



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

FERNANDA ALVES DE SANTANA

**ESTRATÉGIAS ANALÍTICAS VISANDO A DETERMINAÇÃO DE METAIS E
METALOIDES EM AMENDOIM (*Arachis hypogaea* L)**

Salvador
2017

FERNANDA ALVES DE SANTANA

**ESTRATÉGIAS ANALÍTICAS VISANDO A DETERMINAÇÃO DE METAIS E
METALOIDES EM AMENDOIM (*Arachis hypogaea* L)**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal da Bahia como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Química.

Orientador: Prof. Dr. Sergio Luis Costa Ferreira

Salvador
2017

Modelo de ficha catalográfica fornecido pelo Sistema Universitário de Bibliotecas da UFBA para ser confeccionada pelo autor

de Santana, Fernanda Alves
Estratégias analíticas visando a determinação de metais e
metaloides em amendoim (*Arachis hypogaea* L) / Fernanda Alves
de Santana. -- Salvador, 2017.
94 f. : il

Orientador: Sérgio Luis Costa Ferreira.
Tese (Doutorado - Doutorado em Química) -- Universidade
Federal da Bahia, Instituto de Química, 2017.


1. *Arachis hypogaea* L. 2. Quimiometria. 3. Elementos traço .
I. Ferreira, Sérgio Luis Costa. II. Título.


TERMO DE APROVAÇÃO


FERNANDA ALVES DE SANTANA


“ESTRATÉGIAS ANALÍTICAS VISANDO A DETERMINAÇÃO DE METAIS E METALÓIDES EM AMENDOIM (*Arachis hypogaea* L)”

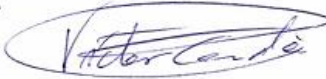
Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Química, Universidade Federal da Bahia, pela seguinte banca examinadora:

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

Prof. Dr. Walter Nei Lopes dos Santos 
Doutorado em Química, Universidade Federal da Bahia (UFBA)
Universidade do Estado da Bahia

Prof. Dr. Jorge Maurício David 
Doutorado em Química, Universidade de São Paulo (USP)
Universidade Federal da Bahia

Prof^a. Dr^a. Karina Santos Garcia 
Doutorado em Geoquímica, Universidade Federal Fluminense (UFF)
Universidade Federal da Bahia

Prof. Dr. Víctor Cerdà Martín 
Doutorado em Química, Universitat de Barcelona (UB)
Universitat de les Illes Balears

Salvador, 06 de outubro de 2017.

AGRADECIMENTOS

A Deus por todas as conquistas obtidas, por sempre estar ao meu lado me mostrando o caminho a seguir.

Aos meus pais por sempre acreditarem que seria capaz chegar até aqui. Vocês me ensinaram os que os livros não são capazes de ensinar.

Ao meu marido Valquisedeque por sempre me apoiar em tudo que eu quis fazer.

Ao professor Dr. Sergio Luis Costa Ferreira por todas as conquistas. O senhor é mais que um orientador.

A Capes, FAPESP e CNPq pelas bolsas e auxílios.

Ao Dr. Victor Cerdà por me permitir trabalhar no laboratório com pessoas maravilhosas em Palma de Maiorca . Obrigada por estar sempre disposto a ajudar e ensinar.

A Dra. Laura Ferrer por ser sempre muito atenciosa e compreensiva.

Ao programa de Pós-Graduação da UFBA pela oportunidade de realizar o doutorado em Química Analítica.

A Michel, Luciana e Cris da Pós-Graduação, vocês sempre me atenderam com muita atenção e carinho

Ao meus amigos Tiago e Gabriel, vocês são os meus melhores amigos em todos os momentos felizes e tristes. Obrigada pela sinceridade de sempre.

Aos amigos do GRPQQ antigos e novos. Foram muitos momentos felizes.

A Dona Margarida por sempre me receber feliz e disposta a ajudar.

A Lindomar por toda ajuda e amizade. Você é uma pessoa maravilhosa.

A Estevan, Sabrina, Toni e Edwin por toda a ajuda e pelos momentos de muita alegria no laboratório.

A Rejane por toda amizade, nossa amizade é para vida inteira, não importa a distância.

Ao meu eterno co-orientador Dr. Erik Galvão, com você aprendi muito e sempre vou aprender.

A Seu Pereira por sempre atender meus telefonemas quando precisei, sempre disposto a ajudar.

A Vaniele, Rafaela e principalmente Marilia por toda ajuda, pelo momento de apoio e por suportar todos os momentos de nervoso com muita paciência. Quando não esperávamos, Guanambi nos uniu.

Muito obrigada a todos, cada um contribuiu um pouco ou muito nessa fase da minha jornada.

Há uma força motriz mais poderosa que o vapor, a eletricidade e a energia atômica:
a vontade.

Albert Einstein

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Screeplot dos autovalores dos componentes principais aplicada em amostras de semente de amendoim de oito cidades da Bahia e uma de Pernambuco.....	51
Figura 2. Gráfico de peso de PC1 versus PC2 aplicada em amostras de semente de amendoim de oito cidades da Bahia e uma de Pernambuco	51
Figura 3. Gráfico de escore de PC1 versus PC2 aplicada em amostras de semente de amendoim de oito cidades da Bahia e uma de Pernambuco	52
Figura 4. Gráfico de peso de PC1 versus PC3 aplicada em amostras de semente de amendoim de oito cidades da Bahia e uma de Pernambuco	52
Figura 5. Gráfico de escore PC1 versus PC3 aplicada em amostras de semente de amendoim de oito cidades da Bahia e uma de Pernambuco	53
Figura 6. Gráfico de peso de PC1 versus PC4 aplicada em amostras de semente de amendoim de oito cidades da Bahia e uma de Pernambuco	53
Figura 7. Gráfico de escore de PC1 versus PC4 aplicada em amostras de semente de amendoim de oito cidades da Bahia e uma de Pernambuco	54
Figura 8. Dendograma referente a classificação das amostras de semente de amendoim de oito cidades da Bahia e uma de Pernambuco	55
Figura 9. Mapa neural evidenciando a formação de grupos aplicada em amostras de semente de amendoim de oito cidades da Bahia e uma de Pernambuco.....	56
Figura 10. Mapa neural evidenciando as concentrações dos elementos analisados e matriz de distância aplicada em amostras de semente de amendoim de oito cidades da Bahia e uma de Pernambuco	57
Figura 11. Sistema MSFIA-HG-AFS para determinação de antimônio, arsênio e selênio	65
Figura 12. Gráfico de pareto do planejamento fatorial para antimônio.....	71
Figura 13. Gráfico de pareto do planejamento fatorial para arsênio.....	72
Figura 14. Gráfico de pareto do planejamento fatorial para selênio	72
Figura 15. Gráfico de pareto do planejamento fatorial para resposta múltipla	73
Figura 16. Gráfico do sinal normalizado de As, Se e Sb em meio a interferente.	75

LISTA DE TABELA

Tabela 1. Condições instrumentais de análise do ICP OES	37
Tabela 2. Condições instrumentais de análise por ICP-MS para análise de amostras de amendoim.....	38
Tabela 3. Programa de digestão utilizado no micro-ondas com cavidade para amostras de amendoim.....	40
Tabela 4. Limites de detecção e quantificação da digestão para o método desenvolvido e determinação por ICP OES	42
Tabela 5. Limites de detecção e quantificação da digestão para o método desenvolvido e determinação por ICP-MS	42
Tabela 6. Valores de precisão em termo de desvio padrão relativo para amostras de amendoim empregando ICP OES	43
Tabela 7. Valores de precisão em termo de desvio padrão relativo para amostras de amendoim empregando ICP-MS	44
Tabela 8. Valores obtidos e certificado para o material de referência de leite em pó sem gordura (NIST 1549) empregando ICP OES.	45
Tabela 9. Valores obtidos e certificado para o material de referência de folha de tomate (NIST 1573a) empregado ICP OES.	45
Tabela 10. Valores obtidos e certificado para o material de referência de folha de maçã (NIST 1515) empregado ICP-MS.	46
Tabela 11. Valores obtidos e certificado para o material de referência de folha de tomate (NIST 1573a) empregado ICP MS.....	46
Tabela 12. Concentração de elementos nas amostras de sementes de amendoim em oito cidades da Bahia e uma de Pernambuco (mg Kg^{-1})	48
Tabela 13. Peso das variáveis para as quatro primeiras componentes principais aplicada em amostras de semente de amendoim de oito cidades da Bahia e uma de Pernambuco	50
Tabela 14. Correntes utilizadas nas lâmpadas de cátodo oco do fluorescência	64
Tabela 15. Programa utilizado MSFIA para determinação As, Se e Sb	66
Tabela 16. Condições utilizadas na otimização e determinação de As, Se, Sb por fluorescência atômica.....	67

Tabela 17. Programa de decomposição por micro-ondas.....	67
Tabela 18. Domínio experimental do planejamento fatorial 2^3	68
Tabela 19. Planejamento fatorial 2^3 para parâmetros químicos do equipamento	70
Tabela 20. Efeitos e interações para os fatores estudados para planejamento 2^3	71
Tabela 21. Curva aquosa e curva de adição de analito em amostra de amendoim ..	74
Tabela 22. Análise de material de referência certificado NIST 1547	76
Tabela 23. Valores obtidos por adição de analito nas amostras semente de amendoim empregando MSFIA-HG-AFS.....	76
Tabela 24. Limites de detecção e quantificação para As, Se, Sb empregando MSFIA-HG-AFS.....	77
Tabela 25 Faixa de trabalho para método de determinação de As, Se e Sb empregando MSFIA-HG-AFS.....	77
Tabela 26. Precisão do método proposto para As, Se, Sb em amostras de semente amendoim empregando MSFIA-HG-AFS.....	78
Tabela 27. Aplicação do método em amostra de semente amendoim para As, Se e Sb MSFIA-HG-AFS	79

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

- MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
- GF AAS - Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite (do inglês *Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*)
- ICP-MS - Espectrometria de Massa com de Plasma Indutivamente Acoplado (do inglês *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*)
- ICP OES - Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado (do inglês *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*)
- PTFE – Politetrafluoroetileno
- AAS - Espectrometria de Absorção Atômica (do inglês *Atomic Absorption Spectrometry*)
- HG - Geração de Hidreto (do inglês *Hydride Generation*)
- RDI - Ingestão Dietética Recomendada (do inglês *Recommended Dietary Intake*)
- RDA - Dose Diária Recomendada (do inglês *Recommended Raily Allowances*)
- ATP - Adenosina trifosfato
- DNA - Ácido desoxirribonucléico
- F AAS - Espectrometria de absorção atômica com chama (do inglês *Flame Atomic Absorption Spectroscopy*)
- AFS - Espectrometria de fluorescência atômica (do inglês *atomic fluorescence spectroscopy*)
- MSFIA - Análise por injeção em fluxo multiseringa (do inglês *multisyringeflow injection analysis*)
- PCA - Análise por Componentes Principais (do inglês *principal component analysis*)
- PC – Componente principal (do inglês *principal components*)
- PC's – Componentes principais (do inglês *principal component*)
- HCA - Análise por Agrupamento Hierárquico (do inglês *hierarchical cluster analysis*)
- NIST - National Institute of Stardard and Technology
- CA – Amostra de Cruz das Almas
- SA- Amostra de Santo Amaro
- A – Amostra de Acajutiba
- VC – Amostra de Vitória da Conquista,

