive, em procedimentos desenvolvidos em ICP-MS, que é requisitado para avaliar prováveis interferências espectrais e não espectrais geradas pela matriz. No entanto, são raras as amostras analisadas que apresentam material de referência igual ou similar com todos elementos que se queira validar.

Na **Tabela 8.6** pode-se observar claramente a variação de concentração para os elementos que sofrem de interferências espectrais (^{52}Cr e ^{53}Cr , ^{69}Ga e ^{71}Ga , ^{58}Ni e ^{60}Ni) devido a composição da matriz já descrita na literatura [178, 179, 180].

Tabela 8.6: Determinação de Ba, Cr, Ga, Ni, Rb, Ni, V e Mo na amostra de farinha de trigo por ICP-MS.

	Sem padrão interno	Padrão Interno - Rh	Padrão interno - Ge
Elemento (m/z)	Valor encontrado ($\mu\text{g g}^{-1}$)*	Valor encontrado ($\mu\text{g g}^{-1}$)*	Valor encontrado ($\mu\text{g g}^{-1}$)*
¹³⁷ Ba	2,33 ± 0,04	2,93 ± 0,15	3,01 ± 0,08
¹³⁸ Ba	2,34 ± 0,09	3,02 ± 0,69	3,10 ± 0,19
⁵² Cr	0,35 ± 0,03	0,47 ± 0,01	0,48 ± 0,04
⁵³ Cr	0,085 ± 0,031	0,13 ± 0,08	0,12 ± 0,04
⁶⁹ Ga	0,042 ± 0,004	0,053 ± 0,018	0,054 ± 0,003
⁷¹ Ga	***	0,009 ± 0,002	0,011 ± 0,002
⁵⁸ Ni	0,39 ± 0,07	0,50 ± 0,37	0,51 ± 0,07
⁶⁰ Ni	0,048 ± 0,003	0,273 ± 0,011	0,277 ± 0,002
⁸⁵ Rb	1,56 ± 0,04	1,96 ± 0,15	2,01 ± 0,07
⁸⁶ Rb	1,55 ± 0,05	1,66 ± 0,04	1,70 ± 0,01
⁸⁶ Sr	0,47 ± 0,02	0,59 ± 0,05	0,61 ± 0,01
⁸⁸ Sr	0,49 ± 0,02	0,61 ± 0,01	0,63 ± 0,01
⁸² Se	0,063 ± 0,053	0,091 ± 0,027	0,084 ± 0,065
⁵¹ V	0,038 ± 0,008	0,049 ± 0,007	0,054 ± 0,007
⁹⁶ Mo	0,089 ± 0,004	0,12 ± 0,01	0,119 ± 0,003
⁹⁸ Mo	0,088 ± 0,004	0,11 ± 0,01	0,115 ± 0,002

*Média ± intervalo de confiança com 95% de confiabilidade

No presente estudo, os elementos Ba, Ga, Sr, V, Cr e Ni não foram possível confirmar a sua exatidão, devido o material de referência certificado de farinha de trigo NIST 1567a não os conter. Mas, a literatura foi reportada com o objetivo de averiguar os isótopos recomendados para monitorá-los na composição da farinha de trigo consumida em cidades brasileiras.

Foram encontrados dois trabalhos com igual importância, os quais serão utilizados para estabelecer quais isótopos devem ser utilizados na análise das farinhas de trigo.

No primeiro trabalho, Wu e colaboradores [181] estudaram possíveis interferências em seis materiais de referência certificados de plantas e grãos (folhas de maçã NIST 1515, folhas de pêssigo NIST 1547, folhas de tomate NIST 1573 e agulhas de pinho NIST 1575) e grãos (farelo de milho NIST 8433 e farinha de trigo durum NIST 8436), sendo digeridos pela radiação por forno de microondas com cavidade fechada. Foi utilizado HNO₃ ou a mistura HNO₃-H₂O₂ como reagente oxidante. As interferências do C, Cl, Ca, K, Mg, P e S estão ligados na exatidão dos resultados dos 26 elementos, Al, As, B, Ba, Ca, Cd, Co,

Cr, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mo, Ni, Pb, Sb, Se, Sn, Sr, Ti, Tl, Th, U, V e Zn nas diferentes matrizes analisadas.

Neste estudo, os pesquisadores citam uma tabela básica de interferências relacionadas ao sinal de fundos dos reagentes ($\text{HNO}_3\text{-H}_2\text{O}_2$) e da matriz de amostras biológicas. No procedimento concluíram que o uso do HNO_3 ou a mistura $\text{HNO}_3\text{-H}_2\text{O}_2$ em forno de microondas com cavidade fechada favorece a determinação de elementos traço por ICP-MS em plantas e grãos. Os sinais de fundos dos interferentes foram subtraídos dos sinais do branco. As interferências de íons poliatômicos, especialmente do combinados com Ca^+ , Cl^+ e C^+ , provenientes das matrizes das amostras, podem ser corrigidos, eliminados ou reduzidos aplicando as equações de correção do programa computacional do equipamento.

Entretanto, os elementos de interesse deste trabalho que não foram validados, como ^{51}V , ^{53}Cr e ^{60}Ni , o uso das equações de correção foi apropriado para confirmar a exatidão do método proposto por Wu e colaboradores. Foi observada boa concordância entre os valores encontrados e certificados, somente para ^{51}V e ^{53}Cr sem o uso da correção. Nos materiais de referência certificados de plantas foram verificadas baixas concordâncias nas concentrações de ^{60}Ni , mesmo com o uso das equações.

Por outro lado, os materiais de referência certificados de grão apresentaram boa concordância para os valores encontrados para ^{51}V , ^{86}Sr , ^{137}Ba , menos o ^{82}Se e ^{60}Ni , que obteve somente para NIST 8436. Ambos materiais de referência apresentam composição da matriz igual e similar da de farinha de trigo. Cabe ressaltar, que o ^{58}Ni sofre interferências espectrais do ^{58}Fe (0,33%) e $^{42}\text{Ca}^{16}\text{O}$ (^{42}Ca , 0,639%). O ^{86}Sr que apresenta interferência pelo íon poliatômico isobárico $^{12}\text{C}^{37}\text{Cl}_2^+$. O elemento alcalino terroso, ^{137}Ba apresentou boa exatidão para todos os materiais de referência que o constituía.

No segundo trabalho, Feng e colaboradores [182] exploraram a dissolução de folhas de plantas e grãos, usado HNO_3 , $\text{HNO}_3\text{-HF}$ e $\text{HNO}_3\text{-HF-H}_3\text{BO}_3$ no processo digestão por microondas. Os materiais de referência certificados NIST incluíram folha de maçã (1515), folha de pêssego (1547), folha de tomate (1573), agulhas de pinho (1575), farinha de trigo (1567a) e farinha de arroz (1568a). Foram determinados 30 elementos, Al, As, B, Ba, Ca, Cd, Co, Cr,

Cu, Fe, Hg, K, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, P, Pb, S, Sb, Se, Si, Sr, Th, Ti, Tl, U, V e Zn. Os estudos advertem prováveis interferentes provenientes das matrizes biológicas para ^{82}Se ($^{12}\text{C}^{35}\text{Cl}_2^+$, $^{66}\text{Zn}^{16}\text{O}^+$, $^{81}\text{BrH}^+$). Os isótopos ^{137}Ba , ^{53}Cr , ^{51}V , ^{86}Sr apresentaram valores com boa exatidão para o uso dos referidos reagentes na decomposição das matrizes das amostras. As concentrações de ^{60}Ni nas amostras foram calculadas a partir da equação de correção.

Com o sistema de digestão $\text{HNO}_3\text{--HF}$ para 25 elementos (Al, As, B, Ba, Ca, Co, Cd, Cr, Cu, Fe, Hg, Mg, Mn, Mo, Ni, Pb, Sb, Se, Sr, Th, Ti, Tl, U, V e Zn) nos materiais de referência certificados NIST 1547, 1573, 1515, 1575, 1567a e 1568^a, as concordâncias variaram de 85–115%. Já o uso da digestão envolvendo somente o HNO_3 para os isótopos como ^{137}Ba , ^{53}Cr , ^{86}Sr e ^{51}V a concordância foi satisfatória (94,8 a 109%), até mesmo para ^{60}Ni (101%), mas com o uso da equação de correção.

Santos e colaboradores determinaram a concentração de Cd, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb, U e Zn em vários gêneros alimentícios consumidos por adultos na cidade do Rio de Janeiro por ICP-MS. Dentre eles está a farinha de trigo. A exatidão do método proposto foi confirmada pela análise de dois MRC's (planta do mar IAEA-140/TM e a agulha de pino NIST 1575) para todos os elementos supracitados. Entretanto, não foi citado qual isótopo foi selecionado para o cálculo da concentração para Cr e Ni, uma vez que o trabalho monitorou o ^{52}Cr , ^{53}Cr , ^{60}Ni e ^{62}Ni [138].

Entre os materiais de referência certificados de folhas de plantas e grãos, não foi encontrada nenhuma referência para determinação do elemento químico gálio. No estudo da análise da composição da farinha de trigo foi determinada a concentração para seus isótopos ^{69}Ga (60,16%) e ^{71}Ga (39,84%). Existe uma escassez de materiais de referência certificados para esse elemento químico em geral. Barany e colaboradores desenvolveram um método para determinação multielementar em amostras biológicas diluídas e detecção por ICP-MS, incluindo gálio. Entretanto, o trabalho não discute sobre prováveis interferências referentes ao isótopo ^{71}Ga [183].

Em outro trabalho, Gouille e colaboradores desenvolveram e validaram um procedimento único de preparo para sangue humano, plasma, urina e cabelo na determinação de metal e metalóides, inclusive gálio. No entanto, o estudo não

faz referência a interferências espectrais nas suas discussões, sem os isótopos monitorados. A validação do procedimento foi feita por um programa de interlaboratorial [184].

Jarvis e colaboradores ressaltam o número de potenciais interferências na formação de íons poliatômicos a partir dos íons Fe^+ e Mn^+ . Dentre os isótopos que sofrem esse fenômeno, eles citam ^{71}Ga ($^{55}\text{Mn}^{16}\text{O}^+$) e ^{72}Ge ($^{55}\text{Mn}^{16}\text{OH}^+$ e $^{56}\text{Fe}^{16}\text{O}^+$). A correção para ^{71}Ga não seria eficiente na presença de elevadas concentrações de Mn, sendo preferível o uso do ^{69}Ga . Entretanto, os autores relatam que amostras contendo também bário com na razão Mn:Ba igual a 100:1, uma contribuição significativa é feita ao pico de ^{69}Ga devido $^{138}\text{Ba}^{2+}$ [131].

Cabe ressaltar também os isótopos ^{96}Mo ($^{39}\text{K}^{41}\text{K}^{16}\text{O}^+$), ^{98}Mo (^{98}Ru , $^{41}\text{K}^{16}\text{O}^+$), $^{63}\text{Cu}^{35}\text{Cl}$ sofrem com a formação de íon isóbaros elementares e poliatômicos.

Enfim, a discussão feita em relação aos isótopos ^{51}V , ^{52}Cr , ^{53}Cr , ^{58}Ni , ^{60}Ni , ^{69}Ga , ^{71}Ga e ^{137}Ba e suas prováveis interferências espectrais e suas respectivas recuperações obtidas pelo método de digestão assistida por forno de microondas com cavidade fechada (**Tabela 8.6**), leva a seleção de ^{51}V , ^{53}Cr e ^{137}Ba para o monitoramento dos mesmos nas amostras de farinha de trigo. Como não houve diferença significativa entre os valores encontrados de ^{137}Ba e ^{138}Ba nas amostras será considerado o mais abundante dos isótopos no estudo.

8.7.3. Parâmetros de mérito

8.7.3.1. Limite de detecção e de quantificação

Interferências de ionização e o efeito de transporte podem ocasionar erros em função da calibração externa em ICP-MS. Essa técnica de calibração envolve o preparo de padrões contendo concentrações crescentes dos analitos de interesse em um solvente. A resposta normalmente assume um comportamento linear, porém muitas imprecisões podem ocorrer uma vez que as soluções com os padrões não representam a exatamente matriz.

Uma das técnicas mais amplamente utilizadas em ICP-MS é a calibração externa com padrão interno. Esta possibilita correção das interferências não

espectrais ocasionadas pelos concomitantes da solução. Foi escolhida como técnica de calibração externa com adição de Ge ($10 \mu\text{g L}^{-1}$) como padrão interno para as determinações de Ba, Cr, Rb, Sr, V, Mo e Se em amostras de farinha de trigo ICP-MS por digestão assistida por microondas. Os parâmetros de mérito são apresentados na **Tabela 8.7**.

Tabela 8.7: Limite de detecção e quantificação para Ba, Cr, Rb, Sr, V, Mo e Se por ICP-MS.