J – Amostra de Juazeiro,
ER – Amostra de Entre Rios,
P- Amostra de Petrolina
M – Amostra de Maragogipe
MN – Amostra de Mundo Novo
LD – Limite de detecção
LQ – Limite de quantificação
RSD – desvio padrão relativo
FIA – Análise por Injeção em fluxo (do inglês flow injection analysis)
SAI - Análise em fluxo sequencial (do inglês sequential flow analysis)
TMSb – trimetilantimônio

RESUMO

O amendoim é uma oleaginosa consumida em diversos países, que possui em sua composição uma elevada quantidade de proteínas e óleos. Dessa forma, o estudo sobre alguns metais tóxicos e elementos essenciais se faz necessário para uma melhor compreensão do valor nutricional e da capacidade tóxica desse alimento para a saúde da população. Assim, este trabalho tem como objetivo desenvolver estratégias analíticas para determinação de 15 elementos e análise multivariada de amostras de amendoim. As amostras utilizadas no trabalho foram de oito cidades da Bahia e uma de Petrolina, Pernambuco, que faz divisa com a Bahia. Inicialmente, as amostras de amendoim *in natura* foram lavadas, liofilizadas e moídas. A decomposição utilizada foi por via úmida com HNO_3 e H_2O_2 em micro-ondas com cavidade. Na primeira parte do trabalho foram realizadas as determinações de Ca, K, Mg, Na, P, Cu, Fe, Mn e Zn por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) e V, Cr, Co, Ni, Mo e Cd, por espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS). Para a avaliação da exatidão do método foram utilizados materiais de referência certificados folha de tomate (NIST 1573a) e leite em pó sem gordura (NIST 1549) para ICP OES e folha de tomate (NIST 1573a) e folha de maçã (NIST1515) para ICP-MS, não sendo constatada diferença significativa entre os valores certificados e os valores encontrados. Foram empregadas três ferramentas estatísticas para análise exploratória dos resultados: rede neurais artificiais de Kohonen com algoritmo K-means, análise de componentes principais e análise hierárquica de dados. As análises multivariadas demonstraram similaridade nos grupos formados empregando as três ferramentas estatísticas. A segunda parte do trabalho foi o desenvolvimento de estratégia analítica usando análise por injeção em fluxo com multiseringa na determinação de As, Se e Sb em amostras digeridas de amendoim, por geração de hidreto acoplado a espectrômetro de fluorescência atômica. As condições para pré-redução e geração de hidreto do método foram otimizadas utilizando planejamento fatorial 2^3 com uma resposta múltipla para concentração dos seguintes fatores: HCl, NaBH_4 e KI. As condições encontradas foram 0,5% (m/v) de NaBH_4 , $5,0 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl e 14 % (m/v) de KI para determinação As, Se e Sb empregando calibração externa. Os limites de detecção e quantificação obtidos nestas condições foram $0,04$ e $0,14 \mu\text{g L}^{-1}$ para Sb, $0,04$ e $0,14 \mu\text{g L}^{-1}$ para As e $0,11$ e $0,37 \mu\text{g L}^{-1}$ para Se. A exatidão do método para As e Se foi confirmada com material de referência certificado NIST1547. A precisão do método foi expressa em termo de desvio padrão relativo, o qual variou entre: 1,15 – 3,64%; 1,80 – 1,97%; 1,85 – 3,39% para As, Sb e Se, respectivamente. O método proposto foi aplicado para determinação de As, Se e Sb em amostras de amendoim. As concentração obtidas variaram na faixa de $0,0287$ – $0,0413 \text{ mg Kg}^{-1}$ para As, $0,0864$ – $1,0399 \text{ mg Kg}^{-1}$ para Se e $0,0291$ – $0,0524 \text{ mg Kg}^{-1}$ para Sb.

Palavra Chaves: *Arachis hypogaea L.*, quimiometria, elementos traço

ABSTRACT

The peanut is an oilseed consumed in several countries, which has in its composition a high amount of proteins and oils. Thus, the study on some toxic metals and essential elements for a better understanding of the nutritional value and the toxic capacity of the food for a health population. Thus, this work aims to develop analytical strategies for determination of 15 elements and multivariate analysis of peanut samples. The samples used in the study were from eight cities in Bahia and one from Petrolina, Pernambuco, which borders Bahia. Initially, the fresh peanut samples were washed, lyophilized and ground. The decomposition used was wetted with HNO_3 and H_2O_2 in microwave oven with cavity. In the first part of the work the determinations of Ca, K, Mg, Na, P, Cu, Fe, Mn and Zn were performed by inductively coupled plasma emission spectrometry (ICP OES) and V, Cr, Co, Ni, Mo and Cd, by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). For the evaluation of the accuracy of the method, reference materials certified as tomato leaf (NIST 1573a) and non-fat milk powder (NIST 1549) were used for ICP OES and tomato leaf (NIST 1573a) and apple leaf (NIST1515) for ICP -MS, not being found a significant difference between the certified values and the values found. No significant difference was found between the certified values and the values found. Three statistical tools were used for the exploratory analysis of results: Kohonen artificial neural network with K-means algorithm, principal component analysis and hierarchical cluster analysis. The multivariate analyzes showed similarity in the groups formed using the three statistical tools. The second part of the work was the development of an analytical strategy using multi-syringe flow injection in the determination of As, Se and Sb in digested peanut samples by hydride generation coupled to an atomic fluorescence spectrometer. The conditions for pre-reduction and hydride generation of the method were optimized using factorial design 2^3 with a multiple response for concentration of the following factors: HCl, NaBH_4 and KI. The conditions found were 0.5% NaBH_4 , 5.0 mol L^{-1} HCl and 14% KI for As, Se and Sb determination using external calibration. The limits of detection and quantification obtained under these conditions were 0.04 and $0.14 \mu\text{g L}^{-1}$ for Sb, , 0.04 e $0.14 \mu\text{g L}^{-1}$ for As and 0.11 and $0.37 \mu\text{g L}^{-1}$ for Se. The accuracy of the method for As and Se was confirmed with NIST1547 certified reference material. The precision of the method was expressed in terms of relative standard deviation, which varied between: 1.15 - 3.64%; 1.80 - 1.97%; 1.85-3.39% for As, Sb and Se, respectively. The proposed method was applied to determine As, Se and Sb in peanut samples. The concentrations obtained ranged from 0.0287 - $0.0413 \text{ mg kg}^{-1}$ to As, 0.0864 - $1.0399 \text{ mg kg}^{-1}$ to Se and 0.0291 - $0.0524 \text{ mg kg}^{-1}$ to Sb.

Keywords: *Arachis hypogaea* L., chemometrics, trace elements

SUMÁRIO

CAPITULO I	19
INTRODUÇÃO GERAL	19
1.1 INTRODUÇÃO	20
1.2 AMENDOIM	23
1.2.1 Aspectos gerais	23
1.2.2 Composição do amendoim	24
1.2.3 Análise de amostras de amendoim	25
CAPITULO II	27
AVALIAÇÃO MULTIVARIADA DE ELEMENTOS ESSENCIAIS E NÃO ESSENCIAIS EM AMOSTRAS DE AMENDOIM	27
2.1 OBJETIVO	28
2.1.1 Objetivo Geral	28
2.1.2 Objetivos Específicos	28
2.2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	29
2.2.1 Elementos essenciais e não essenciais	29
2.2.1.1 Elementos essenciais	29
2.2.1.2 Elementos não essenciais	31
2.2.2 Análise Multivariada	32
2.2.2.1 Análise por Componentes Principais	32
2.2.2.2 Análise por Agrupamento Hierárquico	34

2.2.2.3	Redes Neurais.....	34
2.3	PARTE EXPERIMENTAL	37
2.3.1	Equipamentos / Acessórios.....	37
2.3.2	Reagentes, soluções e amostra	38
2.3.3	Procedimento de preparo da amostra	39
2.3.4	Análise Multivariada das amostras de semente de amendoim	40
2.4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
2.4.1	Validação do método empregando ICP OES e ICP-MS para os elementos estudados.	41
2.4.1.1	Limites de detecção e quantificação	41
2.4.1.2	Precisão.....	42
2.4.1.3	Exatidão.....	44
2.4.2	Determinação de elementos traço por ICP OES e ICP-MS.....	46
2.4.3	Avaliação dos dados empregando Análise por Componentes Principais (PCA) e Análise Hierárquica de Dados (HCA).....	47
2.4.4	Avaliação dos dados empregando rede neural artificial de Kohonen.....	55
2.5	Considerações Parciais	58
CAPITULO III		59
ANÁLISE DE INJEÇÃO EM FLUXO AUTOMÁTICO COM MULTISERINGA (MSFIA) PARA A DETERMINAÇÃO DE Sb, Se E As EM AMOSTRAS DE AMENDOIM EMPREGANDO GERAÇÃO DE VAPOR.		59
3.1	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	60

3.1.1	Análise por injeção em fluxo	60
3.2	OBJETIVO	62
3.1	Objetivo geral.....	62
3.2	Objetivos Específicos	62
3.3	Parte Experimental	63
3.3.1	Reagentes e Soluções	63
3.3.2	Equipamentos e Acessórios.....	64
3.3.3	Procedimento de Preparo e Decomposição das Amostras	67
3.3.4	Planejamento Fatorial 2^3 para Formação Hidreto por Fluorescência	67
3.4	DISCUSSÃO DOS RESULTADOS.....	69
3.4.1	Planejamento Fatorial 2^3 para Formação de Hidreto.....	69
3.4.2	Estudo do Efeito de Matriz.....	74
3.4.3	Estudo de Interferência.....	74
3.4.4	Validação do Método de Determinação de As, Se e Sb por MSFIA	75
3.4.4.1	Exatidão do método	75
3.4.4.2	Estudo de Adição e Recuperação do método.....	76
3.4.4.3	Limites de detecção e qualificação.....	77
3.4.4.4	Faixa de Trabalho	77
3.4.4.5	Precisão.....	78
3.4.5	Aplicação.....	78
3.5	Considerações Parciais	80

CONSIDERAÇÕES FINAIS	81
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	83
ANEXO.....	92

CAPITULO I

INTRODUÇÃO GERAL

1.1 INTRODUÇÃO

As oleaginosas são espécies de plantas que possuem alto teor de óleo em sua semente ou em seu fruto podendo ser utilizada como matéria prima para produção de óleos comestíveis e indústria de cosméticos, entre outras utilidades. Devido ao seu alto teor de óleo o amendoim é considerado uma oleaginosa.

O amendoim, assim como outros alimentos, possui elementos essenciais para os seres humanos, tais como Ca, Mg, Na, Fe, Mn, Cu e Zn, entre outros. Diferentes trabalhos na literatura têm estudado a determinação de elementos essenciais em amostras de oleaginosas tais como amendoim, empregando diversas técnicas analíticas [1,2,3,4]. Devido a grande variedade desses elementos essenciais, assim como a necessidade de análise de elementos não-essenciais, e a grande quantidade de amostras de alimentos a serem estudados, normalmente se tem uma necessidade do uso de ferramentas quimiométricas para uma melhor avaliação dos resultados.

A limitação da ingestão máxima de elementos considerados essenciais para seres humanos também se torna necessária. Dependendo de como se dá a concentração dos elementos essenciais em alimentos, a sua ingestão em excesso pode trazer riscos de contaminação para o ser humano. O selênio, por exemplo, pode trazer benefícios a depender da quantidade ingerida, sendo considerado um elemento necessário ao corpo humano [5]. No entanto, esse mesmo elemento se presente em níveis elevados pode ser prejudicial à saúde [6].

O estudo dos elementos não essenciais também tem se tornado necessário, devido a estes serem muitas vezes tóxicos em determinadas concentrações, e podem ser encontrados nos alimentos. Para os seres humanos, contaminantes inorgânicos tais como o cádmio são considerados carcinogênicos, prejudicando o sistema imunológico e provocando problemas renais e respiratórios [7].

A determinação dos teores de alguns elementos não essenciais é de fundamental importância por serem tóxicos ao ambiente a depender da concentração e estado de oxidação [8, 9,10]. O arsênio e o antimônio são exemplos de elementos considerados tóxicos. O Sb apresenta-se na maioria das amostras ambientais com estados de oxidação V e III, possuindo propriedades químicas

semelhantes às do As [11,12]. O Sb(III) apresenta-se mais tóxico do que o Sb(V), já as formas orgânicas são menos preocupantes [12]. Assim como o Sb, os compostos de As podem se comportar de maneira totalmente diferente no ambiente, sendo As inorgânico mais tóxico do que o orgânico. O As inorgânico pode provocar câncer, devido ao efeito genotóxico do As(III) [13,14]. Contaminação por As pode ser oriunda de mineração de não ferrosos, fundições, conservantes de madeira e pesticidas [15]

A presença de As, Sb e Se nos alimentos, geralmente ocorre em baixas concentrações, logo, se faz necessária à utilização de técnicas de determinação cada vez mais sensíveis. Além disso, amostras de alimentos podem provocar efeito de matriz na análise, devido à sua complexidade. Uma possibilidade de eliminar interferências e aumentar a sensibilidade é o emprego da técnica de geração de hidreto [16]. A geração de hidreto é utilizada para determinação de elementos que formam hidretos voláteis, tais como selênio, arsênio e antimônio. Essa técnica apresenta uma alta seletividade, faixa linear e sensibilidade acoplada a técnicas de fluorescência [17,18] espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado [5] e espectrometria de absorção atômica.[6,19].

A geração de hidreto (HG) acoplada à espectrometria de fluorescência atômica (AFS) em comparação às técnicas de emissão, apresenta baixo custo de manutenção e operação e alta sensibilidade [13,20]. Além disso, este sistema pode ser construído a partir de peças simples obtidas comercialmente [21]. O equipamento de AFS normalmente é composto de uma lâmpada de cátodo oco, um atomizador (na maioria das vezes uma chama) e um detector, apresentando baixo sinal de fundo e boa linearidade na resposta analítica [20,22]. A utilização de HG acoplado a AFS permite obter baixos limites de detecção para as espécies, tais como As, Se e Sb, em comparação à espectrometria de absorção atômica com chama [23].

A geração de hidreto tem sido acoplada as técnicas análises em fluxo devido a suas várias vantagens [24,25,26]. As técnicas de análise em fluxo possibilitam a automatização do método [27], apresentando parâmetros analíticos desejáveis, tais como precisão, exatidão e menor manipulação da amostra pelo analista [6]. A técnica de análise por injeção em fluxo com multiseringa (MSFIA) apresenta válvulas solenoides de três vias conectadas a quatro seringas que se movimentam

simultaneamente a partir de um motor de passo, injetando assim volumes precisos de reagente e amostra [22], promovendo um menor consumo de reagente em comparação a métodos FIA convencionais. A MSFIA possibilita com uso de materiais compostos de politetrafluoretileno (PTFE), o que permite o emprego de reagentes agressivos, além de ser um método flexível pela capacidade de utilizar seringas com volumes diferentes [22].

1.2 AMENDOIM

1.2.1 Aspectos gerais

O amendoim (espécie *Arachis hypogaea L.*) é uma leguminosa que pertence à família *Fabaceae*, cultivada em todo mundo [10,28], sendo uma das oito principais culturas de oleaginosas [29]. A depender da localização, o amendoim também é chamado de amendoí, jinguba, mancarra, mandobi, mandubi, mendubi, menduí, mindubi, mindubim, erdnub, maní, cacahuete, cacahuète, pistache de terre, arachide, peanut, groudnut, arachide, entre outros [28].

Na China, 30% da produção de oleaginosa do país é de amendoim, sendo este país o principal produtor [30,31] e um dos principais exportadores de amendoim do mundo [10]. O segundo maior produtor de amendoim é a Índia, seguido pela Nigéria [28]. Devido à mudança de hábitos alimentares, o amendoim alcançou espaço na indústria de confeitaria a partir da década de 70 [32]. No Brasil, entre as décadas 70 e 80, o amendoim tinha grande expressão no mercado de oleaginosa, na exportação de subprodutos e na produção no país de óleo vegetal, tornando-se a principal forma de economia de pequenos agricultores na época [28,32]. Por diferentes fatores, entre eles a diminuição do preço do amendoim no mercado, essa cultura perdeu espaço em áreas de cultivo [28]. Com as melhorias na tecnologia de produção e qualidade dos grãos, a cultura de amendoim se reergueu na virada do século XXI [28].

Atualmente o consumo de amendoim é feito na forma *in natura*, na indústria de alimento na produção de doces (paçoca, pé de moleque, torrone, bombons, entre outros) e aperitivos (salgado com película e sem película, estilo japonês), na indústria de cosméticos, farmacêutica e fitoterápica. O amendoim pode ser utilizado na nutrição, devido a seu alto teor de proteínas, necessário por crianças na idade escolar. O farelo de amendoim já foi muito utilizado na alimentação de animais, entretanto, devido ao maior teor proteico a soja substituiu o amendoim. O amendoim é utilizado na produção de pasta e creme, por norte americanos e como substituto do feijão em países africanos. Entre os anos de 2000 a 2006 a Europa foi a principal importadora do amendoim brasileiro. Os principais países importadores de

amendoim com casca são: Espanha, Holanda e Itália, e sem casca, Holanda, Reino Unido, Itália, Alemanha e Polônia [32].

A cultura de amendoim deve ser plantada em solos com boa drenagem e aeração [32]. Sua cultura faz parte principalmente de economias de áreas tropicais e subtropicais do mundo [33]. A cultura de amendoim apresenta fácil manejo, pouca exigência de fertilizante do solo, além de seu plantio suporta escassez de água e ciclo curto. O cultivo de amendoim no Brasil se encontra em maior parte na região Sudeste, mais exatamente no estado de São Paulo, e em menor parte na região Sul, Centro-Oeste e Nordeste [28,34].

1.2.2 Composição do amendoim

O amendoim possui elevado valor energético, em média 596 cal/100g de semente, apresentando alto teor de óleo e proteínas, 45 – 55% e 24 – 36%, respectivamente. Desta forma, pode ser uma boa fonte de proteínas e óleo para alimentação dos seres humanos. O óleo de amendoim apresenta uma qualidade digestiva de 98% e as proteínas albumina e globulina, que fazem parte da estrutura de diversos órgãos [10,32,33]. A partir do amendoim pode-se fazer diferentes produtos, tais como a manteiga de amendoim, que possuem proteínas, gorduras insaturadas, minerais essenciais, vitaminas e antioxidantes [2]. As vitaminas que o amendoim possui são: a E (que tem um papel de antioxidante no corpo) e as B1 e B2 (importante no funcionamento do corpo) [32].

O amendoim pode ser considerado um alimento funcional devido aos seus benefícios à saúde. Se consumido em quantidade adequada, o amendoim pode reduzir e prevenir o câncer, controlar o colesterol e triglicérides e melhorar o metabolismo. Estudos também têm demonstrado que a alimentação frequente de amendoim ajuda na perda de massa corporal devido a contribuição na eliminação de gordura assim como a redução do índice de glicose no sangue devido ao alto teor de arginina (que estimula a produção de insulina) [32].

O amendoim possui também resveratrol que é bom para o sistema cardiovascular e tem atividade anti-inflamatória. É reportado na literatura que o amendoim torrado apresenta mais antioxidante que o amendoim cru [32]. A farinha

de amendoim tem o dobro do teor de aminoácidos necessários na dieta humana, contendo arginina, que é essencial para mulheres amamentando [28]. Já a torta do amendoim (resíduo da prensagem do grão ou extração de óleo com solvente) apresenta alto valores de vitamina B, aminoácidos, minerais e fibras, podendo a torta do amendoim ser utilizada na alimentação, como suplemento. O óleo de amendoim pode ser utilizado na alimentação, como hidratante para a pele (se extraído a frio) e para regular funções sanguíneas, por ser rico em ômega 6 e 9 [32].

O amendoim pode ser utilizado em misturas proteicas de oleaginosas. A mistura de gergelim, soja e amendoim apresenta alto valor nutricional em comparação com estas oleaginosas consumidas de maneira individual, visto que, são alimentos que se complementam em termo de proteínas. Essas misturas de oleaginosas podem ser utilizadas na alimentação infantil, tendo os seguintes benefícios: contribuem no crescimento e peso, melhoram na saúde e digestibilidade contribuindo para a nutrição [32].

O amendoim também pode ser utilizado para extração de óleo, podendo ser empregada na alimentação. A qualidade desse óleo dependerá do teor desse ácido graxo. O amendoim se mostra uma boa oleaginosa a ser utilizada na produção de óleos vegetais devido ao fato de conter um elevado valor de ácidos graxos [32,28].

1.2.3 Análise de amostras de amendoim

O preparo de amostra é uma etapa crítica na análise de amostras de amendoim e derivados, devido ao alto teor de matéria orgânica. A utilização de procedimentos de decomposição é muitas vezes necessário para superar algumas dificuldades encontradas na determinação de elementos traço em amostras orgânicas, que são muitas vezes difíceis de serem introduzidas de maneira direta em equipamentos que empregam nebulizadores [35]. Normalmente, problemas de precisão e reprodutibilidade da análise são enfrentados quando as amostras apresentam elevado teor de gordura, em virtude da quantidade de amostra pipetada pelo amostrador automático sofrer variação durante a análise [36]. Procedimentos de degradação de amostra têm como objetivo eliminar toda matéria orgânica da

amostra [37], devido a algumas técnicas, como as que possuem certos tipos nebulizadores utilizados, não conseguem analisar a amostra de maneira direta.

Ácidos oxidantes ou misturas de ácidos oxidantes são utilizados na decomposição por via úmida para destruição da matéria orgânica. Dentre os ácidos mais utilizados está o HNO_3 , que, normalmente é utilizado na digestão de amostras de oleaginosas. Para aumentar o poder oxidante do HNO_3 , misturas desse ácido com H_2O_2 têm sido muito empregadas [2,9,37,38,39,]. Outras misturas ácida também podem ser utilizadas na degradação da amostra. Shi e colaboradores empregaram a mistura HNO_3 e HClO_4 para a degradação de todas as partes da planta do amendoim [40].