Elemento (m/z)	LD*	LQ*	LD**	LQ**
¹³⁸ Ba	$0,6 \mu\text{g L}^{-1}$	$1,7 \mu\text{g L}^{-1}$	$0,06 \mu\text{g g}^{-1}$	$0,17 \mu\text{g g}^{-1}$
⁵³ Cr	$0,1 \mu\text{g L}^{-1}$	$0,3 \mu\text{g L}^{-1}$	10 ng g^{-1}	32 ng g^{-1}
⁸⁵ Rb	$0,05 \mu\text{g L}^{-1}$	$0,20 \mu\text{g L}^{-1}$	6 ng g^{-1}	19 ng g^{-1}
⁸⁶ Sr	$0,6 \mu\text{g L}^{-1}$	$2,0 \mu\text{g L}^{-1}$	$0,06 \mu\text{g g}^{-1}$	$0,2 \mu\text{g g}^{-1}$
⁵¹ V	$0,05 \mu\text{g L}^{-1}$	$0,2 \mu\text{g L}^{-1}$	5 ng g^{-1}	16 ng g^{-1}
⁸² Se	$0,1 \mu\text{g L}^{-1}$	$0,3 \mu\text{g L}^{-1}$	11 ng g^{-1}	35 ng g^{-1}
⁹⁸ Mo	$0,04 \mu\text{g L}^{-1}$	$0,14 \mu\text{g L}^{-1}$	4 ng g^{-1}	14 ng g^{-1}

* Concentração calculada a partir $n = 10$ da solução do branco com volume final de 50 mL.

** Concentração calculada a partir $n = 10$ da solução do branco relacionada com a massa de amostra de 0,5 g com volume final de 50 mL.

O método proposto apresentou LOD e LOQ na ordem de ng g^{-1} e $\mu\text{g g}^{-1}$, dependendo da abundância do elemento na natureza, esses parâmetros podem ser considerados adequados para as determinações.

8.7.3.2. Precisão

Esta foi expressa como desvio relativo padrão (%RSD) e determinada pela repetitividade com três análises de duas amostras com concentrações diferentes e pertinentes à análise para cada elemento determinado (**Tabela 8.8**). Concentrações baixas a precisão variou de 0,4 a 25%. Concentrações mais elevadas os valores encontrados variaram de 2,4 a 11%. Estes valores são aceitáveis para a determinação de elementos traço por ICP-MS.

Tabela 8.8: Desvio padrão relativo dos sete elementos determinados na amostra de farinha de trigo por ICP-MS:

Elementos	Média ($\mu\text{g g}^{-1}$)*	%RSD (n=3)	Média ($\mu\text{g g}^{-1}$)*	%RSD (n=3)
Ba	1,71	1,7	10,83	2,4
Cr	0,060	11	0,307	5,6
Rb	0,77	0,8	4,23	4,9
Sr	0,61	0,4	5,72	11
V	0,023	25	0,108	9,4
Se	0,058	15	0,952	8,3
Mo	0,115	0,7	0,684	8,2

Essas faixas de precisão são consideradas satisfatórias para o método proposto para as determinações por ICP-MS.

8.7.4. Determinação de micronutrientes e elementos traço em farinha de trigo usando ICP-MS

Selecionou-se o isótopo com menor potencial de interferência para determinação multielementar das concentrações de bário, cromo, rubídio, estrôncio, vanádio, selênio e molibdênio (**Tabela 8.9**) empregando ICP-MS, conforme os parâmetros operacionais da **Tabela 8.3**.

Tabela 8.9: Isótopo e sua respectiva abundância*

Elemento (m/z)	Abundância (%)
Ba (138)	71,66
Cr (53)	9,50
Rb (85)	72,15
Sr (86)	9,86
V (51)	99,76
Se (82)	8,73
Mo (98)	24,13

* Referências [131,168]

8.7.4.1. Valores de Ba, Cr, Rb, Sr, V, Se e Mo na farinha de trigo brasileira

Na **Tabela 8.10** está sumariamente os resultados obtidos para os elementos determinados nas 25 amostras de farinha de trigo apresentado na forma de média, mediana, variação e o desvio padrão das concentrações de Ba, Cr, Rb, Sr, V, Se e Mo pela análise por ICP-MS. O resultado completo das médias e seus respectivos intervalos de confiança de todas as amostras está disposto na **Tabela 8.11**

Tabela 8.10. Média, variação e desvio padrão das concentrações das encontradas nas 25 amostras de farinha de trigo por ICP-MS (n =3)*:

Elementos	Média ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Mediana ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Varição ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Desvio padrão ($\mu\text{g g}^{-1}$)
Ba	2,92	2,79	1,71 – 10,83	1,71
Cr	0,135	0,131	0,060 – 0,307	0,049
Rb	2,28	2,24	0,77 – 4,23	1,05
Sr	1,13	0,90	0,61 – 5,72	1,00
V	0,044	0,038	0,023 – 0,108	0,020
Se	0,325	0,257	0,058 – 0,952	0,239
Mo	0,359	0,310	0,115 – 0,684	0,154

Tabela 8.11. Resultados de Ba, Cr, Rb, Sr, V, Se e Mo para 25 amostras de trigo consumidas em cidades brasileiras (n=3)*.

LOCAL	Ba ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Cr ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Rb ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Sr ($\mu\text{g g}^{-1}$)	V ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Se ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Mo ($\mu\text{g g}^{-1}$)
BEL1	3,10 \pm 2,52	0,243 \pm 0,119	4,23 \pm 1,88	1,09 \pm 0,19	0,108 \pm 0,091	0,117 \pm 0,047	0,378 \pm 0,174
BSB1	10,83 \pm 2,36	0,307 \pm 0,042	1,97 \pm 0,49	5,72 \pm 1,57	0,093 \pm 0,014	0,257 \pm 0,115	0,684 \pm 0,139
FLP1	2,79 \pm 0,16	0,142 \pm 0,020	3,67 \pm 0,13	0,66 \pm 0,03	0,037 \pm 0,003	0,087 \pm 0,034	0,305 \pm 0,008
FLP2	2,75 \pm 0,21	0,103 \pm 0,004	2,74 \pm 0,16	0,63 \pm 0,06	0,037 \pm 0,006	0,200 \pm 0,011	0,198 \pm 0,021
FSA2	1,70 \pm 0,06	0,150 \pm 0,019	0,78 \pm 0,05	0,84 \pm 0,06	0,037 \pm 0,007	0,410 \pm 0,048	0,502 \pm 0,021
FSA4	2,98 \pm 0,04	0,103 \pm 0,004	2,57 \pm 0,13	0,77 \pm 0,05	0,061 \pm 0,012	0,166 \pm 0,032	0,276 \pm 0,009
FTZ1	2,69 \pm 0,12	0,123 \pm 0,035	2,58 \pm 0,16	0,63 \pm 0,03	0,034 \pm 0,007	0,083 \pm 0,016	0,252 \pm 0,018
MCP1	2,82 \pm 0,10	0,138 \pm 0,007	2,50 \pm 0,10	0,76 \pm 0,03	0,045 \pm 0,006	0,126 \pm 0,017	0,308 \pm 0,017
MCP2	2,80 \pm 0,19	0,126 \pm 0,051	2,51 \pm 0,12	0,67 \pm 0,10	0,042 \pm 0,013	0,106 \pm 0,021	0,302 \pm 0,028
NIT3	2,80 \pm 0,70	0,139 \pm 0,009	3,31 \pm 0,62	1,29 \pm 0,23	0,059 \pm 0,011	0,573 \pm 0,180	0,117 \pm 0,025
NIT4	2,12 \pm 0,04	0,131 \pm 0,003	0,93 \pm 0,02	0,94 \pm 0,02	0,027 \pm 0,002	0,526 \pm 0,059	0,522 \pm 0,016
NIT6	1,98 \pm 0,10	0,139 \pm 0,015	0,84 \pm 0,04	0,90 \pm 0,05	0,028 \pm 0,004	0,501 \pm 0,119	0,526 \pm 0,016
PDC2	2,98 \pm 0,04	0,060 \pm 0,008	3,03 \pm 0,09	1,50 \pm 0,01	0,028 \pm 0,009	0,058 \pm 0,021	0,231 \pm 0,007
POA1	3,16 \pm 0,25	0,091 \pm 0,016	3,16 \pm 0,23	1,07 \pm 0,11	0,040 \pm 0,008	0,493 \pm 0,103	0,328 \pm 0,046
POA3	2,33 \pm 0,05	0,136 \pm 0,019	2,24 \pm 0,08	0,86 \pm 0,08	0,029 \pm 0,005	0,483 \pm 0,128	0,287 \pm 0,008
REC2	2,20 \pm 0,06	0,144 \pm 0,052	2,01 \pm 0,10	0,85 \pm 0,05	0,054 \pm 0,011	0,403 \pm 0,170	0,307 \pm 0,005
RIO2	2,83 \pm 0,81	0,078 \pm 0,012	1,04 \pm 0,05	1,74 \pm 0,35	0,050 \pm 0,009	0,625 \pm 0,204	0,581 \pm 0,031
RIO3	2,49 \pm 0,16	0,138 \pm 0,084	0,87 \pm 0,06	1,37 \pm 0,05	0,023 \pm 0,015	0,725 \pm 0,325	0,674 \pm 0,034
SSA3	2,11 \pm 0,13	0,139 \pm 0,016	1,97 \pm 0,06	0,92 \pm 0,03	0,037 \pm 0,003	0,236 \pm 0,075	0,329 \pm 0,019
SSA4	2,53 \pm 0,10	0,125 \pm 0,013	2,24 \pm 0,15	1,07 \pm 0,05	0,035 \pm 0,009	0,297 \pm 0,021	0,369 \pm 0,013
SSA5	2,00 \pm 0,19	0,151 \pm 0,040	1,44 \pm 0,08	1,01 \pm 0,10	0,038 \pm 0,005	0,952 \pm 0,196	0,340 \pm 0,028
SSP2	3,21 \pm 0,11	0,125 \pm 0,032	4,01 \pm 0,07	0,68 \pm 0,01	0,035 \pm 0,008	0,111 \pm 0,043	0,298 \pm 0,010
SSP3	1,72 \pm 0,11	0,127 \pm 0,018	0,77 \pm 0,02	0,94 \pm 0,06	0,026 \pm 0,006	0,397 \pm 0,184	0,503 \pm 0,016
SSP4	3,10 \pm 0,19	0,124 \pm 0,036	2,01 \pm 0,07	0,61 \pm 0,01	0,051 \pm 0,007	0,085 \pm 0,064	0,115 \pm 0,002
SSP5	2,98 \pm 0,24	0,089 \pm 0,015	3,67 \pm 0,11	0,84 \pm 0,07	0,045 \pm 0,005	0,118 \pm 0,045	0,226 \pm 0,020

*Média \pm intervalo de confiança com 95% de confiança.

8.7.5. Tratamento dos dados multivariados

Usando a composição mineral encontrada na farinha de trigo analisada por ICP-MS foram aplicadas as análises de componentes principais (PCA) e a análise de agrupamento hierárquico (HCA) para estabelecer se existem grupos definidos entre as amostras comercializadas em cidades brasileiras. Uma matriz inicial de dados foi construída usando os elementos analisados como colunas e linhas como as amostras de farinha de trigo, ou seja, 07 elementos (Ba, Cr, Rb, Sr, V, Se e Mo) e as 25 amostras. Os dados foram autoescalonados. A distância euclidiana foi utilizada para calcular as similaridades entre as amostras. O procedimento de aglomeramento hierárquico foi utilizado para estabelecer os agrupamentos, com o método de ligação Ward's.

Em avaliação preliminar foi observado que as amostras de farinha de trigo BEL1 e BSB1 apresentaram comportamento atípico em relação ao restante das amostras, sendo excluídas das discussões a seguir, reduzindo a quantidade para 23 amostras.

8.7.5.1. Análise de componentes principais

A matriz dos dados para análise de componentes principais (PCA) foi realizada através das 23 amostras de farinha de trigo envolvendo concentração de Ba, Cr, Rb, Sr, V, Se e Mo (7 variáveis). Como apresentado na **Tabela 8.12**, foi observada que as duas primeiras componentes principais (PCs) representa 71,4% da variabilidade total dos dados.

Tabela 8.12: Pesos das variáveis das duas primeiras componentes principais

Variáveis	PC1	PC 2
Ba	0,838	0,376
Cr	-0,435	-0,778
Rb	0,893	0,001
Sr	-0,358	0,869
V	0,525	0,051
Se	-0,755	0,243
Mo	-0,852	0,219
% Total de variância	48,4	23,0
% Acúmulo de variância	48,4	71,4

A análise de componentes principais foi realizada a partir dos pesos originais das duas primeiras componentes principais. Na primeira componente principal (PC1), as variáveis dominantes foram Rb, Sr, Mo e Se com os maiores valores dos pesos (em módulo), que representaram 48,0% da variância total, enquanto Sr, V e Cr mostraram os valores mais baixos.

Estas variáveis dominantes aparecem na PC1, em valores positivos para Rb e Ba, e valores negativos para Mo e Se, sendo todos muito próximos os valores em módulo. A partir deste fato, pode-se inferir que eles fornecem o mesmo tipo de informação, ou seja, uma correlação nas concentrações desses elementos nas amostras de farinha de trigo consumidas nas cidades brasileiras. Como os sinais dos valores dos pesos são opostos, tem-se uma correlação inversamente proporcional.