O uso de sistemas fechados para decomposição de amostra tem a possibilidade de utilizar temperaturas e pressões elevadas, o que possibilita uma decomposição mais rápida e com menor consumo de reagente [4]. Em um estudo, Thien e colaboradores (2010) utilizaram metade do volume de HNO_3 concentrado utilizando forno de micro-ondas como método de decomposição quando comparado com um trabalho que empregou placa de aquecimento para digestão de amostras de amendoim [2,38]. A utilização de sistemas fechados também possibilita menor risco do analista, além de estes sistemas apresentarem menor probabilidade à contaminações [41]

Os métodos de digestão, embora tenham evoluído muito, ainda apresentam limitações. Como já mencionado, um exemplo, é o rendimento limitado de métodos de decomposição de amostras, utilizando sistemas fechados, tais como micro-ondas. A decomposição por micro-ondas em sistema fechado possui rendimento limitado, devido à capacidade dos tubos utilizados [4].

Métodos de extração tem sido utilizados na análise de derivados de amendoim. Hovanec (2004) utilizou mistura 8-butoxietanol-água para extração do arsênio em produtos a base de amendoim, tais como manteiga de amendoim. Para evitar perdas na fase de emulsão, acetona foi adicionada antes da adição do 8-butoxietanol [2].

CAPITULO II
AVALIAÇÃO MULTIVARIADA DE ELEMENTOS ESSENCIAIS
E NÃO ESSENCIAIS EM AMOSTRAS DE AMENDOIM

2.1 OBJETIVO

2.1.1 Objetivo Geral

Utilizar diferentes métodos de análise multivariada na avaliação dos teores de elementos essenciais e não essenciais em amostras de amendoim obtidas em diferentes cidades do nordeste do Brasil.

2.1.2 Objetivos Específicos

- ✓ Desenvolver métodos analíticos para a determinação de elementos traço por ICP OES e ICP-MS em amostras de amendoim.
- ✓ Validar métodos analíticos desenvolvidos empregando material de referência certificado
- ✓ Empregar PCA, HCA e redes neurais artificiais na análise de elementos traço em amostras de amendoim de diferentes cidades da Bahia e a cidade de Petrolina- PE.
- ✓ Comparar diferentes métodos análise multivariada no estudo de elementos traço em amostras de amendoim.

2.2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.2.1 Elementos essenciais e não essenciais

2.2.1.1 Elementos essenciais

Os alimentos possuem elementos que são considerados essenciais para o corpo humano [42], que são chamados de microelementos e macroelementos. A preocupação com a quantidade desses elementos presentes em alimentos básicos de determinada cultura é necessário para garantir a qualidade nutricional da dieta alimentar humana. Elementos essenciais tais como, Ca, Co, Cr, Mg, Mn, Mo, K, Na, Ni, P, Se, Zn, Cu e Fe fazem parte do metabolismo, crescimento, reprodução e função imunológica dos seres humanos [3,37,43].

O Zn está relacionado a várias enzimas e proteínas. A deficiência desse elemento causa perda de apetite e problemas na pele [37, 44, 45]. Maiores teores de Zn são necessários durante a gravidez e lactação [45]. O Cr é outro elemento essencial em baixa concentração, devido ao seu poder de controlar o nível de açúcar no sangue junto com a insulina. O Cu faz parte das enzimas que são responsáveis pelo metabolismo do Fe. A falta de cobre no organismo causa osteoporose, leucopenia e anemia [37,44].

O Fe está presente na hemoglobina, responsável pela respiração. A deficiência de ferro é responsável pela anemia. [3,44]. O Mn contribui na produção de aminoácidos, lipídios, proteínas e carboidratos [32]. O Ca é responsável pela produção de tecidos ósseos e dentes, contração muscular, coagulação do sangue e transmissão de impulsos elétricos. A falta desse elemento causa osteoporose [44, 45]. O amendoim apresenta valores muito superiores de cálcio quando comparado a outras amostras de oleaginosas tais como a, soja e o milho [46, 47].

O Mg está envolvido nas atividades neurológicas e cardiovasculares no corpo humano [33]. O P tem o papel na síntese de ATP (adenosina trifosfato), o qual está relacionado ao armazenamento de energia, no interior da célula. Além da constituição dos ácidos nucleicos (DNA e RNA), responsáveis pela memória genética e leitura do DNA para construção de moléculas de proteínas, dentre outras

[32]. O Se é outro elemento importante para os seres humanos, participando da síntese de enzimas que evitam a oxidação de lipídios [48], enquanto o Co está presente na vitamina B12, que em baixa concentração pode provocar anemia e problemas neurológicos [49].

Elementos essenciais também podem ter o papel de um elemento funcional, devido ao seu poder de prevenir ou tratar certas doenças. O potássio a depende da sua concentração contribui para diminuir o desenvolvimento de doenças renais e cardiovasculares. O selênio possui propriedade antioxidante que ajuda na imunidade e combate ao câncer e doenças cardiovasculares [4]. Trabalhos têm sido desenvolvidos com a finalidade de aumentar os níveis de elementos essenciais de maneira genética ou através de práticas agrícolas, já que o aumento da nutrição pode não só aumentar a quantidade de elementos essenciais para seres humanos, como também o rendimento da produção [38].

Vários elementos essenciais podem ser prejudiciais à saúde a partir de um valor determinado, recomendado pelas agências reguladoras [42]. O selênio e o cobalto, são exemplos de elementos que podem ser considerados tóxicos a partir de determinada concentração [48,49]. Microelementos necessários para o desenvolvimento das plantas e nutrição dos seres humanos, como Ca, Cu, Cr, Fe e Ni, por exemplo, podem ser tóxicos a partir de determinada concentração [10].

O cobre é um elemento necessário para seres humanos, mas em alta concentrações, $10 \mu\text{g d}^{-1}$ para um homem de 19-30 anos, causa problemas gastrointestinais e danos nos rins e fígado. O mesmo acontece com o Fe que em baixa concentração causa anemia, entretanto, em alta concentração, se torna prejudicial à saúde acima 45 mg d^{-1} para um adulto, podendo produzir radicais livres, o que causa danos ao tecido humano [37, 45,50]. O excesso de Ca pode ocasionar a formação de pedras nos rins [45]. Por isso deve se ter um cuidado no aumento desses elementos nos alimentos. Além da concentração, o estado de oxidação também pode indicar se o elemento é essencial ou tóxico. O Cr a depender da espécie pode ser considerado elemento altamente prejudicial à saúde, sendo a espécie Cr^{6+} considerada toxica.

A escolha da técnica a ser utilizada deve levar em consideração a frequência e simplicidade da análise, os analitos e a sua concentração a ser determinada, custo

e eficiência [4]. Diferentes técnicas podem ser utilizadas na determinação de elementos essenciais: Espectrometria de absorção atômica com chama (F AAS) [3] ou Espectrometria de absorção Atômica com Forno de Grafite (GF AAS), Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES) [4], Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-MS) [2,3,9,4], entre outras. A Espectrometria de Absorção Atômica (AAS) tem se tornado uma das principais técnicas para análises, devido ao seu baixo custo instrumental. Entretanto, com AAS normalmente só é possível medir elementos individuais, enquanto as técnicas de Espectrometria de emissão possibilitam análise multielementar [4]. Entre as técnicas de análise a de ICP-MS tem apresentado vantagens em comparação a outras técnicas, como ICP OES e absorção atômica, por seu baixos limites de quantificação e alta seletividade [3].

2.2.1.2 Elementos não essenciais

Os elementos tóxicos podem estar presentes em todo ambiente, devido à ocorrências naturais ou antropogênicas [9]. Uma das formas de contaminação dos seres humanos a metais e metaloides tóxicos é através da alimentação, prejudicando a saúde da população [51]. Elementos tais como cádmio e arsênio podem ser ingeridos durante alimentação, podendo causar problemas respiratórios, cardiovasculares, disfunção renal, neurológicos e doenças de pele [8]

Os vegetais e cereais são as principais fontes diárias de elementos não essenciais para os seres humanos e animais. Os alimentos podem ser contaminados durante o plantio, em processos industriais ou por meio de preparo. A contaminação por elementos tóxicos pode provocar no corpo a perda de nutrientes, prejudicar o sistema de defesa imunológico, levar durante a gravidez o retardamento do crescimento do feto, desnutrição e câncer gastrointestinal, entre outras enfermidades [52].

O preparo da amostra para alimentação humana é uma das possíveis formas de contaminação, devido à água e aparelhos de cozinha. Durante o preparo também pode ocorrer a diminuição da concentração de certos elementos, devido ao

cozimento, o que pode provocar solubilização de alguns metais, que terão a água do cozimento descartada [7].

O acompanhamento dos níveis de elementos não essenciais são cada vez mais necessários. Os métodos utilizados devem apresentar limites de detecção e de quantificação abaixo dos valores máximos que são regulamentados pelos órgãos governamentais. Além disso, por estes contaminantes estarem geralmente presentes em baixas concentrações, requer o desenvolvimento de métodos cada vez mais sensíveis e precisos. O aprimoramento de antigos métodos e o desenvolvimento de novos métodos têm sido realizado com a finalidade de identificar, localizar e quantificar vários elementos tóxicos, os quais geralmente estão presentes em baixas concentrações. Elementos como Cd são tóxicos principalmente para as crianças [37]. O Cd pode causar danos mesmo em baixa concentração [10] e concentrações elevadas podem levar a problemas nos rins, pulmão, fígado e nos tecidos ósseo [37,51].

2.2.2 Análise Multivariada

2.2.2.1 Análise por Componentes Principais

A análise multivariada tem sido cada vez mais utilizada no tratamento de dados obtidos por métodos analíticos [53], isto acontece devido ao grande número de resultados obtidos nessas análises. Por exemplo, na análise de alimentos, normalmente se tem um grande número de amostras a serem analisadas para um grande número de analitos, tornando a avaliação dos resultados bastante complexo [54]. A Análise por Componentes Principais (PCA) tem um papel de transformar o conjunto de dados em componentes principais, que tem iguais dimensões, para se obter informações de sua variação através de sua combinação linear [55].

A PCA é uma ferramenta de análise multivariada, que tem sido utilizada por diversas áreas, tais como: agronomia, química, física, medicina, entre outras. Pearson foi o primeiro a descrevê-la, sendo Hotelling responsável por métodos computacionais práticos de determinação e estrutura de correlação [55].

Na PCA os resultados podem ser apresentados a partir de gráficos, que contém informação sobre pesos das variáveis estudadas e similaridade das amostras. Como a identidade da amostra não é considerada no tratamento de dados, PCA é considerada uma forma de análise multivariada não supervisionada ou exploratória [53]. A PCA tem como qualidade a transformação de variáveis intercorrelacionadas em variáveis não correlacionadas [55].

A partir da utilização da PCA é possível verificar a semelhança da composição química das amostras que estão sendo estudadas, a partir de uma redução dimensional. As variáveis formadas na PCA são denominadas componentes principais (PC's) e são representadas de maneira ortogonais. A variância das PCs deve ser levada em consideração no tratamento de dados, sendo a primeira PC a que possui maior variância [53,54]. Normalmente o número de PCs que explicam a maior parte da variância é menor do que o número de variáveis estudadas [56].

O emprego da PCA possibilita agrupar um conjunto de amostras de acordo com o comportamento de suas variáveis dentro do sistema, demonstrando quais características contém maior peso [55]. A variável que for responsável pela formação de determinados grupos pode ser estabelecida através de gráficos de peso relacionados com gráficos de score obtidos na mesma análise.

A PCA tem sido utilizada sobre diferentes finalidades, podendo ter como objetivo a diferenciação ou identificação de amostras. Da Silva e colaboradores (2017) utilizaram a PCA como ferramenta na identificação de fontes antropogênicas e naturais dos elementos As, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, e Zn na carga do leite do rio Ipojuca no Brasil [57]. Kamal e Karoui (2017) utilizaram PCA para discriminar as amostras de leite de camelo, após estas terem passado por diferentes procedimentos térmicos. Levando em consideração que normalmente se utilizam esses procedimentos térmicos para prolongar a vida útil do leite, eliminando microrganismos [58].

2.2.2.2 Análise por Agrupamento Hierárquico

A Análise por Agrupamento Hierárquico (HCA) é uma forma de estatística multivariada que emprega algoritmos [54], para obter informações sobre a proximidade dos dados estudados. Os dados são apresentados em forma de grupos a partir de sua similaridade e a análise é considerada exploratória.

A HCA analisada é representada a partir de diagramas bidimensionais, chamados de dendogramas, que mostram os grupos formados a partir de sua similaridade. No dendograma um dos eixos do diagrama representa a medida de similaridade entre as amostras estudadas e no outro eixo as amostras [56].

O HCA normalmente é empregado junto com a PCA na análise multivariada, como se fossem ferramentas complementares. De Souza e colaboradores (2016) utilizaram HCA e PCA para análise de sete elementos em amostras de jenipapo (*artocarpus altilis*) in natura, cozida por micro-ondas e fogão [59]. Cebi e colaboradores (2017) utilizaram HCA e PCA combinado a Espectroscopia de Raman, uma técnica não destrutiva, para detecção de L-cisteína, em farinha de trigo. A adição de L-cisteína em farinha de trigo é proibida na Turquia e por isso a necessidade de sua identificação [60].

2.2.2.3 Redes Neurais

As redes neurais são uma forma de inteligência artificial que tem sido cada vez mais empregada em diferentes tipos de pesquisas [61,62]. Ao contrário do PCA e HCA as redes neurais podem ser divididas em métodos supervisionados ou não-supervisionado, conforme sua forma aprendizagem [62]. A rede neural foi desenvolvida por Warren McCulloch e Walter Pitts na década de 40 [62].

O uso de redes neurais artificiais tem crescido cada vez mais como ferramenta de contribuição em processos físicos, químicos e biológicos. Borges e colaboradores (2017) empregaram redes neurais artificiais para estimar o combustível gasto durante o preparo do solo por tratores [63]. Veronezi e colaboradores (2011) utilizaram redes neurais como ferramenta para auxiliar no

diagnóstico de osteoartrite primária, que provoca dificuldade de movimentação e dor [64].

As redes neurais artificiais, a partir de modelo computacional, funcionam como o cérebro humano. Cada neurônio recebe um estímulo de dentro ou de fora do sistema e isto faz com que ele forneça uma resposta que irá estimular outros neurônios ou irá para fora do sistema [62, 64]. Assim, esse modelo computacional faz com que os neurônios artificiais criem conexões com outros neurônios de maneira específica para determinada finalidade [64,65]. Comparado a ferramentas de regressão, as redes neurais apresentam muitas vantagens, tais como a capacidade de utilizar além de variáveis quantitativas as variáveis qualitativas, e a possibilidade de resolver problemas complexos, podendo analisar uma quantidade grande de dados [65]. As principais características das redes neurais são: adaptação por experiência - a qual está relacionada com os ajustes dos pesos sinápticos a partir do comportamento do processo; capacidade de aprendizagem - que envolve os métodos de treinamento, possibilitando assim à rede, identificar as relações entre as variáveis aplicadas no processo; habilidade de generalização - a partir do conhecimento adquirido no treinamento a rede pode estimar soluções que até então eram desconhecidas; organização de dados – baseando-se na similaridade das informações coletadas a rede consegue agrupar amostras levando em conta suas similaridades [66].

Um exemplo de rede neural artificial não-supervisionada e auto-organizável que pode atuar na análise exploratória é a de Kohonen [62, 67]. Esse tipo de rede neural artificial foi desenvolvida pelo finlandês Teuvo Kohonen [67]. A rede de Kohonen possui apenas uma unidade de entrada e uma de processamento, onde os neurônios estão ligados aos seus vizinhos mais próximos [62]. A cada nova análise dos dados os resultados vão se modificando e a rede neural vai sendo treinada, até uma configuração estável [62].

Gontijo e colaboradores (2014) utilizaram as redes neurais de Kohonen na análise das amostras de água coletadas no leste do Quadrilátero Ferrífero situado na região sudeste do Brasil. Esse trabalho teve a finalidade de avaliar a relação entre as variáveis estudadas e a distribuição das amostras. Nessa rede, as amostras que apresentam características semelhantes, com relação às variáveis estudadas,

são colocadas sobre o mesmo neurônio. Entre as suas vantagens, a Rede Kohonen possibilita a visualização de todas as informações contidas na análise em uma matriz, o que não é possível com PCA. Todavia a PCA necessita do estudo de várias PC's, para se obter uma análise dos resultados [67].

2.3 PARTE EXPERIMENTAL

2.3.1 Equipamentos / Acessórios

As amostras de amendoim foram liofilizadas utilizando o liofilizador modelo Micromodulyo (Thermo Electron Corporation). A decomposição da amostra foi realizada utilizando forno de micro-ondas com cavidade modelo Start D (Milestone, Sorisole, Itália), o qual é equipado com 10 tubos de TFM de 100mL e camisas de cerâmica.

O equipamento utilizado na determinação de Ca, K, Mg, Na, P, Cu, Fe, Mn e Zn foi um espectrômetro emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) com configuração axial (VISTA PRO, Varian, Mulgrave, Austrália) o qual possui um dispositivo de carga acoplado (CCD). O sistema de introdução de amostra é o nebulizador V-groove associado à câmara de nebulização Sturman Master. As condições do equipamento utilizado encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1. Condições instrumentais de análise do ICP OES

Parâmetros	Valores
Potencia da RF (kW)	1,2
Vazão do gás do plasma (L min ⁻¹)	15,0
Vazão do gás auxiliar (L min ⁻¹)	1,5
Pressão do nebulizador (kPA)	200
Tempo de leitura das replicatas (s)	2,0
Tempo de estabilização do instrumento (s)	15
Rotação da bomba (rpm)	15
Linhas espectrais nm	Ca II (422,673); Cu II (327.395);
	Mg II (279,553); Zn II (213,857);
	P I (213,618); Mn II (257,610);
	Na I (589,592); Fe II (238,204)
	K (766,491);

Fonte: próprio autor

Na determinação de V, Cr, Co, Ni, Mo e Cd foi utilizado a técnica de Espectrometria de Massas com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-MS) de baixa resolução (quadrupolo), modelo XSeries II (Thermo Electron Corporation). O ICP-MS utilizado possuía uma câmara de nebulização com pérola de impacto refrigerada com um Peltier e tocha de quartzo. O equipamento foi operado no modo padrão. Para análise por ICP-MS foi necessária a utilização de padrão interno, tendo os cálculos de correção realizado pelo próprio equipamento Os padrões internos utilizados nos estudos foram Sc, Ge, Rh e Tl, tanto nas amostras, quanto nas soluções do branco e curva de calibração. As condições experimentais empregadas ICP-MS encontram-se na Tabela 2.

Tabela 2. Condições instrumentais de análise por ICP-MS para análise de amostras de amendoim

Parâmetro	Valores	
Potência RF (W)	1400	
Fluxo argônio plasma (slm)	13	
Fluxo argônio auxiliar (slm)	0,8	
Fluxo de aspiração da amostra (slm)	0,9	
<i>Dwell time</i> (ms)	10	
<i>Sweeps</i>	100	
Replicatas	3	
Isótopos	⁵¹ V	⁵³ Cr
	⁵⁹ Co	⁶⁰ Ni
	⁹⁸ Mo	¹¹¹ Cd
	⁴⁵ Sc	¹⁰³ Rh
	⁷² Ge	²⁰⁵ Tl

Fonte: próprio autor

2.3.2 Reagentes, soluções e amostra

Água ultrapura (resistividade 18 MΩ cm⁻¹) foi empregada no pré-tratamento da amostra, preparo de soluções padrão, amostras e limpeza das vidrarias. As vidrarias foram colocadas em banho de ácido nítrico 10%, por 24 horas antes de

serem lavadas com água ultrapura. A secagem das vidrarias foi realizada sobre condições de ar limpo em temperatura ambiente.

O ácido nítrico utilizado foi de grau de pureza elevado (Merck, Germany). Esse ácido foi bidestilado utilizando destilador foi empregado no preparo das soluções, padrões e digestão das amostras. O peróxido de hidrogênio (Merck, Germany) foi empregado na digestão das amostras possuindo grau de pureza elevado. Soluções padrões rastreadas monoelementares de Ca, K, Mg, Na, P, Cu, Fe, Mn, Zn, V, Cr, Co, Ni, Mo e Cd foram utilizadas no preparo das soluções da curva de calibração externa. Uma solução de padrão interno multielementar de Ge, Sc, Tl e Rh na concentração de 10 mg L^{-1} foi empregada para diminuir interferências durante a análise por ICP-MS. Material de referência certificados (NIST – National Institute of Standard and Technology, USA) de folha de maçã (NIST 1515), leite em pó sem gordura (NIST 1549) e de folha de tomate (1573a) foram empregados na validação dos métodos analíticos utilizados.

2.3.3 Procedimento de preparo da amostra

As amostras de amendoim *in natura* de oito cidades diferentes da Bahia, Brasil, foram analisadas: Cruz das Almas (CA), Santo Amaro (SA), Acajutiba (A) Vitória da Conquista (VC), Juazeiro (J), Entre Rios (ER), Maragogipe (M) e Mundo Novo (MN). Uma amostra de Petrolina (P) do estado de Pernambuco também foi analisada, devido a sua proximidade com a Bahia. Dentre as amostras utilizadas apenas a de Vitória da Conquista foi limpa anteriormente pelo vendedor. Estas amostras foram lavadas com água ultrapura, sendo a semente das amostras separadas da casca após a lavagem. As sementes foram liofilizadas após o congelamento das mesmas. Depois de liofilizadas as sementes foram trituradas em um moinho. Para a digestão foi pesada 0,40 g de amostra, diretamente no tubo de teflon. Após a pesagem foi adicionado ao tubo, 4,0 mL de ácido nítrico e 2,0 mL de peróxido de hidrogênio, e deixado em repouso durante 20 minutos. Antes da digestão no micro-ondas foi adicionado 2,0 mL de água, para completar o limite mínimo permitido pelo equipamento. Na Tabela 3, encontra-se o programa de digestão utilizado.