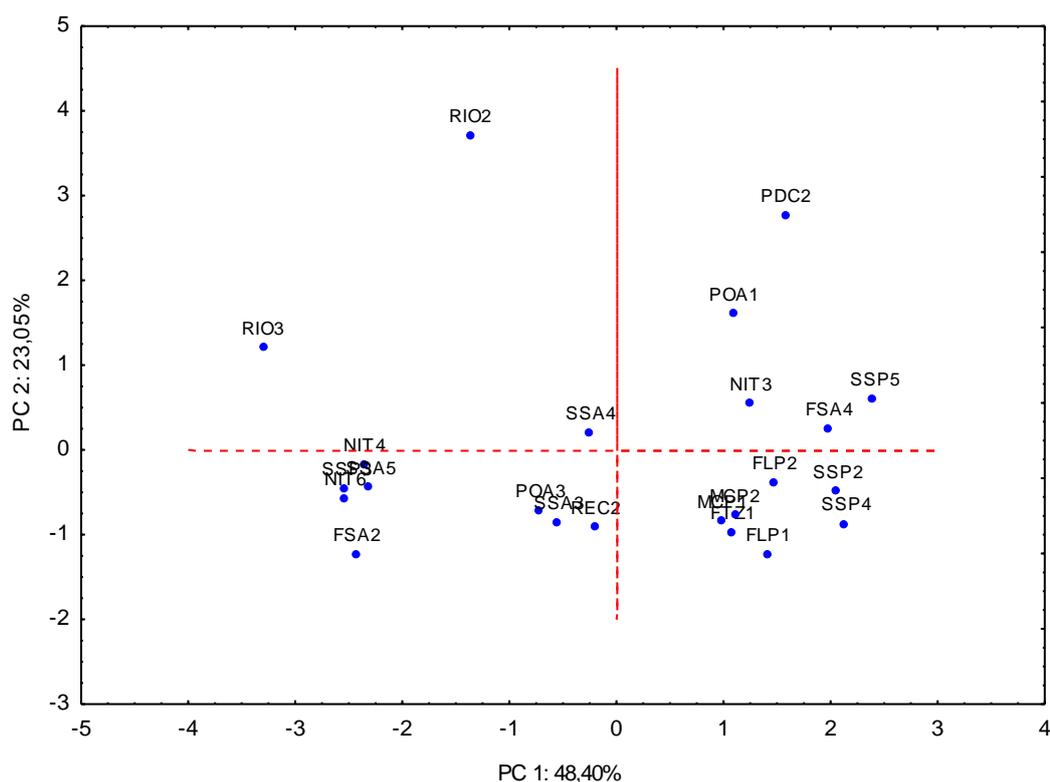


Figura 8.2. Gráfico de escores da PC1 versus PC2 com relação para as amostras de farinhas de trigo brasileira

Examinando a **Figura 8.2**, sobre o eixo da PC1 são projetadas três grupos. O primeiro grupo, à direita, são as amostras aglomeradas pela concentração de Rb e Ba. O terceiro grupo apresenta a predominância das concentrações dos elementos Mo e Se. O segundo grupo, no centro do gráfico, nada se pode afirmar sobre os elementos que governam a PC1.

A segunda componente principal (PC2) explica até 23,0% da variância total. Os pesos de Sr e Cr são os mais dominantes nesta PC, positivo e negativo, respectivamente. As amostras RIO2, RIO3, POA1 e PDC2 apresentam alta concentração de estrôncio, destacando-se das demais amostras. A concentração de cromo nas amostras é inversamente proporcional, quando se desloca no eixo de cima para baixo.

As duas primeiras componentes principais são responsáveis por 71,4% da variância total e foram considerados como suficientes para esses dados. A PCA mostra que a composição mineral poderia fornecer informações suficientes para desenvolver uma classificação para das farinhas de trigo em cidades brasileiras. Foram criadas classes conforme as marcas localizadas nas embalagens, mas não houve sucesso para um agrupamento mais específico para amostras, além do observado através da concentração dos elementos determinados por ICP-MS.

Como já foi citado, a presença dos elementos químicos está ligada à necessidade da planta de absorver macronutrientes (Ca, K, Mg, P, S) e micronutrientes (B, Cl, Cu, Fe, Mn, Mo e Zn) para o seu desenvolvimento, podendo estar influenciadas por vários fatores, como o tipo de solo, prática de fertilizantes, clima e/ou processo de produção [3]. Além dos elementos essenciais, existem os elementos benéficos (sílica, sódio, cobalto e selênio). Estes elementos que promovem o crescimento em várias plantas, mas não são absolutamente necessários para que se complete o seu ciclo de vida. Outros elementos que foram propostos como candidatos a elemento essencial ou benéfico incluem o cromo, vanádio e titânio, mas ainda faltam informações ou evidências suficientemente fortes [185].

Melamed e colaboradores estudaram o uso de carbonatitos como fertilizante em solos tropicais, discutindo mecanismos fisiológicos e de absorção de nutrientes pelas plantas [186]. O estudo foi aplicado na seqüência de cultivo

da soja-tomate-soja-milho. Este trabalho tem como base o estudo feito por Otero e colaboradores, no qual foram analisadas 27 amostras de fertilizantes de carbonatitos e fosfato com o interesse de aumento de informações a respeito do impacto químico de atividades agrícolas no ambiente, com o intuito de identificar contaminadores, e/ou caracterizar as fontes da contaminação. Ambos os estudos demonstram que a absorção dos elementos pela planta está associada às concentrações dos mesmos, encontrados nos fertilizantes, como é o caso do Ba, Sr, Ni, Cr, Rb, Th e outros. No Brasil não existe uma legislação estabelecida sobre a regulamentação dos valores desses elementos nos materiais agrícolas [187].

Cunha e colaboradores, que investigaram em solos bauxíticos como nos fonolíticos a presença de estrôncio e bário na relação solo/planta, explicam que estes elementos apresentam-se tipicamente como biogênicos², mesmo não sendo essenciais, indicando que a sua disponibilidade para a planta, tanto quanto nos solos é alta. Isto porque, dada a elevada mobilidade desses elementos, eles tendem a permanecer em solução e são, portanto, mais facilmente absorvidos pela espécie vegetal [188].

8.7.5.2. Análise de agrupamento hierárquico

Nesta análise, o método Ward's foi usado como procedimento de agrupamento hierárquico como medida interponto através da distância Euclideana. Os dados foram autoescalados. Os resultados obtidos mostraram a presença de três conjuntos de amostras de farinha de trigo. Os resultados obtidos esta representado pelo dendrograma na Figura 8.3.

Os valores determinados dos micronutrientes e os elementos traço mostram a informação dimensional com um grau de similaridade de 0,76 entre os três agrupamentos formados pelas amostras de farinha de trigo complementando as informações obtidas na PCA.

² Elementos biogênicos – são elementos que formam parte do ser vivo.

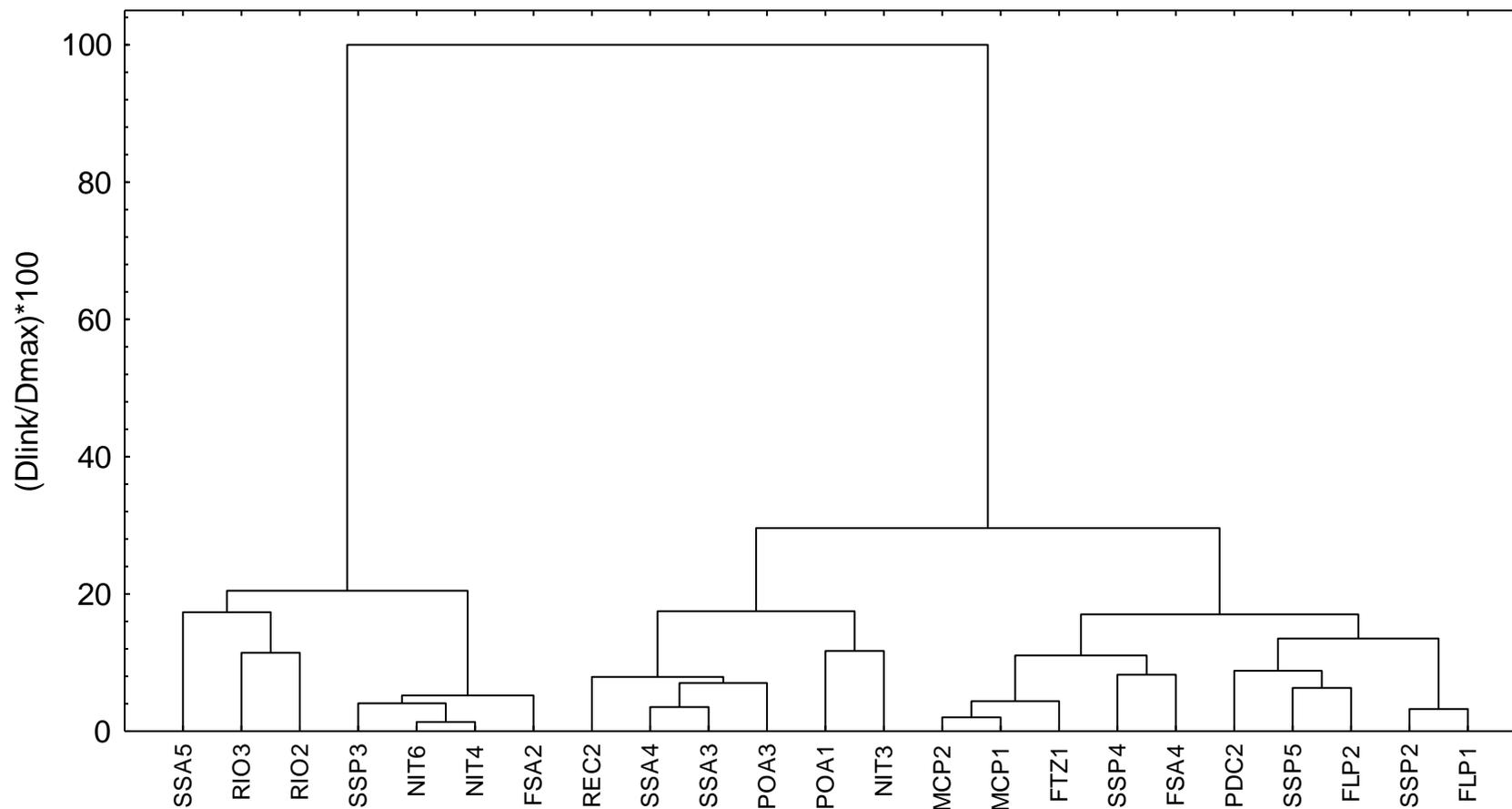


Figura 8.3. Dendrograma com método Ward's medida da distância Euclideana.

8.8. Conclusões

A digestão assistida por forno de microondas com cavidade fechada para dissolução das amostras de farinha de trigo usando ácido nítrico e peróxido de hidrogênio como agente oxidante foi eficiente para determinação de micronutrientes e elementos traço por ICP-MS.

Os microelementos cromo, molibdênio, selênio e vanádio encontrados na composição das 25 amostras de farinha de trigo consumidas nestas cidades apresentaram uma média de concentração de 0,135; 0,359; 0,325 e 0,044 $\mu\text{g g}^{-1}$ e uma variação de 0,060 – 0,307; 0,115 – 0,684; 0,058 – 0,952 e 0,023 – 0,108 $\mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente. Os elementos traço bário, rubídio e estrôncio determinados também nas amostras obtiveram uma média de 2,92; 2,28; 1,13 $\mu\text{g g}^{-1}$ e uma variação de 1,71–10,83; 0,77–4,23 e 0,61–5,72 $\mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente.

A análise de componentes principais foi eficiente para explicar as tendências dos microelementos e elementos traço nas amostras de farinha de trigo consumidas nas referidas cidades. A matriz de dados foi construída com as 23 amostras e 7 variáveis (Ba, Cr, Rb, Sr, V, Se e Mo), em que as duas primeiras PC's totalizaram uma variabilidade de 71,4 % dados.

A formação de três grupos a partir dos dados analisados que pode ser agrupado a partir das concentrações dos elementos Rb, Ba, Se, Mo e Sr. O reconhecimento de padrões das 23 amostras de farinha de trigo brasileiro através da PCA e HCA, mostra a eficiência dessas técnicas multivariadas de dados como ferramenta na caracterização das amostras, além de reconhecer amostras que apresentam composição mineral atípicas no conjunto, como as amostras BEL1 e BSB1.

Capítulo 9

Composição mineral da farinha de trigo consumida em cidades brasileiras

9.1. Resumo da composição mineral da farinha de trigo consumida em cidades brasileiras

A partir das análises usando as diferentes técnicas espectrométricas (FAAS, GF AAS, ICP OES e ICP-MS), foi possível determinar 16 elementos químicos presentes na composição mineral da farinha de trigo das cidades brasileiras. Na **Tabela 9.1** estão dispostos os valores referentes às concentrações desses elementos nas amostras, levando em consideração a forma mais regular da sua constituição. Ou seja, as amostras detectadas pela análise exploratória de dados como atípicas, foram excluídas para o cálculo da média, mediana, variação de concentração e desvio padrão da composição mineral.