Tabela 3. Programa de digestão utilizado no micro-ondas com cavidade para amostras de amendoim

Etapa	Tempo (min)	Temperatura (°C)	Potência máxima (W)
1	5	80	600
2	2	80	600
3	4	120	800
4	2	120	800
5	10	180	1000
6	2	180	1000
7	5	200	1000
8	10	200	1000

Fonte: próprio autor

2.3.4 Análise Multivariada das amostras de semente de amendoim

Os dados obtidos por ICP OES e ICP-MS foram avaliados por três ferramentas de análise exploratória: análise por componentes principais (PCA), análise por componentes hierárquico (HCA e rede neurais com mapas auto organizáveis de Kohonen e algoritmo K-means. Para análise por PCA e HCA foi utilizado o programa Statistica 6.0 gerando uma matriz de dados (27x15), tendo as amostras dispostas em linhas e os analitos em colunas. Os dados foram processados através de autoescalonamento.

Na análise por redes neurais o software Matlab foi usado na implementação, treinamento e clusterização dos dados versão R2013a (64bits). Foi utilizado somtoolbox, disponível em www.cis.hut.fi/projects/somtoolbox/documentation/somalg.shtml. O algoritmo K-Means (também chamado de K-Médias) é empregado para fornecer uma classificação de informações de acordo com os próprios dados. Esta classificação é baseada em análise e comparações entre os valores numéricos dos dados. Desta maneira, o algoritmo fornece uma classificação automática sem a necessidade de nenhuma supervisão humana, ou seja, sem nenhuma pré-classificação existente. Por causa desta característica, o K-Means é considerado como um algoritmo de mineração de dados não supervisionado [68]. O emprego dos algoritmos foi realizado com base no trabalho de Novaes e colaboradores [69].

2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.4.1 Validação do método empregando ICP OES e ICP-MS para os elementos estudados.

2.4.1.1 Limites de detecção e quantificação

O limite de detecção (LD) representa a menor concentração detectada do analito e o limite de quantificação (LQ) representa a menor concentração do analito que pode ser medida a partir do método analítico proposto [70]. Os limites de detecção e quantificação foram calculados a partir da relação entre o desvio padrão de 10 brancos (s), foram submetidos ao mesmo procedimento da amostra e o coeficiente angular da curva de calibração externa (a). O cálculo do LD e LQ foram realizados utilizando as equações 1 e 2, respectivamente. Os valores de LD e LQ estão dispostos para método de ICP OES na Tabela 4, em mg Kg^{-1} , sendo os que se encontram entre parênteses em unidade de mg L^{-1} . Para o método empregando ICP-MS os valores estão dispostos na Tabela 5 em $\mu\text{g Kg}^{-1}$, sendo os que se encontram entre parênteses em unidade de $\mu\text{g L}^{-1}$.

$$LD = \frac{3s}{a} \quad \text{Equação 1}$$

$$LQ = \frac{10s}{a} \quad \text{Equação 2}$$

Tabela 4. Limites de detecção e quantificação da digestão para o método desenvolvido e determinação por ICP OES

Elemento	LD mg Kg ⁻¹ (mg L ⁻¹)	LQ mg Kg ⁻¹ (mg L ⁻¹)
Ca	0,84 (0,014)	2,82 (0,045)
K	0,84 (0,013)	2,81(0,045)
Mg	0,27 (0,004)	0,90 (0,014)
P	0,60 (0,010)	2,00 (0,032)
Cu	0,03 (0,001)	0,11 (0,002)
Fe	0,16 (0,003)	0,55 (0,009)
Mn	0,10 (0,002)	0,33 (0,005)
Na	0,22 (0,004)	0,75 (0,012)
Zn	0,76 (0,012)	2,54 (0,041)

LD = limite de detecção

LQ = limite de quantificação

Fonte: próprio autor

Tabela 5. Limites de detecção e quantificação da digestão para o método desenvolvido e determinação por ICP-MS

Elemento	LD µg Kg ⁻¹ (µg L ⁻¹)	LQ µg Kg ⁻¹ (µg L ⁻¹)
V	0,53 (0,008)	1,75 (0,028)
Cr	1,44 (0,023)	4,81 (0,077)
Co	1,08 (0,017)	3,59 (0,057)
Ni	0,97 (0,016)	3,24 (0,052)
Mo	0,39 (0,006)	1,29 (0,021)
Cd	0,67 (0,011)	2,24 (0,036)

LD = limite de detecção

LQ = limite de quantificação

Fonte: próprio autor

2.4.1.2 Precisão

A precisão em um método analítico está relacionada com a dispersão dos resultados obtidos para vários ensaios de uma amostra, os quais foram lidos sobre as mesmas condições [70]. A precisão do método proposto para ICP OES e ICP-MS foi calculada utilizando o desvio padrão relativo (RSD), a partir do desvio padrão (s)

e média (M) de sete resultados obtidos para a amostra. O cálculo para RSD pode ser visualizado na Equação 3.

$$RSD = \frac{s}{M} 100 \quad \text{Equação 3}$$

A precisão empregando ICP OES foi realizada em três amostras de amendoim, apresentando uma variação entre 0,75 a 6,62% (Tabela 6). Os valores de precisão para a amostra de vitória da conquista, para sódio não puderam ser calculados em virtude de estarem abaixo do LQ.

Tabela 6. Valores de precisão em termo de desvio padrão relativo para amostras de amendoim empregando ICP OES

Elemento	SA %	VC %	CA %
Ca	3,02	4,62	1,58
K	1,22	1,81	1,68
Mg	0,87	2,57	2,38
P	0,96	2,58	1,90
Cu	1,95	2,74	1,17
Fe	4,06	2,59	1,49
Mn	1,59	1,41	1,47
Na	0,75	-	6,62
Zn	4,24	1,94	1,17

VC= Vitória da Conquista
 SA = Santo Amaro
 CA = Cruz das Almas
 Fonte: próprio autor

A precisão empregando ICP-MS foi realizada em três amostras de amendoim, apresentando uma variação entre 0,94 e 6,03% (Tabela 7).

Tabela 7. Valores de precisão em termo de desvio padrão relativo para amostras de amendoim empregando ICP-MS

Elemento	SA %	VC %	CA %
V	0,94	1,60	2,71
Cr	1,86	2,46	4,40
Co	2,40	1,61	4,83
Ni	2,01	1,98	1,78
Mo	1,23	3,44	2,55
Cd	5,08	6,03	3,03

VC= Vitoria da Conquista

SA = Santo Amaro

CA = Cruz das Almas

Fonte: próprio autor

2.4.1.3 Exatidão

A exatidão representa o grau de concordância entre o valor obtido experimentalmente e o valor verdadeiro e/ou certificado. O nível de confiança deve ser levado em consideração neste [70] A exatidão do método desenvolvido foi avaliada utilizando materiais de referência certificados de folha de tomate (NIST 1573a) e leite em pó sem gordura (NIST 1549) para a técnica ICP OES. Para método empregando ICP-MS como técnica de detecção, os materiais de referência certificados foram os de folha de tomate (NIST 1573a) e folha de maçã (NIST1515). Os valores obtidos e certificados estão apresentados nas Tabelas 8, 9, 10 e 11, Os valores foram representados com intervalo de confiança de 95%, não sendo constatada diferença significativa entre valores certificados e valores encontrados para os métodos desenvolvidos e determinação por ICP OES e ICP-MS.

Tabela 8. Valores obtidos e certificado para o material de referência de leite em pó sem gordura (NIST 1549) empregando ICP OES.

	Valor Certificado	Valor encontrado
Ca	(1,30 ± 0,05) %	(1,30 ± 0,08)%
Mg	(0,120 ± 0,003)%	(0,109 ± 0,009)%
P	(1,06 ± 0,02)%	(1,03 ± 0,08)%
Na	(0,497 ± 0,010)%	(0,480 ± 0,044)%
K	(1,69 ± 0,03) %	(1,73 ± 0,15)%
Cu	(0,7 ± 0,1) mg Kg ⁻¹	(0,8 ± 0,1)mg Kg ⁻¹
Zn	(46,1 ± 2,2)mg Kg ⁻¹	(46,4± 1,9)mg Kg ⁻¹
Mn	(0,26 ± 0,06)mg Kg ⁻¹	(0,22 ± 0,02) mg Kg ⁻¹
Fe	(1,78 ± 0,10)mg Kg ⁻¹	(1,71 ± 0,23)mg Kg ⁻¹

Fonte: próprio autor

Tabela 9. Valores obtidos e certificado para o material de referência de folha de tomate (NIST 1573a) empregado ICP OES.

	Valor Certificado	Valor encontrado
Ca	(5,05 ± 0,09)%	(5,22 ± 0,11)%
Mg	1,2 %	(1,09 ± 0,05)%
P	(0,216 ± 0,004)%	(0,215 ± 0,003)%
Na	(136 ± 4) mg Kg ⁻¹	(135 ± 12) mg Kg ⁻¹
K	(2,70 ± 0,05) %	(2,76 ± 0,11)%
Cu	(4,70 ± 0,14)mg Kg ⁻¹	(4,33± 0,37)mg Kg ⁻¹
Zn	(30,9 ± 0,7) mg Kg ⁻¹	(30,5 ± 1,1) mg Kg ⁻¹
Mn	(246 ± 8) mg Kg ⁻¹	(237 ± 6) mg Kg ⁻¹
Fe	(368 ± 7) mg Kg ⁻¹	(355 ± 15) mg Kg ⁻¹

Fonte: próprio autor

Tabela 10. Valores obtidos e certificado para o material de referência de folha de maçã (NIST 1515) empregado ICP-MS.

Elemento	Valor Certificado	Valor encontrado
V	(0,26 ± 0,03) mg Kg ⁻¹	(0,22 ± 0,03) mg Kg ⁻¹
Cr	0,3 mg Kg ⁻¹	(0,29 ± 0,01) mg Kg ⁻¹
Co	0,09 mg Kg ⁻¹	(0,08 ± 0,01) mg Kg ⁻¹
Ni	(0,91 ± 0,12) mg Kg ⁻¹	(0,92 ± 0,05) mg Kg ⁻¹
Mo	(0,094 ± 0,013) mg Kg ⁻¹	(0,082 ± 0,002) mg Kg ⁻¹
Cd	(0,013 ± 0,002) mg Kg ⁻¹	(0,011 ± 0,002) mg Kg ⁻¹

Fonte: próprio autor

Tabela 11. Valores obtidos e certificado para o material de referência de folha de tomate (NIST 1573a) empregado ICP MS.

Elemento	Valor Certificado	Valor encontrado
V	(0,835 ± 0,010) mg Kg ⁻¹	(0,919 ± 0,101) mg Kg ⁻¹
Cr	(1,99 ± 0,06) mg Kg ⁻¹	(1,79 ± 0,20) mg Kg ⁻¹
Co	(0,57 ± 0,02) mg Kg ⁻¹	(0,56 ± 0,02) mg Kg ⁻¹
Ni	(1,59 ± 0,07) mg Kg ⁻¹	(1,73 ± 0,11) mg Kg ⁻¹
Mo	0,46 mg Kg ⁻¹	(0,44 ± 0,02) mg Kg ⁻¹
Cd	(1,52 ± 0,04) mg Kg ⁻¹	(1,48 ± 0,02) mg Kg ⁻¹

Fonte: próprio autor

2.4.2 Determinação de elementos traço por ICP OES e ICP-MS

As amostras foram analisadas por ICP OES e ICP-MS em triplicata. Os resultados foram obtidos empregando curva de calibração externa para ambas as técnicas. Os resultados para as concentrações dos analitos foram expressos em mg Kg⁻¹. Na Tabela 12 encontra-se os resultados expresso de cada triplicata da determinação Ca, K, Mg, Na, P, Cu, Fe, Mn e Zn empregando ICP OES e V, Cr, Co, Ni, Mo e Cd empregando ICP-MS em amostras de amendoim de nove cidade do

Brasil. Os valores apresentados abaixo do limite de quantificação foram substituídos por estes, os quais se encontram em vermelho na Tabela 12.

2.4.3 Avaliação dos dados empregando Análise por Componentes Principais (PCA) e Análise Hierárquica de Dados (HCA)

Os resultados obtidos por ICP OES e ICP-MS para as amostras de semente de amendoim de oito cidades diferentes da Bahia e uma de Petrolina- Pernambuco foram analisadas por PCA e HCA utilizando o programa Statistica 6.0. Uma matriz de dados (27x15) foi gerada, na qual as amostras Cruz das Almas (CA), Santo Amaro (SA), Acajutiba (A), Vitoria da Conquista (VC), Juazeiro (J), Entre Rios (ER), Petrolina (P) Maragogipe (M) e Mundo Novo (MN) foram dispostas em linhas e os analitos Ca, K, Mg, Na, P, Cu, Fe, Mn, Zn, V, Cr, Co, Ni, Mo e Cd, dispostos em colunas. Os dados foram processados através de autoescalamento, devido às concentrações dos elementos apresentarem ordem de grandezas diferentes.

Tabela 12. Concentração de elementos nas amostras de sementes de amendoim em oito cidades da Bahia e uma de Pernambuco (mg Kg⁻¹)

	Ca*	Mg*	P*	Na*	K*	Cu*	Zn*	Mn*	Fe*	V**	Cr**	Co**	Ni**	Mo**	Cd**
CA1	494,6979	2382,3710	4505,4223	48,2189	8880,3661	9,2541	48,2577	16,0962	29,3031	0,0263	0,1182	0,0057	0,8846	0,6356	0,0401
CA2	477,4945	2297,7796	4381,4595	42,7897	8607,9110	9,3125	48,4372	16,1216	28,3280	0,0287	0,1169	0,0062	0,8690	0,6193	0,0386
CA3	447,0883	2303,9159	4384,8361	42,2295	8605,4093	9,1960	48,2808	16,4035	25,9685	0,0320	0,1386	0,0057	0,8388	0,6191	0,0419
SA1	444,1453	2437,4402	4246,6852	20,3347	8673,4615	6,7690	46,3739	18,9098	36,6508	0,0254	0,1274	0,0105	3,8342	1,3658	0,0488
SA2	460,1863	2424,0084	4227,3722	20,3335	8604,3071	6,7426	49,0355	18,6659	36,3372	0,0258	0,1168	0,0109	3,9662	1,3932	0,0454
SA3	451,1726	2447,0873	4258,8204	23,8816	8615,5201	6,7759	47,1151	18,7306	35,5034	0,0253	0,1096	0,0109	3,8596	1,3947	0,0439
A1	477,0721	2419,5834	5341,3841	19,9988	8742,1267	8,6277	48,7231	20,8954	25,1491	0,0147	0,0487	0,0205	3,1083	0,3341	0,0537
A2	483,5742	2429,1309	5240,5247	20,5258	8520,8075	8,8026	49,8257	20,9802	24,6942	0,0166	0,0502	0,0212	3,1566	0,3359	0,0532
A3	501,7655	2500,9258	5554,1968	21,6124	8862,2903	9,0303	51,7847	21,7853	25,3178	0,0171	0,0556	0,0217	3,4266	0,3488	0,0519
VC1	377,6095	2164,0458	4020,2787	0,7466	7321,3936	10,6186	44,7041	23,8694	21,7620	0,0208	0,0808	0,0105	1,8836	1,2654	0,0142
VC2	377,3128	2122,9278	4025,2625	0,7466	7328,6944	10,4990	44,6904	23,5337	21,8188	0,0222	0,0806	0,0109	1,8435	1,2431	0,0145
VC3	373,8953	2118,5223	4083,2757	0,7466	7301,3324	10,6460	44,4492	23,9930	21,6839	0,0219	0,0748	0,0109	1,8724	1,3365	0,0161
J 1	175,3609	1763,6946	3139,7080	0,7466	8390,9431	7,0474	53,6748	18,4752	29,7829	0,0102	1,0277	0,0208	4,5057	0,6602	0,0125
J 2	178,7579	1777,4780	3185,0792	0,7466	8434,7097	7,0146	52,0444	18,0397	31,4028	0,0108	1,2058	0,0245	4,7034	0,5989	0,0138
J 3	162,5441	1729,5468	3078,7418	0,7466	8597,4140	7,1799	53,5192	18,3392	32,2812	0,0102	1,2486	0,0234	4,6424	0,6711	0,0128
ER 1	440,7863	2138,0266	4169,0148	34,1582	8137,2102	10,3175	46,7955	20,3876	25,6414	0,0042	0,1377	0,3708	9,2538	0,9656	0,0405
ER 2	455,8512	2134,6412	4087,1475	34,1025	8147,2967	10,4498	46,9133	19,8026	25,3733	0,0045	0,1117	0,3766	9,3687	0,9520	0,0382
ER 3	453,9811	2113,9545	4171,7967	34,2759	7900,9238	10,3109	46,2142	19,9622	24,9576	0,0038	0,1094	0,3848	9,2369	1,0519	0,0391
P 1	476,8428	2354,2685	3778,5731	39,4494	7054,6124	6,5232	42,7008	22,7055	27,5380	0,0018	0,0924	0,0160	2,2869	1,4853	0,0210
P 2	491,4343	2330,8882	3720,6095	40,1949	7045,9607	6,6428	42,3826	23,0624	26,3880	0,0018	0,0773	0,0134	2,1927	1,4040	0,0204
P 3	480,2844	2357,7202	3771,6778	39,7077	7038,2344	6,5948	42,6890	23,1029	26,7258	0,0018	0,0849	0,0165	2,3202	1,4471	0,0235
M 1	151,0293	2295,2238	4182,9626	9,3433	8626,4351	8,6709	43,1273	20,9911	24,9233	0,0140	0,1609	0,0135	5,9993	0,1276	0,0194
M 2	152,5499	2185,4641	4026,1863	8,9931	8434,2574	8,4795	42,9509	20,5599	23,5623	0,0149	0,1629	0,0139	5,8621	0,1202	0,0179
M 3	143,3256	2204,0410	3906,0898	9,5292	8564,5207	8,5232	42,8324	20,6606	23,3795	0,0139	0,1579	0,0125	5,8433	0,1186	0,0204
MN 1	284,8270	2090,8113	4248,4904	0,7466	8211,9491	7,4641	51,3929	17,7157	21,9288	0,0120	0,1307	0,0040	0,8648	0,5942	0,0364
MN 2	292,3575	2073,8954	4192,3195	0,7466	8085,8361	7,1257	51,1547	17,4553	21,8760	0,0124	0,1309	0,0036	0,8367	0,5492	0,0358
MN 3	315,3621	2199,5150	4447,2617	0,7466	8148,8926	7,1027	51,1304	17,6286	22,5216	0,0104	0,1358	0,0036	0,8272	0,6244	0,0329

*determinado empregando ICP OES

** determinado empregando ICP-MS

Fonte: próprio autor

O gráfico de autovalores (Figura 1) indica as variâncias para cada componente principal. As quatro primeiras componentes principais da PCA (PC1, PC2, PC3 e PC4) explicaram 80,48% da variância total dos dados. Logo, a modelagem dos dados foram realizadas a partir dessas variáveis. Os pesos para os elementos para as quatro primeiras PCs encontram-se na Tabela 13. Os maiores pesos estão apresentados em negrito.

As duas componentes principais da PCA (PC1 e PC2) explicaram 51,56% da variância total dos dados. As variáveis de maiores pesos absolutos foram Ca, Mg e Cr, a quais contribuíram com a variabilidade na PC1 (Figura 2). Os valores elevados de Ca, P e Mg é o que forma grupo entre as amostra Acajutiba (A), Santo Amaro (AS) e Cruz das Almas (CA). Pode se observar também que a variável Cr, negativamente correlacionada, foi a responsável pela formação do grupo individual das amostras de Juazeiro(J), isto se deve ao altos valores de Cr nas amostras de Juazeiro em comparação as outras amostras. As elevadas concentrações de Cr nas amostras de Juazeiro pode ter ocorrido devido ao fato de que a região do semiárido baiano possui 45% das reservas brasileiras de cromita, que é o minério de onde se extrai o cromo metálico [71]. Para a PC2 o K e Mn apresentaram maior contribuição, sendo estas variáveis inversamente correlacionadas (Tabela 13). Por PC1XPC2 pode-se observar a tendência de formação de quatro grupos, indicado na Figura 3.

A partir da análise da PC1 versus PC3 pode se observar a tendência de formação de três grupos (Figura 5). A terceira componente principal PC3 descreve 15,20% da variância total, sendo as concentrações de Co e Ni as responsáveis. Os altos valores de Ni e Co foram responsáveis pela separação da amostra de Entre Rios (ER) em relação às demais, os quais se mostraram negativos pela PC3 (Figura 4).

Na análise da PC1 versus a PC4, pode se observar a formação de cinco grupos (Figura 7), apresentando Fe o maior peso pela PC4 (Figura 6). O Fe pode ser considerado responsável pela formação do grupo das amostras de Mundo Novo (MN), Maragogipe (M) e Vitória da Conquista (VC) pela PC1 versus PC4 devido aos baixos valores desse elemento nas amostras em relação às demais. A formação do grupo pelas amostras de Acajutiba (A) na PC1 versus PC4 pode ser devido ao elevado valor de fósforo em relação às demais amostras. No Gráfico de escore da

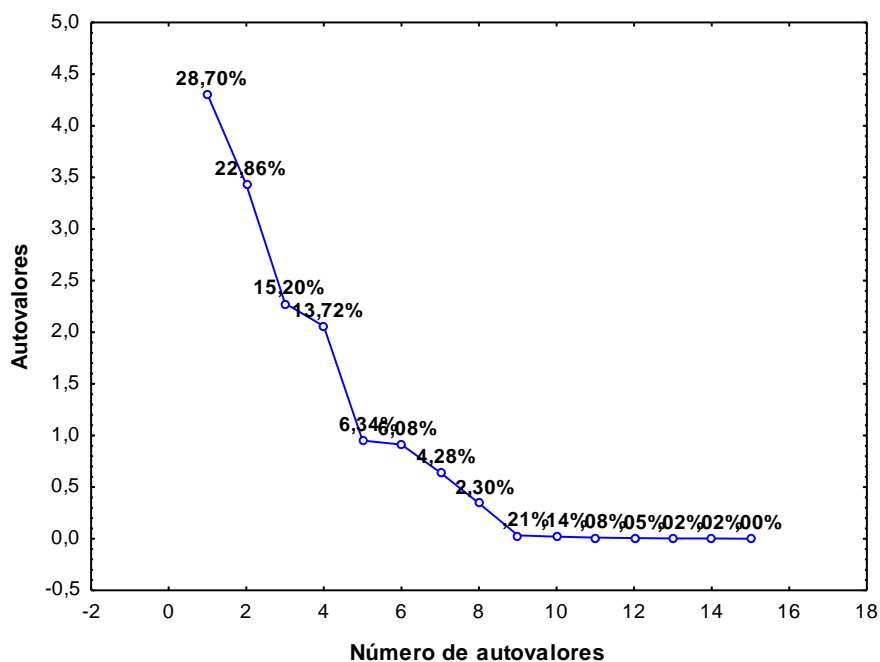
PC1 versus PC3 (Figura 5) e PC1 versus PC4 (Figura 7) a separação devido a Cr também pode ser observada.