As **Figuras 9.1, 9.2, 9.3 e 9.4** demonstram a média e desvio padrão dos valores desses elementos encontrados na composição mineral da farinha de trigo na forma de barra. Os dezesseis histogramas (**Figura 9.5 e Figura 9.6**) mostram a distribuição dos resultados segundo um modelo gaussiano de distribuição cujas médias estão apresentadas na **Tabela 9.1**.

Os resultados mostram que dependendo da abundância natural do elemento química na crosta terrestre teremos a variação de uma ordem de grandeza na concentração do mesmo elemento nas amostras de farinha de trigo brasileiras analisadas.

Tabela 9.1. Média, mediana e variação das concentrações dos dezesseis elementos nas amostras de farinha de trigo brasileira determinados por técnicas espectrométricas atômicas:

Elementos	Quantidade de amostras (unidades)	Média ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Mediana ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Variação ($\mu\text{g g}^{-1}$)
Cd	6	0,0105	0,010	0,009 – 0,013
Ba	23	2,56	2,75	1,70 – 3,21
Cr	23	0,123	0,127	0,060 – 0,151
Rb	23	2,21	2,24	0,77 – 4,01
Sr	23	0,94	0,86	0,61 – 1,74
V	23	0,039	0,037	0,023 – 0,061
Se	23	0,337	0,297	0,058 – 0,952
Mo	23	0,344	0,307	0,115 – 0,674
Ca	41	169,8	170,35	107,52 – 293,01
Cu	41	1,9	1,9	1,00 – 2,80
Fe	41	30	30,0	10,46 – 54,44
K	41	1262,1	1622,02	757,46 – 2608,61
Mg	41	284,7	346,42	188,27 – 511,24
Mn	41	8,3	8,34	3,89 – 14,74
P	41	1178,3	1179,02	810,25 – 1577,36
Zn	41	9,4	9,47	6,29 – 13,93

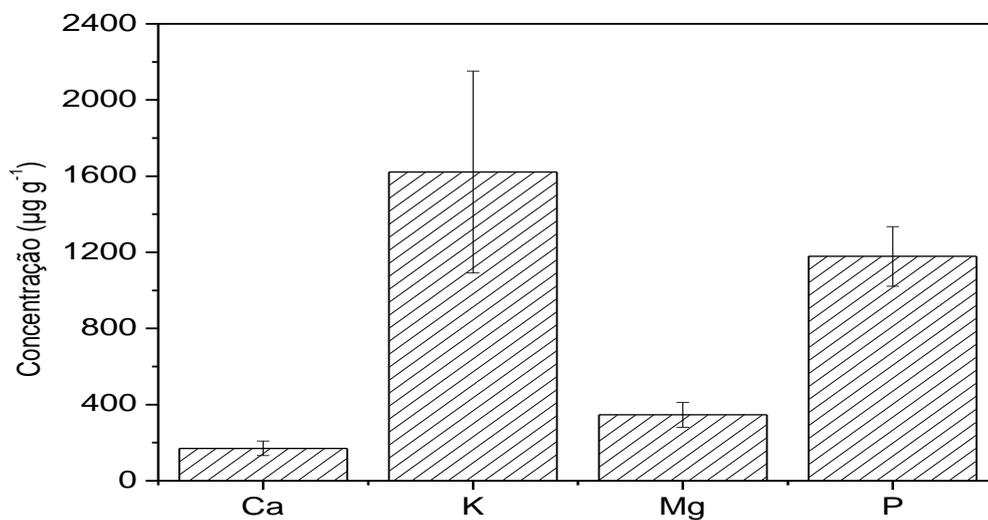


Figura 9.1. Concentração média e o desvio padrão de K, Mg, P e Ca em 41 amostras de farinhas de trigo brasileira (n=41).

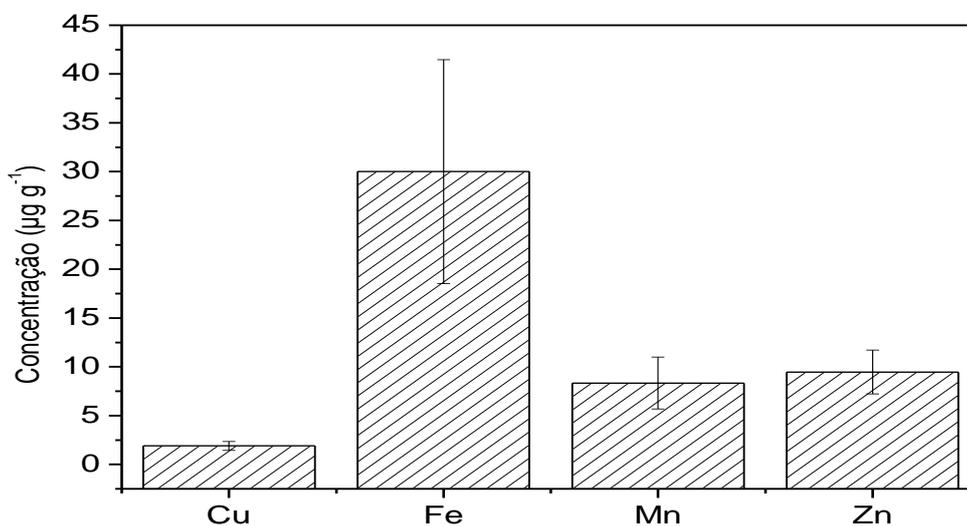


Figura 9.2. concentração média e o desvio padrão de Cu, Fe, Mn e Zn em 41 amostras de farinhas de trigo brasileira.

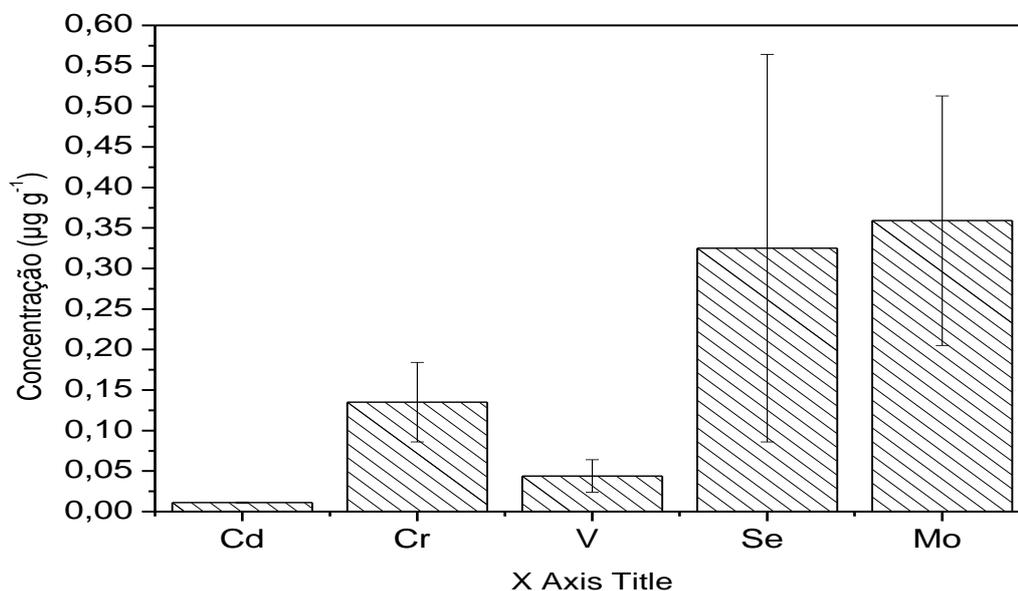


Figura 9. 3. Concentração média e o desvio padrão de Cd (n=6), Cr, V, Se e Mo em 23 amostras de farinhas de trigo brasileira

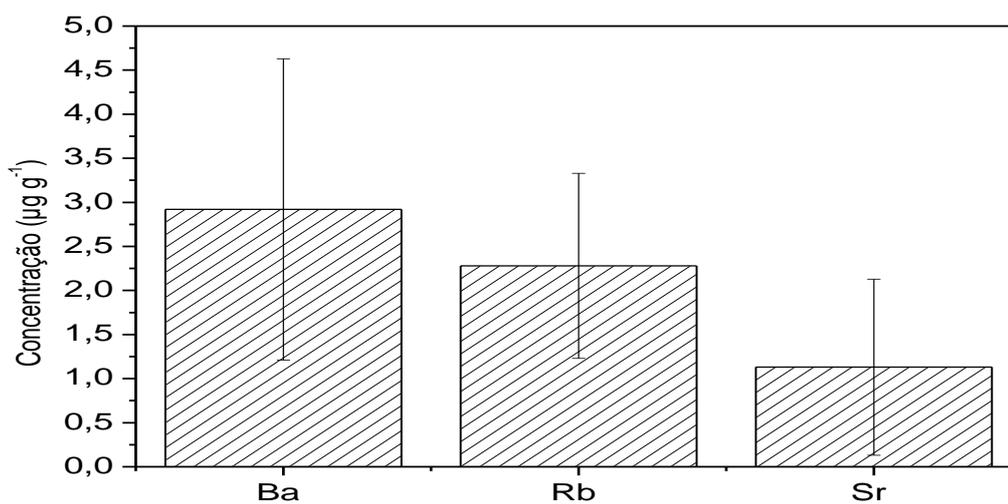


Figura 9.4. Concentração média e o desvio padrão de Ba, Rb e Sr em 23 amostras de farinha de trigo brasileiras

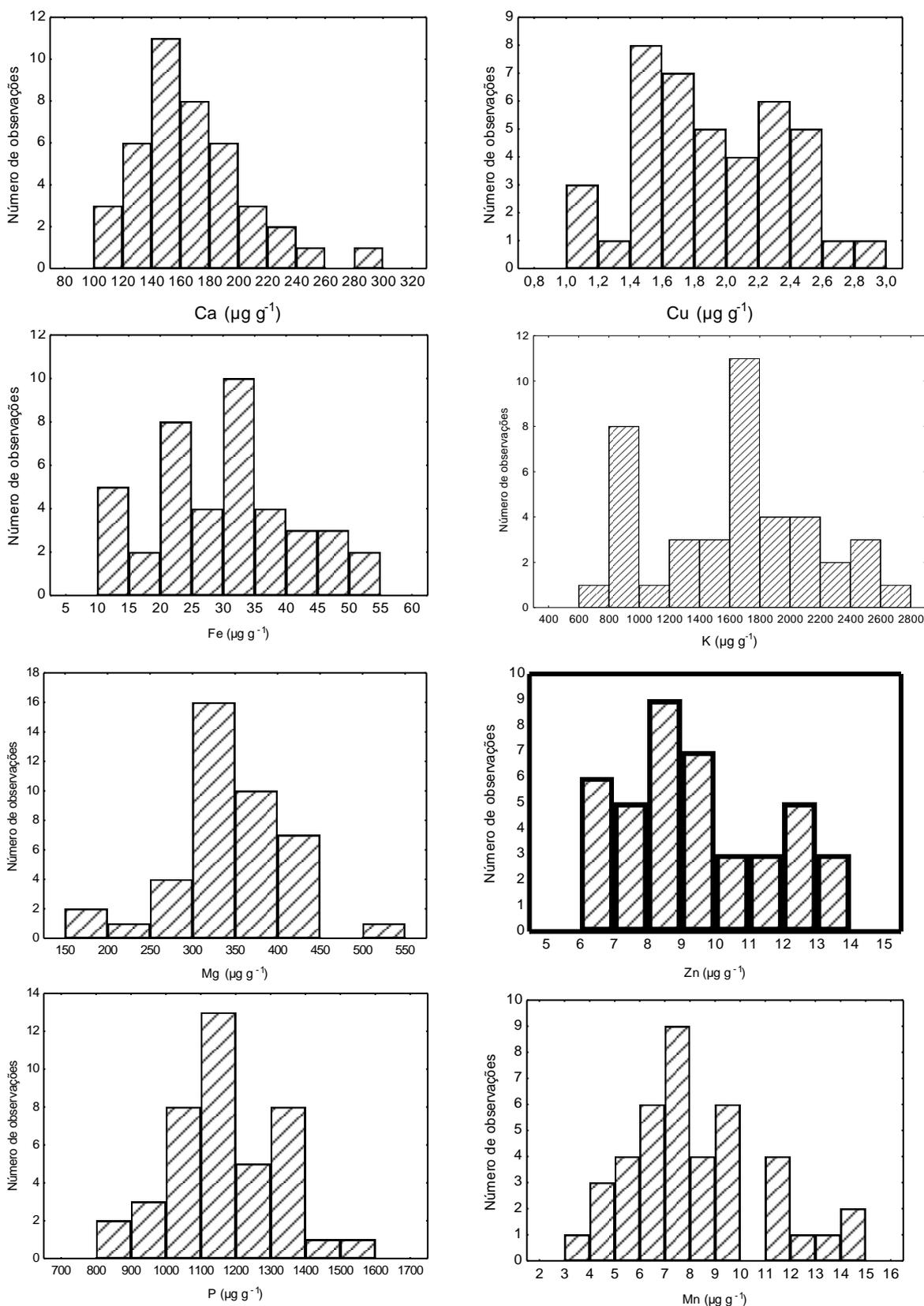


Figura 9.5. Histogramas das concentrações de Ca , Cu , Fe , K , Mg , Mn , P e Zn nas amostras de farinhas trigo brasileira (n=41).

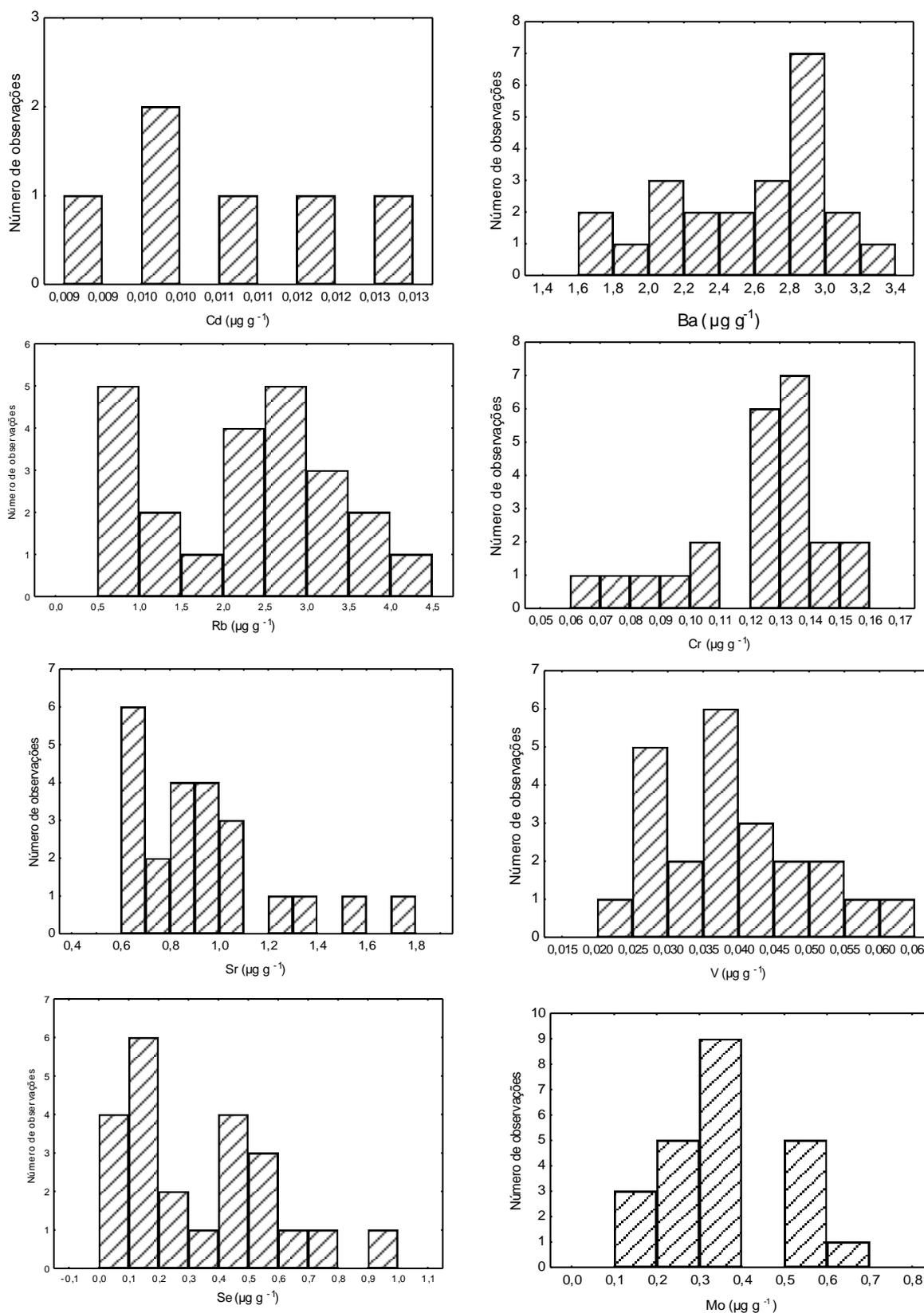


Figura 9.6. Histogramas das concentrações de Cd (n=6) , Ba, Cr, Rb, Sr, V, Se e Mo nas farinhas de trigo brasileira (n=23).

Considerações finais

O método analítico desenvolvido para determinação de manganês em amostras de farinha de trigo por amostragem em suspensão apresenta simplicidade e rapidez nas suas etapas experimentais. O limite de detecção e de quantificação, precisão e exatidão são viáveis para a determinação do manganês empregando FAAS.

O método proposto para determinação de manganês em amostras de farinha de trigo utilizando amostragem suspensão empregando FAAS apresentou boa precisão e exatidão, as quais foram confirmadas a partir da comparação dos coeficientes das inclinações da curva analítica aquosa e com adição de suspensões, e através da análise de material de referência certificado. O método proposto possibilitou a calibração o uso de calibração padrão para determinação de manganês nas amostras de farinha de trigo.

Uma alternativa na determinação de elementos traço como cádmio é o emprego da SS-GF AAS. Muito eficiente para análise de amostras de farinha de trigo, uma vez que permite a determinação sem pré-tratamento, reduzindo assim, o tempo de análise e riscos de contaminações, além de apresentar baixos limites de detecção.

As múltiplas injeções *in-situ* no tubo para amostragem em suspensão e detecção usando GF AAS, possibilitou o ganho no sinal analítico para otimização do método para determinação de cádmio em farinha de trigo. O procedimento mostrou pouca precisão, devido às sucessivas tomadas de alíquotas da suspensão, mas boa exatidão. Foram obtidos baixos limites de detecção e quantificação adequados para as determinação de cádmio nas amostras de farinha de trigo .

O método SS-GF AAS, no entanto, é claramente o mais simples, rápido e a técnica mais sensível, e que também forneceu o melhor precisão, em comparação com SIS-GF AAS. Outra vantagem da análise direta SS, e que ela parece pode ser aparentemente aplicado a gêneros alimentícios e a produtos de estrutura física diferente não significativa. Enquanto, que para a técnica SIS, o tamanho e estrutura das partículas a serem analisadas é mais dependente.

O método analítico otimizado para determinação multielementar de cálcio, cobre, ferro, potássio, magnésio, manganês, fósforo e zinco em amostras de farinha de trigo usando digestão úmida em placa de aquecimento e detecção por ICP OES apresentou boa precisão e exatidão. Entretanto, foi recomendado o uso da técnica de adição de analito para determinação de potássio e magnésio em amostras de farinha de trigo.

Os elementos cobre, magnésio, manganês e zinco apresentou entre todos os possíveis pares destes elementos uma correlações entre 0,6 a 0,8 é observada. Estas parecem ser correlações intrínsecas a todas as amostras farinha se estão tratadas ou não, confirmada pela proximidade dos pesos obtidos na PCA, mostrando uma tendência natural da composição mineral da farinha de trigo brasileira.

Apenas 24% das amostras de farinha de trigo estão em conformidade com a Portaria 533/00 da ANVISA. Entretanto, as amostras foram obtidas em menos de 6 meses a partir da regulamentação dessa portaria, estando as fábricas propícias à etapa de adaptação e montagem para a produção de farinha de trigo enriquecida com ferro.

A partir das análises exploratórias utilizando as técnicas de análise de componentes principais (PCA) e análise de agrupamento hierárquico (HCA), pode-se concluir que a farinha de trigo brasileira apresenta uma uniformidade em relação aos elementos Ca, Cu, Fe, Mg, K, Mn, P e Zn, sem a formação de grupos distintos para uma possível classificação.

O procedimento de digestão assistida por microondas é muito eficiente para dissolução de amostras de farinha de trigo para análise multielementar utilizando ICP-MS. A investigação em relação as prováveis interferências espectrais é oportuna neste tipo de técnica espectrométrica para cada tipo de amostra a ser analisada.

A falta de valores de referência ainda é um grande problema analítico para a aplicação ICP-MS e demais técnicas analíticas, devido a possibilidade da análise de diversas matrizes com a determinação de elementos traço e ultratraço na sua composição.

As análises exploratórias de dados (PCA e HCA) são ferramentas apropriadas para descrever a situação natural dos dados, ou seja, as informações mais relevantes contidas em dados multivariados, sendo descritos em duas ou três dimensões, facilitando sua compreensão.

A concentração dos elementos na composição da farinha de trigo variou aleatoriamente em até uma ordem de grandeza dependendo do elemento na natureza, demonstrando que estes são influenciados pelas condições naturais e / ou de processamento do trigo.

Enfim, a farinha de trigo consumida em cidades brasileiras apresentou os macronutrientes, Ca, K, Mg, P, os micronutrientes, Cu, Fe, Mn, Zn, Cr, Mo, Se, V e os elementos traço, Cd, Rb, Sr e Ba na sua composição mineral.

As tabelas brasileiras de composição química de alimentos ainda apresentam grandes lacunas com relação aos teores de minerais presentes em amostras de farinha de trigo, assim, a contribuição deste estudo para a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos é de grande importância.

Referências

- [1] Bastos, Edna. **Trigo: da lavoura ao pão**, Editora Ícone, 1987, São Paulo – SP.
- [2] Ambrosi, I et al. **Aspectos economicos da cadeia produtiva de trigo no Brasil. Passo Fundo**. EMBRAPA trigo, 2000, 108p.
- [3] Da Silva, D. B. et al. **Trigo para o abastecimento familiar, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**. Serviço de Produção de Informação – EMPBRAPA - SPI, Brasília – DF, 1996, 176p.
- [4] Disponível em: <http://columbia.thefreedictionary.com/wheat> acessado em 26/01/2006 às 14:00h.
- [5] OSÓRIO, E.A. **A cultura do trigo, Coleção do agricultor: grãos**. Editora Globo, 1992, São Paulo – SP, 218p.
- [6] Disponível em: http://www.cnpt.embrapa.br/aunidade/trigo_brasil.htm acessado em 26/02/2007 às 12:59h.
- [7] Disponível em: http://www21.sede.embrapa.br/noticias/banco_de_noticias/2005 acessado em 26/02/2007 às 13:30h.
- [8] Disponível em: <http://www.inmetro.gov.br/consumidor/produtos/farinha.asp#justificativa> acessado em 26/02/2007 às 17:00h.
- [9] Disponível em: <http://www.ibge.gov.br> acessado em 08/04/2007 às 15:24h.
- [10] Anexo da Instrução Normativa nº 8, de 2 de junho de 2005 do Diário Oficial da União, foi aprovado o regulamento Técnico de Identidade e Qualidade da Farinha de trigo do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento disposto na Lei nº 9.972, de 25 de maio de 2000, no Decreto nº 3.664, de 17 de novembro de 2000.
- [11] Disponível em: www21.sede.embrapa.br/noticias/banco_de_noticias/2000/setembro/bn.2004-11-25.9551804209/mostra_noticia acessado em 27/02/2008 às 18:00h;
- [12] Disponível em: www.anvisa.gov.br/divulga/consulta/2002/51_2002.htm acessado às 13:10h do dia 27/02/2007;
- [13] Disponível em: http://www.codexalimentarius.net/download/standards/50/CXS_152e.pdf às 17:30h do dia 27/02/2007;
- [14] Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/132_99.htm acessado às 18:10h do dia 27/02/2007;
- [15] Official methods of analysis, capter 32, p. 1 – 4, 2000;

[16] Anderson R. et al. Natural variations in the chemical composition of white flour. **Journal of Cereal Science**, v. 17, p 183-189 , 1992..

[17] Fernandez-Torres, R.; Perez-Bernal, J.L.; Bello-Lopez, M.A.; Callejon-Mochon, M.; Jimenez-Sanchez, J.C.; Guiraum-Perez, A. Mineral content and botanical origin of Spanish honeys. **Talanta**, v. 65, n. 3, p. 686-691, fev. 2005.

[18] Disponível em: <http://www.fcf.usp.br/tabela/apre.asp> acessado às 00:52h em 31/03/2007.

[19] Disponível em: http://www.fao.org/infoods/index_en.stm acessado as 1:00h em 31/03/2007.

[20] Disponível em: http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/cgi-bin/list_nut_edit.pl acessado as 15:30h em 30/03/2007.

[21] Disponível em: <http://www.unicamp.br/nepa/taco/> acessado em 10/04/2007 às 23:59h.

[22] Disponível em: <http://www.foodcomp.dk> acessado em 02/04/2007 às 00:10h.

[23] Disponível em: <http://www.finel.fi/food> acessado em 02/04/2007 às 00:20h.

[24] Recommended dietary allowances. National Research Council. 10^a edição. **National Academy of Sciences**. Washington (DC), p. 224–230, 1989.

[25] Goldhaber, S. B. Trace element risk assessment: essentiality vs. Toxicity. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v.38, n. 2, p. 232-24, oct. 2003.

[26] Biego, G. H.; Joyeux, M.; Hartemann, P.; Debry, G. Daily intake of essential minerals and metallic micropollutants from foods in France. **Science of the Total Environment**, v. 217, n. 1-2, p. 27-36, JUN. 1998.

[27] Disponível em: <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct>. acessado às 00:31h do dia 21/02/2006.

[28] Silva, C. C. da; Teixeira, A. S.; Goldberg, T. B. L. Impacto da ingestão de cálcio sobre a mineralização óssea em adolescentes. **Revista Nutrição**, v.17, n.3, p.351-359, jul./set 2004.

[29] Lanzillotti, H. S. et al. Osteoporose em mulheres na pós-menopausa, cálcio dietético e outros fatores de risco. **Revista Nutrição**, v.16, n.2, p.181-193, 2003;

[30] Landsman, A.;Lichtstein, D.; Ilani, A. Distinctive features of dietary phosphate supply. **Journal of Applied Physiology**, v. 99, n. 3, p. 1214-1219, 2005;

[31] Reis, M. A. de B.; Velloso, L. A.; Reyes, F. G. R. Alterações do metabolismo da glicose na deficiência de magnésio. **Revista Nutrição**, v.15, n.3, p.333-340, 2002;

[32] Azevedo, F. A. De; Chasin, A.A. da M. **Metais: Gerenciamento da toxicidade**. São Paulo – S.P., Editora atheneu, 554 p., 2003;

[33] Disponível em: <http://www.epa.gov/iris/subst/0373.htm> acessado às 23:31h do dia 20/02/2006;

[34] Sebecic, B.;Vedrinar-Dragojevic, I. Wheat flour confectionery products as a source of inorganic: Zinc and cooper contents in hard biscuits. **Nahrung/Food**, v. 48, n.2, p 141-144, 2004;

[35] Sebecic, B.;Vedrinar-Dragojevic, I; Horvatic, M. Wheat flour confectionery products as a source of inorganic: Iron and manganese contents in hard biscuits. **Nahrung/Food**, v. 46, n.3, p 200-203, 2002;

[36] Disponível <http://pt.wikipedia.org>;

[37] Oehme, f. W. Toxicity of heavy metals in the environment – part 1 and 2, **Hazardous and toxic substances**. New york, NY, 970p., 1979.

[38] Disponível em <http://www.epa.gov/iris/toxreviews/0010-tr.pdf#page=49> acessado em 11/04/2007 às 1:35h;

[39] Disponível em http://www.springway.com.br/agua_contaminacao_fisico.htm acessado em 11/04/2007 às 1:30h;

[40] Franco, G. tabela de composição química dos alimentos. 9ª ed, **Editora Etheneu**, 229-269, São Paulo-SP, 2005;

[41] Disponível em http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/33_98.htm acessado em 11/04/2007 às 2:26h;

[42] Duke, J. A. Ethnobotanical observations on choco indians. **Economic Botany**, v. 24, n. 3, p. 344-366, 1970;

[43] Favano, A. Elementos traço na nutrição e saúde humana. Tradução: Trace elements in nutrition and health, **Editora Roca LTDA**, 297p, São Paulo-SP, 1998;

[44] Sgarbieri, V. C. Alimentação e nutrição: fator de saúde e desenvolvimento. Editora UNICAMP, Campinas – SP, 387p, 1987;

[45] BRASIL. Leis, etc. Decreto nº 55.871 de 26 de março de 1965. *Diário Oficial da União*, Brasília, 9 abr. 1965. Seção 1, pt. 1, p. 3611;

[46] Disponível em: http://www.sampleprep.duq.edu/dir/why_sp_3.html acessado em 16/04/2006 às 18:30h;

[47] Krug, F.J. Métodos de decomposição de amostras. **IV Workshop sobre preparo de amostras**, Salvador– Ba, 4ª edição, 2003.

[48] Cal-Prieto, M. J., Felipe-Sotelo, M.; Carlosena A.; Andrade, J. M.; López-Mahía, P.; Muniategui, S.; Prada D. Slurry sampling for direct analysis of solid materials by electrothermal atomic absorption spectrometry (ETAAS). A literature review from 1990 to 2000. **Talanta**, v. 56, n. 1, p. 1-51 2002.

[49] Welz, B. Atomic absorption spectrometry - pregnant again after 45 years. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 54, p. 2081-2094, 1999.

[50] Hall, G. E. M.; Pelchat, P. Evaluation of a Direct Solid Sampling Atomic Absorption Spectrometer for the Trace Determination of Mercury in Geological Samples. **Analyst**, v. 122, p. 921–924, set. 1997.

[51] Da Silva, A. F.; Welz, B.; Cutius, A. J. Noble metals as permanent chemical modifiers for the determination of mercury in environmental reference materials using solid sampling graphite furnace atomic absorption spectrometry and calibration against aqueous standards. **Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy**, v. 57, n. 12, p. 2031-2045, dez. 2002

[52] Vale M. G. R.; Silva M. M.; Welz, B., Lima, E. C. Determination of cadmium, copper and lead in mineral coal using solid sampling graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy**, v. 56, n. 10, p. 1859-1873, oct. 2001.

[53] Matschat, R.; Hassler, J.; Traub, H.; Dette, A. Multielement trace determination in SiC powders: assessment of interlaboratory comparisons aimed at the validation and standardization of analytical procedures with direct solid sampling based on ETV ICPOES and DC arc OES. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 383, n.7-8, p. 1060-1074, dez. 2005.

[54] Hassler, J. et al. Speciation of aluminium in silicon carbide by electrothermal vaporization-inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 20, n. 9, p. 954-956, 2005.

[55] Grinberg, P.; Willie, S.; Sturgeon, R. E. Determination of U, Th and Pu in natural waters, biological materials and clinical samples by ETV-ICP-MS. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 20, n. 8, p. 717-723, 2005.

[56] Resano, M.; Gelaude I.; Dams, R.; Vanhaecke, F. Solid sampling-electrothermal vaporization-inductively coupled plasma mass spectrometry for the direct determination of Hg in different materials using isotope dilution with a gaseous phase for calibration. **Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy**, v. 60, n. 3, p. 319-326, mar. 2005 .

[57] Resano, M.; Garcia-Ruiz, E.; Moens, L.; Vanhaecke, F. Solid sampling-electrothermal vaporization-inductively coupled plasma mass spectrometry for the

direct determination of traces of iodine. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 20, n. 2, p. 81-87, 2005.

[58] Martin-Esteban, A.; Slowikowski, B.; Grobecker, K.H. Correcting sensitivity drift during long-term multi-element signal measurements by solid sampling-ETV-ICP-MS. **Talanta**, v. 63, n. 3, p. 667-673, jun. 2004.

[59] Wende, M. C.; Broekaert, J. A. C. Direct solid sampling electrothermal vaporization of alumina for analysis by inductively coupled plasma optical emission spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy**, v. 57, n. 12, p. 1897-1904, dez. 2002 .

[60] Florian, K.; Hassler, J.; Forster, O. A long-term validation of the modernised DC-ARC-OES solid-sample method. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**, v. 371, n. 8, p. 1047-1051, dez. 2001.

[61] Maia, S. M.; Welz, B.; Ganzarolli, E.; Curtius, A. J. Feasibility of eliminating interferences in graphite furnace atomic absorption spectrometry using analyte transfer to the permanently modified graphite tube surface. **Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy**, v. 57, n. 3, p. 473-484, 2002;

[62] Flores, E. M. D.; Da Costa, A.B.; Barin, J. S.; Dressler, V. L.; Paniz, J. N. G., Martins, A. F. Direct flame solid sampling for atomic absorption spectrometry: determination of copper in bovine liver. **Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy**, v. 56, n. 10. p. 1875-1882, oct. 2001;

[63] Flores, E..M. M.; Paniz, J. N. G.; Saidelles, A. P. F.; Barin, J. S.; Dressler, V. L.; Muller, E. I.; Costa, A. B. Direct solid sampling by flame atomic absorption spectrometry: determination of manganese in coal samples. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 15, p. 199–204, 2004;

[64] Flores, E. M. D.; Paniz, J. N. G.; Saidelles, A. P. F.; Muller, E. I.; da Costa, A. B. Direct cadmium determination in sediment samples by flame atomic absorption spectrometry using multivariate calibration procedures. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 18, n. 7, p. 769-774, 2003;

[65] Flores, E. M. M.; Saidelles, A. P. F.; Flores, E. L. M.; Mesko, M. F.,; Pedroso, M. P.; Dressler, V. L.; Bittencourt, C. F.; da Costa, A. B. Determination of copper in medicinal plants used as dietary supplements by atomic absorption spectrometry with direct flame solid analysis. **Microchemical Journal**, v. 77, n. 2, p. 113-118, 2004;

[66] da Costa, A. B.; de Mattos, J. C. P.; Muller, E. I.; Paniz, J.N. G.; Dressler, V. L.; Flores, T. M. D. Use of paper capsules for cadmium determination in biological samples by solid sampling flame atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy**, v. 60, n. 5, p. 583-588, 2005;

[67] Brady, D.V.; Montalvo, J. G.; Glowacki, G.; Pisciotto, A. Direct determination of zinc in sea-bottom sediments by carbon tube atomic-absorption spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 70, n. 2, p. 448-452, 1974;

[68] Alves, F. de L. et al. Emprego da amostragem de suspensão na determinação de Cu e Zn em lapa antártica e Ni em sedimento de rio por espectrometria de absorção atômica com chama. **Química Nova**, v. 24, n. 6, p.756-760, 2001;

[69] Magalhães, C. E. de C.; Arruda, M. A. Z. Amostragem de suspensões: Emprego da técnica na análise direta de amostras. **Química Nova**, v. 21, n. 4, p.459-466, 1998;

[70] Silva, C.S; Blanco, T; Joaquim A. Nóbrega, J. A Analysis of cement slurries by inductively coupled plasma optical emission spectrometry with axial viewing. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 57, n. 1, p. 29-3, 2002;

[71] Renfrow, M. B.; Riley, J. M.; Riley, J. T. Inductively coupled plasma-atomic emission spectrometric analysis of aqueous slurries of solids. **Microchemical Journal**, v. 56, n. 1, p. 30-39, 1997;

[72] Goodall, P.; Foulkes, M.E.; Ebdon, L. Slurry nebulization inductively-coupled plasma spectrometry - the fundamental parameters discussed . **Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy**, v. 48, n. 3, p. 1563-1577, 1993;

[73] Halmos P, Borszeki J, Szabo S, Halmos E. Direct analysis of fly ash materials by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry using slurry nebulization. **Microchemical Journal**, v. 79, n.1-2, jan. 2005

[74] Goodall, P.; Foulkes, M. E.; Ebdon, L. Slurry nebulization inductively-coupled plasma spectrometry - The fundamental parameters discussed. **Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy**, v. 48, n. 13, p. 1563-1577, 1993;

[75] Dos Santos, W. N. L.; Da Silva E. G. P.; Fernandes, M. S.; Araújo, R. G. O.; Costa, A. C. S.; Vale M. G. R.; Ferreira, S. L. C. Determination of copper in powdered chocolate samples by slurry-sampling flame atomic-absorption spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 382, n. 4, p. 1099-1102, 2005;

[76] Santos, D.; Barbosa, F.; Tomazelli, A. C.; Krug, F. J.; Nobrega, J. A.; Arruda, M. A. Z. Determination of Cd and Pb in food slurries by GRAS using cryogenic grinding for sample preparation. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**. v. 373, n. 3, p. 183-189, 2002;

[77] Vinas, P.; Pardo-Martinez, M.; Lopez-Garcia, I; Hernandez-Cordoba, M. Determination of mercury in baby food and seafood samples using electrothermal atomic absorption spectrometry and slurry atomization. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 16, n. 6, p. 633-637, jun. 2001;

[78] Torrence, K. M.; McDaniel, R. L.; Self, D. A. Chang, M. J. Slurry sampling for the determination of arsenic, cadmium, and lead in mainstream cigarette smoke condensate by graphite furnace-atomic absorption spectrometry and inductively coupled plasma-mass spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 372, n. 5-6, p. 723-731, 2002;

[79] Cornelius, J. R.; Radziuk, B; Romanova, N.; Skaugset, N. P.; Skogstad, A.; Thomassen, Y. Permanent iridium modifier for electrothermal atomic absorption spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 10 n. 10, p. 739 – 745, 1995;

[80] Acar, O. Evaluation of V, IrRu, V-Ir, V-Ru, and W-V as permanent chemical modifiers for the determination of cadmium, lead, and zinc in botanic and biological slurries by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Analytica Chimica Acta** v. 545, n. 2, p.244-251, 2005;

[81] Wu, Y. W.;Jiang, Z. C.; Hu, B.; Xiong, C. M.; Li, Y. J. In-situ separation and determination of palladium from platinum based on different vaporization temperatures by electrothermal vaporization inductively coupled plasma optical emission spectrometry with YPA(4) resin acting both as adsorption material and chemical modifier. **Microchimica Acta**, v. 148, n. 3-4, p. 279-284, 2004;

[82] Bernhard Welz, Gerhard Schlemmer and Jayateerth R. Mudakavi,Palladium nitrate–magnesium nitrate modifier for electrothermal atomic absorption spectrometry. Part 5. Performance for the determination of 21 elements, **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 7, n. 8, p. 1257 – 1271, 1992;

[83] Miguel A. Belarra, Martin Resano e Juan r. Castillo. Theoretical evaluation of solid sampling-electrothermal atomic absorption spectrometry for screening purposes. **JAAS**, 1999, 14, 547-552;

[84] Kilic, Z.; Acar, O.; Ulasan, M.; Ilim, M. Determination of lead, copper, zinc, magnesium, calcium and iron in fresh eggs by atomic absorption spectrometry. **Food Chemistry**, v. 76, v. 1, p. 107-116, 2002;

[85] Chen, S,Z.; Lu, D. B.; Hu, Z. X.; Wang, Z. The use of electrothermal vaporization ICP OES for the determination of trace elements in human hair using slurry sampling and PTFE as modifier. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 85, n. 7, p. 493-501, 2005;

[86] Bermejo-Barrera, P.; Moreda-Piñeiro, A.; Bermejo-Barrera, A.; Bermejo-Barrera, A. M. Application of multivariate methods to scalp hair metal data to distinguish between drug-free subjects and drug abusers. **Analytica Chimica Acta**, v. 455, n. 2, p. 253-265, 2002;

[87] Bermejo-Barrera, P.; Moreda-Piñeiro, A.; Moreda-Piñeiro, J.; Bermejo-Barrera, A. Acid predigestion as a slurry pretreatment for the determination of Ca, Cu, K, Mg, Na and Zn in human scalp hair by flame atomic absorption/emission spectrometry with a high-performance nebulizer. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**, v. 360, n. 6, p. 707-711, 1998;

[88] Majcen, N. Different dissolution procedures for analysis of titanium(IV)oxide white pigment. **Acta Chimica Slovenica**, v. 45, n. 1, p. 85-92, 1998.;

[89] Garcia, I. L.; Martinez, M. J. V.; Cordoba, M. H. Cold vapor atomic-absorption method for the Determination of mercury in iron(iii) oxide and titanium-oxide pigments using slurry sample introduction. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 6, n. 8, p. 627-630, 1991;

[90] Garcia, I. L.; Sobejano, F. O.; Cordoba, M. H. Use of flow-injection flame atomic-absorption spectrometry for slurry atomization - determination of copper, manganese, chromium and zinc in iron-oxide pigments. **Analyst**, v. 116, n. 5 p. 517-520, 1991;

[91] Coedo, A. G.; Dorado, T.; Padilla, I.; Maibusch, R., Kuss, H. M. Slurry sampling electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry for steelmaking flue dust analysis. **Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy**, v. 55, n. 2, p. 185-196, 2000;

[92] Maia, S. M.; da Silva, J. B. B.; Curtius, A. J.; Welz, B. Determination of As, Mn, Pb and Se in coal by slurry electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 15, n.9, p. 1081-1086, 2000;

[93] Ben Younes, M. E.; Gregoire, D. C.; Chakrabarti, C. L. Vaporization and removal of silica for the direct analysis of geological materials by slurry sampling electrothermal vaporization-inductively coupled plasma-mass spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 14, n. 11, p. 1703-1708, 1999;

[94] McIntyre, R. S.; Gregoire, D. C.; Chakrabarti, C. L. The direct determination of radium in geological materials by slurry sampling electrothermal vaporization inductively coupled plasma-mass spectrometry. **Spectroscopy**, v. 13, n. 4, 1998;

[95] Pozebon, D.; Dressler, V. L.; Curtius, A. J. Determination of trace elements in biological materials by ETV-ICP-MS after dissolution or slurry formation with tetramethylammonium hydroxide. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 13, n. 10, p. 1101-1105, 1998;

[96] Acar, O.; Ozvatan, S.; Ilim, M. Determination of cadmium, copper, iron, manganese, lead and zinc in lichens and botanic samples by electrothermal and flame atomic absorption spectrometry. **Turkish Journal of Chemistry**, n. 29, v. 4, p. 335-344, 2005;

[97] Acar, O. Determination of lead, chromium, manganese and zinc in slurries of botanical and biological samples by electrothermal atomic absorption spectrometry using tungsten-containing chemical modifiers. **Microchimica Acta**, n. 151, v. 1-2, p. 53-58, 2005;

[98] Vieira, M. A.; SaintPierre, T. D.; Welz, B.; Curtius, A. J. Determination of As, Hg, Se and Sn in sediment slurries by CVG-ETV-ICP-MS with trapping in an Ir treated graphite tube and calibration against aqueous standards. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 19, n. 2, p. 297-300, 2004;

[99] Chen, S. F.; Jiang, S. J. Determination of arsenic, selenium and mercury in fish samples by slurry sampling electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 13, n. 7, p. 673-677, 1998;

[100] Liao, H. C.; Jiang, S. J. EDTA as the modifier for the determination of Cd, Hg and Pb in fish by slurry sampling electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 14, n. 10, p. 1583-1588, 1999;

[101] Li, Y. C.; Jiang, S. J.; Chen, S. F. Determination of Ge, As, Se, Cd and Pb in plant materials by slurry sampling electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 372, n. 3, p. 365-372, 1998;

[102] Aleixo, P. C.; Santos, D.; Tomazelli, A. C.; Rufini, I. A.; Berndt, H.; Krug, F. J. Cadmium and lead determination in foods by beam injection flame furnace atomic absorption spectrometry after ultrasound-assisted sample preparation. **Analytica Chimica Acta**, v. 512, n.2, p. 329-337, 2004;

[103] Mokgalaka, N. S.; McCrindle, R. I.; Botha, B. M. Multielement analysis of tea leaves by inductively coupled plasma optical emission spectrometry using slurry nebulisation. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 19, n. 10, p. 1375-1378, 2004;

[104] Garcia, I. L.; Sobejano, F. O.; Cordoba, M. H. Use of flow-injection flame atomic-absorption spectrometry for slurry atomization - Determination of copper, manganese, chromium and zinc in iron-oxide pigments. **Analyst**, v. 116, n. 5, p. 517-520, 1991;

[105] Willis, J. B. Atomic-absorption spectrometric analysis by direct introduction of powders into flame. **Analytical Chemistry**, v. 47, n. 11, p. 1752-1758 1975;

[106] Alves, F. L.; Smichowski, P.; Farias, S.; Marrero, J.; Arruda, M. A. Z. Direct analysis of Antarctic krill by slurry sampling: Determination of copper, iron, manganese and zinc by flame atomic absorption spectrometry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 11, n. 4, p. 365-370, 2000;

[107] Alves, F. L.; Cadore S.; Jardim, W. F.; Arruda, M. A. Z. River sediment analysis by slurry sampling FAAS: Determination of copper, zinc and lead. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 12, n. 6, p. 799-803, 2001;

[108] Alves, F. D.; Jardim, W. D.; Cadore, S.; Arruda, M. A. Z.; Smichowski, P.; Marrero, J. Use of slurry sampling in the determination of Cu and Zn in antarctic limpets and Ni in river sediment by flame atomic absorption spectrometry. **Química Nova**, v. 24, n. 6, p. 756-760, 2001;

[109] Kilic, Z.; Acar, O.; Ulasan, M.; Ilim, M. Determination of lead, copper, zinc, magnesium, calcium and iron in fresh eggs by atomic absorption spectrometry. **Food Chemistry**, v. 76, v. 1, p. 107-116, 2000;

[110] Bermejo-Barrera, P.; Moreda-Piñeiro, A.; Bermejo-Barrera, A.; Bermejo-Barrera, A. M. Application of multivariate methods to scalp hair metal data to distinguish between drug-free subjects and drug abusers. **Analytica Chimica Acta**, v. 455, n. 2, p. 253-265, 2002;

[111] Bermejo-Barrera, P.; Moreda-Pineiro, A.; Bermejo-Barrera, A. Sample pre-treatment methods for the trace elements determination in seafood products by atomic absorption spectrometry. **Talanta**, v. 57, n. 5, p. 969-984, 2002;

[112] Ojeka, E. O.; Achi, E. G. Determination of trace elements in vegetable samples using the slurry method for flame AAS. **Atomic Spectroscopy**, v. 26, n. 5, p. 187-190, 2005;

[113] Silva, E. G. P. da. et al. Determination of manganese and zinc in powdered chocolate samples by slurry sampling using sequential multi-element flame atomic absorption spectrometry. **Microchemical Journal**, v. 82, n. 2, p. 159-162, abr. 2006.

[114] Kurfürst, Ulrich. **Solid Sample Analysis – Direct and Slurry Sampling using GF-AAS and ETV-ICP**, Springer, 423p., Germany, 1998;

[115] IUPAC, Analytical Chemistry Division, Commission on Spectrochemical and Optical Procedures for Analysis, Nomenclature, symbols, units and their usage in spectrochemical analysis-II. Data interpretation, **Spectrochimica Acta Part B**, v. 33, p. 242–245, 1978;

[116] Ribani, M.; Bottoli, C. B. G. ; Collins, C. H. ; Jardim, I. C. S. F. ; Melo, L. F. C. VALIDAÇÃO Em Métodos Cromatográficos e Eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004;

[117] Resolução - RE nº 899, de 29 de maio de 2003, D.O.U. 02/06/2003, Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos métodos analíticos. Disponível em: www.anvisa.gov.br/legis/resol/2003/re/899_03re.htm acessado em 03/02/2006 às 00:11h;

[118] Leite, Flavio. **Validação em análise química**. Editora átomo, 4ª ed, 278p, 2002;

[119] Prichard, E.; Mackay, G. M.; Points, J. Trace Analysis: A structured approach to obtaining reliable results. **The royal society of chemistry**, v. 33, 1996;

[120] BRASIL, Leis, etc. Decreto nº 55.871 de 26 de março de 1965. **Diário Oficial da União**, Brasília, 9 Seção 1, pt. 1, p. 3611, 1965.

[121] Damin, I. C. F.; Silva, M. M. ; Vale, M. G. R.; Welz, B. Feasibility of using direct determination of cadmium and lead in fresh meat by electrothermal atomic absorption spectrometry for screening purposes. **Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy**, v. 62, n. 9, p. 1037-1045, 2007;

[122] Oleszczuk, N; Castro, J. T. ; da Silva, M. M.; Korn, M. D. A.; Welz, B.; Vale, M. G. R. Method development for the determination of manganese, cobalt and copper in green coffee comparing direct solid sampling electrothermal atomic absorption spectrometry and inductively coupled plasma optical emission spectrometry. **Talanta**, v. 73, n. 5, p. 862-869, 2007.

[123] Bianchin, L.; Nadvorny, D.; da Silva, A. F.; Vale, M.G. R.; da Silva, M. M.; dos Santos, W. N. L.; Ferreira, S. L. C.; Welz, B.; Heitmann, U. Feasibility of employing permanent chemical modifiers for the determination of cadmium in coal using slurry sampling electrothermal atomic absorption spectrometry. **Microchemical Journal**, v. 82, n. 2, p 174-182, 2006;

[124] Welz, B.; Sperling, M. Atomic Absorption Spectrometry, 3rd ed., **Wiley-VCH**, Weinheim, 1999 , 941p;

[125] Magalhães, C. E. C.; Lima, E. C.; Krug, F. J.; Arruda, M. A. Z. Direct analysis of coffee and tea for aluminium determination by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Mikrochimica Acta**, v. 132, n. 1, p. 95-100, 1999;

[126] Gonzalez, M.; Gallego, M; Valcarcel, M. Determination of nickel, chromium and cobalt in wheat flour using slurry sampling electrothermal atomic absorption spectrometry. **Talanta**, v. 48, n. 5, p. 1051-1060, 1999;

[127] Belara, M. A; Resano, M.; Castillo, J. R. Discrimination of the causes of imprecision in the direct determination of metals in organic solid samples by

electrothermal atomization atomic absorption spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 13, n. 5, p. 489-494, 1998;

[128] C. Bendicho, C.; de Loos Vollebregt, M. T. C. Solid sampling in electrothermal atomic-absorption spectrometry using commercial atomizers - a review. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 6, n. 5, p. 353-374, 1991.

[129] Montaser, Akbar. Inductively coupled Plasma Mass Spectrometry. **VCH publishers**, 1998, New York, NY.,USA, 2ª edição, 964p.

[130] Prichard, E.; MacKay, G. M.; Points, J. Trace analysis: A structured approach to obtaining reliable results. Laboratory of the Government Chemist. **Royal Society of Chemistry**, Bodmin, UK, 1996;

[131] Jarvis, k. E.; Gray, A. L.; Houk, R. S. Handbook of Inductively Coupled Plasma Mass spectrometry. **Blackie Glasgow and London**, Published in the U.S.A. New York, N.Y, 378p, 1992;

[132] Vanhaecke, F.; Resano, M.; Moens, L. Electrothermal vaporisation ICP-mass spectrometry (ETV-ICP-MS) for the determination and speciation of trace elements in solid samples - A review of real-life applications from the author's lab. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 374, n. 2, p. 188-195, 2002;

[133] Skoog, D. A.; Holler, F.J.; Nieman, T. A. Princípios de análise instrumental. Tradução Caracelli, I. et all. Bookman, 5ª ed. São Paulo, S.P., 2002;

[134] Moretto, A. L.; Cadore, S. Determination of arsenic in food samples by hydride generation - Atomic absorption spectrometry. **Microchimica Acta**, v. 146, n. 3-4, p. 239-244, 2004;

[135] Barbosa, A. C.; Boischio, A. A.; East, G. A.; Ferrari, I.; Goncalves, A.; Silva, P. R. M.; Dacruz, T. M. E. Mercury contamination in the Brazilian Amazon - Environmental, and occupational aspects. **Water Air and Soil Pollution**, v. 80, n. 1-4, p. 109-121, 1995;

[136] Kumar, A.; Nair, A. G. C.; Reddy, A. V. R.; Garg, A. N. Availability of essential elements in Indian and US tea brands. **Food Chemistry**, v. 89, n. 3, p. 441-448, 2005;

[137] Singh, V.; Garg, A. Availability of essential trace elements in Indian cereals, vegetables and spices using INAA and the contribution of spices to daily dietary intake. **Food Chemistry**, v. 94, n. 1, p. 81-89, 2006;

[138] Santos, E. E.; Lauria, D. C.; da Silveira, C. L. P. Assessment of daily intake of trace elements due to consumption of foodstuffs by adult inhabitants of Rio de Janeiro city, **Science of the Total Environment**, v. 327, n. 1-3, p. 69-79, 2004;

[139] Baxter, M. J.; Crews, H. M. ; Dennis, M. J. ; Goodall, I.; Anderson, D. The determination of the authenticity of wine from its trace element composition. **Food Chemistry**, v. 60, n. 3, p. 443-450, 1997.

[140] Disponível em <http://www.sciencedirect.com/science/journal/01697439> acessado em 20/02/2007 às 16:08h;

[141] Disponível em <http://www3.interscience.wiley.com/cgi-bin/jhome/4425> acessado em 26/02/2007 às 16:05h;

[142] Brown, S. D. Has the chemometrics revolution ended? Some views on the past, present and future of chemometrics. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 30, n. 1, p. 49-58, nov. 1995;

[143] Geladi, P. Chemometrics in spectroscopy. Part 1. Classical chemometrics. **Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy**, v. 58, n. 5, p. 767-782, mai 2003;

[144] Johnson, G. W.; Ehrlich, R. State of the art report on multivariate chemometric methods in environmental forensics. **Environmental Forensics**, v. 3, n. 1, p. 59-79, 2002;

[145] Neto, B.B. et all. Como fazer experimentos, **Editora Unicamp**, Campinas-SP, 2001;

[146] Miller, J. N.; Miller, J. C. Statistic and Chemometrics for Analytical Chemistry, **Pearson Edducatoin**, 4ª edição, Inglaterra, 271p. 2000;

[147] Beebe, K. R.; Pell, R. J.; Seasholtz, M. B. "Chemometrics: A practical Guide". **Wiley-Interscience publication**, Toronto, Canadá, 346p., 1998;

[148] Valentin, J. L. Ecologia Numérica – Uma Introdução à análise multivariada de dados ecológicos, **Editora Interciência**, Rio de Janeiro – RJ, p. 53-61, 2000;

[149] Ferreira, M. M. C. et al. Quimiometria I: calibração multivariada, um tutorial. **Química Nova**, v. 22, n. 5, p.724-731, 1999;

[150] Ferreira, M. M. C.; Montanari, C. A.; Gaudio, A. C. Seleção de variáveis em QSAR. **Química. Nova**, v. 25, n .3, p. 439-448, 2002;

[151] Ottos, Matthias. Chemometrics: Statistics and Computer Application in Analytical Chemistry. 330p. 1999;

[152] Sagrado, S. et al, Multivariate data analysis and bivariate regression studies applied to comparison of two multi-elemental methods for analysis wine samples. *Journal of Chemometrics*, v. 16, p. 305-312, 2002;

[153] Sena, M. M. de. et al. Avaliação do uso de métodos quimiométricos em análise de solos. **Química. Nova**, v. 23, n. 4, p. 547-556, 2000;

[154] Ramos, G. R.; Alvarex-Coque, M. C. G. Quiomiometría, Editorial Sintesis S.A., **Madrid**, Espanha, p 133-181, 2001;

[155] Baxter, M. J.; Crews, H. M.; Dennis, M. J.; Goodall, I.; Anderson, D. The determination of the authenticity of wine from its trace element composition. **Food Chemistry**, v. 60, n. 3, p. 443-450, 1997;

[156] Pereira, R. C. C.; Skrobot, V. L.; Castro, E. V. R.; Fortes, I. C. P.; Pasa, V. M. D. Determination of gasoline adulteration by principal components analysis-linear discriminant analysis applied to FTIR spectra. **Energy & Fuels**, v. 20, n. 3, p. 1097-1102, mai, 2006;

[157] Lee, C. S.; Li, X. D.; Shi, W. Z.; Cheung, S. C.; Thornton, I. Metal contamination in urban, suburban, and country park soils of Hong Kong: A study based on GIS and multivariate statistics. **Science of the Total Environment**, v. 356, n. 1-3, p. 45-61, 2006;

[158] Liao, M.; Chen, C. L.; Huang, C. Y. Effect of heavy metals on soil microbial activity and diversity in a reclaimed mining wasteland of red soil area. **Journal of Environmental Sciences-China**, v. 17, n. 5, 832-837, 2005;

[159] Burone, L.; Venturini, N.; Sprechmann, P.; Valente, P.; Muniz, P. Foraminiferal responses to polluted sediments in the Montevideo coastal zone, Uruguay. **Marine Pollution Bulletin**, v. 52, v. 1, p. 61-73, 2006;

[160] R. Karoui, G. Cartaud, E. Dufour, Front-face fluorescence spectroscopy as a rapid and nondestructive tool for differentiating various cereal products: A preliminary investigation. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 54, 2027-2034, 2006.

[161] K. Ruoff, R. Karoui, E. Dufour, W. Luginbuhl, J. O. Bosset, S. Bogdanov, R. Amado, Authentication of the botanical origin of honey by front-face fluorescence spectroscopy. A preliminary study. **Journal of Agricultural And Food Chemistry**, v. 53, 1343-1347, 2005;

[162] Sperkova, J.; Suchanek, M. Multivariate classification of wines from different Bohemian regions (Czech Republic). **Food Chemistry**, v. 93, n.4, p. 659-663, 2005;

[163] Cardoso, D. R.; Andrade-Sobrinho, L. G.; Leite-Neto, A. F.; Reche, R. V.; Isique, W. D.; Ferreira, M. M. C.; Lima-Neto, B. S.; Franco, D. W. Comparison between cachaca and rum using pattern recognition methods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 11, p. 3429-3433, 2004;

[164] K. E. Andersen, C. Bjerregaard, P. Moller, J. C. Sorensen, H. Sorensen, Compositional variations for alpha-galactosides in different species of Leguminosae, Brassicaceae, and barley: A chemotaxonomic study based on

chemometrics and high-performance capillary electrophoresis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 5809-5817, 2005;

[165] E. T. Sousa, F. D. Rodrigues, C. C. Martins, F. S. de Oliveira, P. A. D. Pereira, J. B. de Andrade, Multivariate optimization and HS-SPME/GC-MS analysis of VOCs in red, yellow and purple varieties of *Capsicum chinense* sp peppers. **Microchemical Journal**, v. 82, 142-149. 2006;

[166] Terrab, A.; Hernanz, D.; Heredia, F. J. Inductively coupled plasma optical emission spectrometric determination of minerals in thyme honeys and their contribution to geographical discrimination. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 11, p. 3441-3445, 2004;

[167] Silva, F. V.; Trevizan, L. C.; Silva, C. S.; Nogueira, A. R. A.; Nóbrega, J. A. Evaluation of inductively coupled plasma optical emission spectrometers with axially and radially viewed configurations. **Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy**, v. 57, n. 12, p.1905-1913, 2002;

[168] Montaser, A; Golightly, D. W. Inductively coupled plasmas in analytical atomic spectrometry. **VCH publishers**, 1992, New York, NY.,USA, 2ª edição, 1017p.

[169] J.M. Mermet , Use of magnesium as a test element for inductively coupled plasma atomic emission spectrometry diagnostics. **Anal. Chim. Acta**, n . 250 , p. 85–94, 1991;

[170] Dennaud, J.; A. Howes, A.; Poussel, E.; Mermet, J. M. Study of ionic-to-atomic line intensity ratios for two axial viewing-based inductively coupled plasma atomic emission spectrometers. **Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy**, v. 56, p. 101–112, 2001;

[171] Brenner, I. B.; Zander, A. T. Axially and radially viewed inductively coupled plasmas—a critical review. **Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy**, v. 55 , p. 1195–1240, 2002;

[172] Masson, P. Matrix effects during trace element analysis in plant samples by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry with axial view configuration and pneumatic nebulizer. **Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy**, v. 54, n. 3-4, p. 603-612, 1999;

[173] Dubuisson, C.; Poussel, E.; Mermet, J. M. Comparison of ionic line-based internal standardization with axially and radially viewed inductively coupled plasma atomic emission spectrometry to compensate for sodium effects on accuracy. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 13, n. 11, p. 1265-1269, 1998;

[174] Todoli, J. L.; Mermet, J. M.; Canals, A.; Hernandis, V. Acid effects in inductively coupled plasma atomic emission spectrometry with different nebulizers

operated at very low sample consumption rates. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 13, n. 1, p. 55-62, 1998;

[175] Momen, A. A.; Zachariadis, G. A.; Anthemidis, A. N.; Stratis, J. A. Investigation of four digestion procedures for multi-element determination of toxic and nutrient elements in legumes by inductively coupled plasma-optical emission spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 565, n. 1, p. 81-88, 2006;

[176] Halmos, P.; Borszeki, J.; Szabo, S.; Halmos, E. Direct analysis of fly ash materials by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry using slurry nebulization, **Microchemical Journal**, v. 79, n. 1-2, 2005;

[177] Cava-Montesino, P.; Cervera, M. L.; Pastor, A.; de la Guardia, M. Room temperature acid sonication ICP-MS multielemental analysis of milk. **Analytica Chimica Acta**, v. 531, n. 1, p. 111-123, 2005;

[178] Chen, H. T.; Cao, S. Q.; Zeng, X. J. Application of inductively coupled plasma mass spectrometry in biological samples analysis. **Chinese Journal of Analytical Chemistry**, v. 29, n. 5, p. 592-600, 2001;

[179] Cave, M. R.; Butler, O.; Chenery, S. R. N.; Cook, J. M.; Cresser, M. S.; Miles, D. L. Atomic spectrometry update. Environmental analysis. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 16, n. 2, p. 194-235, 2001;

[180] Li, Z. X.; Zhou, L. P.; Tan, F. Influence of sample pre-treatment on the determination of trace silver and cadmium in geological and environmental samples by quadrupole inductively coupled plasma mass spectrometry, **Microchimica Acta**, v. 156, n. 3-4, p. 263-269, 2006;

[181] Wu, S. L.; Feng, X. B.; Wittmeier, A. Microwave digestion of plant and grain reference materials in nitric acid or a mixture of nitric acid and hydrogen peroxide for the determination of multi-elements by inductively coupled plasma mass spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 12, n. 8, p. 797-806, 1997;

[182] Feng, X. B.; Wu, S. L.; Wharmby, A.; Wittmeier, A. Microwave digestion of plant and grain standard reference materials in nitric and hydrofluoric acids for multi-elemental determination by inductively coupled plasma mass spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 14, n. 6, p. 939-946, 1999;

[183] Barany, E.; Bergdahl, I. A.; Schutz, A.; Skerfving, S.; Oskarsson, A. Inductively coupled plasma mass spectrometry for direct multi-element analysis of diluted human blood and serum. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 12, n. 9, p. 1005-1009, 1997;

[184] Goulle, J. P.; Mahieu, L.; Castermant, J.; Neveu, N.; Bonneau, L.; Laine, G.; Bouige, D.; Lacroix, C. Metal and metalloid multi-elementary ICP-MS validation in whole blood, plasma, urine and hair - Reference values. **Forensic Science International**, v. 153, n. 1, p. 39-44, 2005;

[185] Disponível em: <http://felix.ib.usp.br/bib131/texto2/texto2.html> acessado em 07/04/2007 às 17:37h;

[186] http://www.cetem.gov.br/publicacao/cetem_sed_72_p.pdf acessado em 09/04/2007 às 04:38h;

[187] Otero, N.; Vitoria, L. Soler, A., Canals, A. Fertiliser characterisation: Major, trace and rare earth elements. **Applied Geochemistry**, v. 20, n. 8, p. 1473-1488, 2005;

[188] Cunha, M. C. L.; Dani, R.; Formoso, M. L. Q. A importância do estudo biogeoquímico na mobilidade dos elementos residuais em ambiente supergênico. **Revista Brasileira de Geociências**, v. 20, n. 1-4, p.173-177, 1990;