Tabela 13. Peso das variáveis para as quatro primeiras componentes principais aplicada em amostras de semente de amendoim de oito cidades da Bahia e uma de Pernambuco

Elementos	PC1	PC2	PC3	PC4
Ca	0,862013	0,094475	0,046464	0,328191
Mg	0,911360	-0,074884	0,215921	0,008524
P	0,792056	-0,323547	-0,132214	-0,400114
Na	0,657754	0,069212	-0,150713	0,491684
K	0,016279	-0,895074	-0,325644	-0,055640
Cu	0,273311	0,271456	-0,514128	-0,481523
Zn	-0,329217	-0,723116	-0,137488	0,050060
Mn	0,133992	0,808604	0,148234	-0,209248
Fe	-0,037086	-0,435019	0,146368	0,798702
V	0,300393	-0,558843	0,328781	-0,209709
Cr	-0,862721	-0,252758	-0,057981	0,272680
Co	0,115793	0,327036	-0,870500	0,267617
Ni	-0,147940	0,227278	-0,834404	0,248137
Mo	0,211501	0,509063	0,354373	0,604119
Variância total (%)	28,70	22,86	15,20	13,72
Varição acumulada (%)	28,70	51,56	66,76	80,48

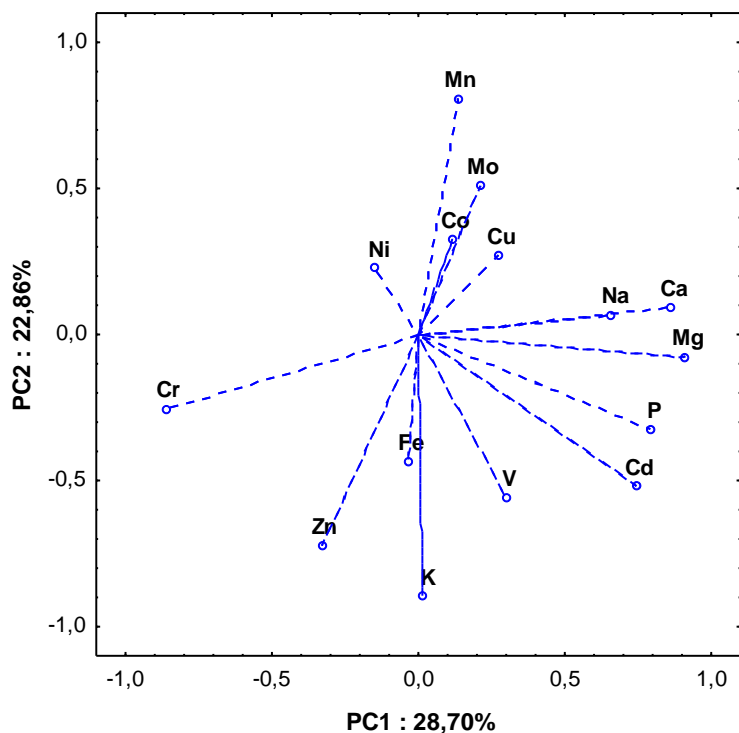
Fonte: próprio autor

Figura 1. Screeplot dos autovalores dos componentes principais aplicada em amostras de semente de amendoim de oito cidades da Bahia e uma de Pernambuco.



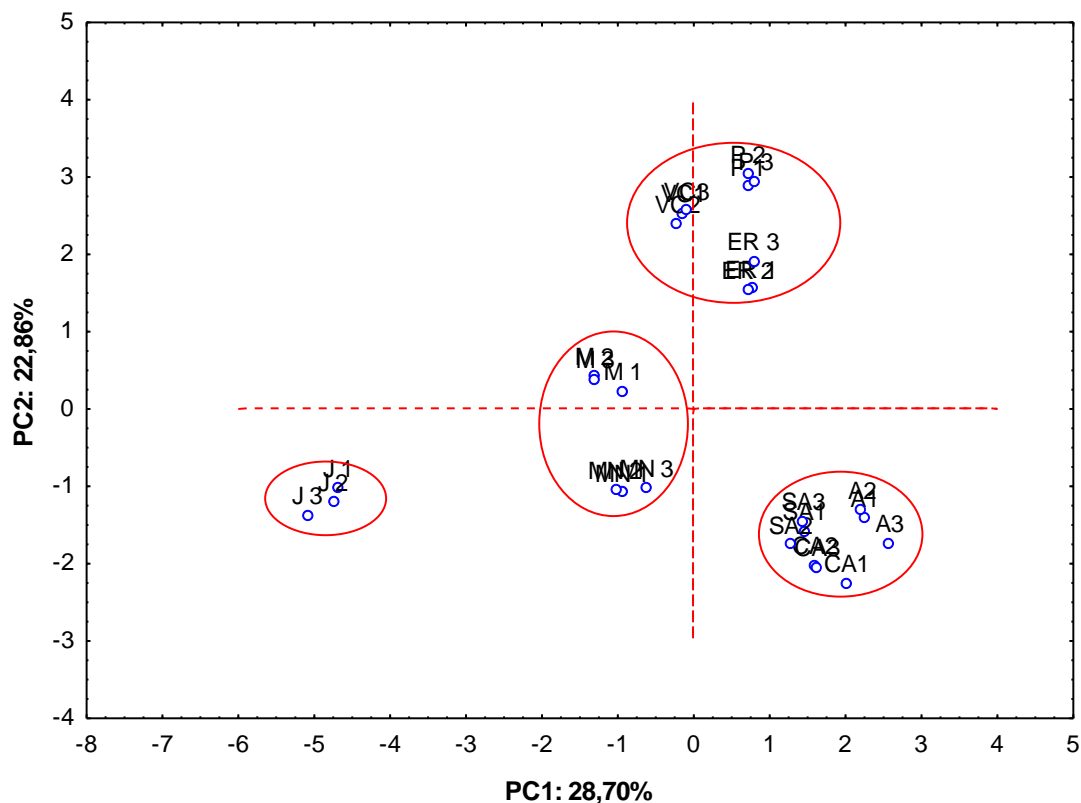
Fonte: próprio autor

Figura 2. Gráfico de peso de PC1 versus PC2 aplicada em amostras de semente de amendoim de oito cidades da Bahia e uma de Pernambuco



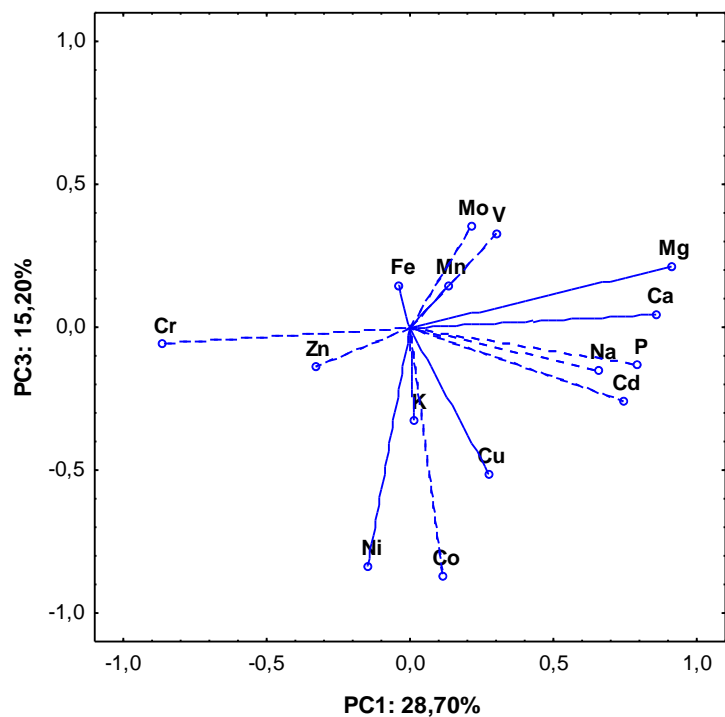
Fonte: próprio autor

Figura 3. Gráfico de escore de PC1 versus PC2 aplicada em amostras de semente de amendoim de oito cidades da Bahia e uma de Pernambuco



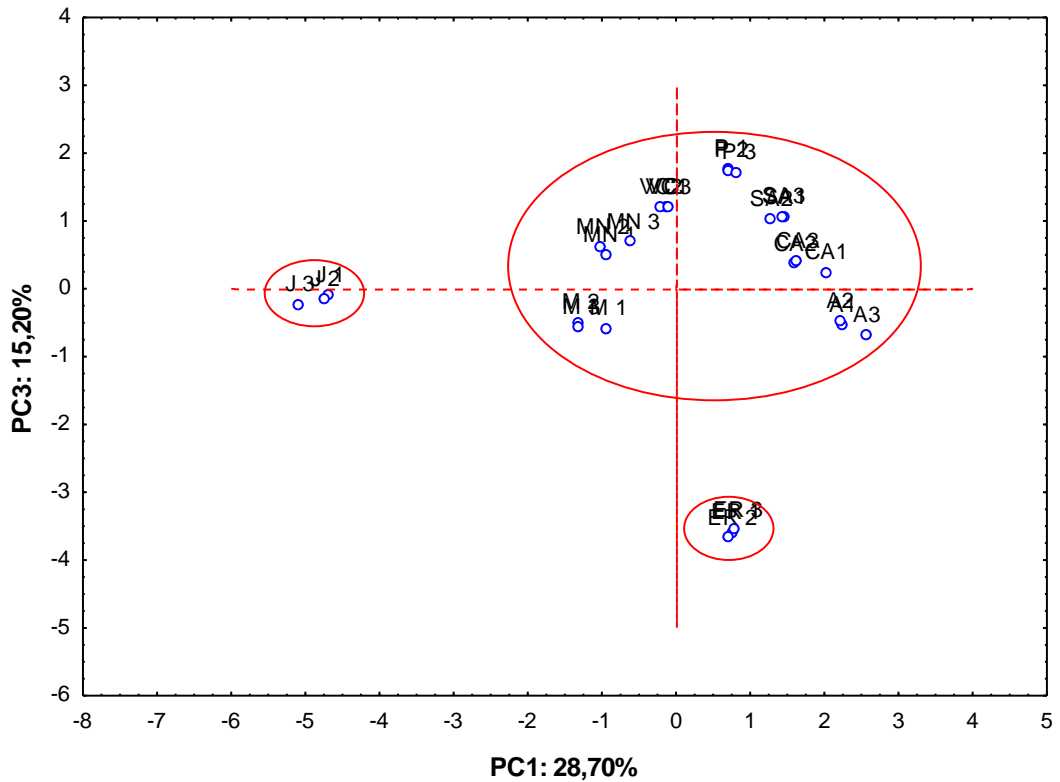
Fonte: próprio autor

Figura 4. Gráfico de peso de PC1 versus PC3 aplicada em amostras de semente de amendoim de oito cidades da Bahia e uma de Pernambuco



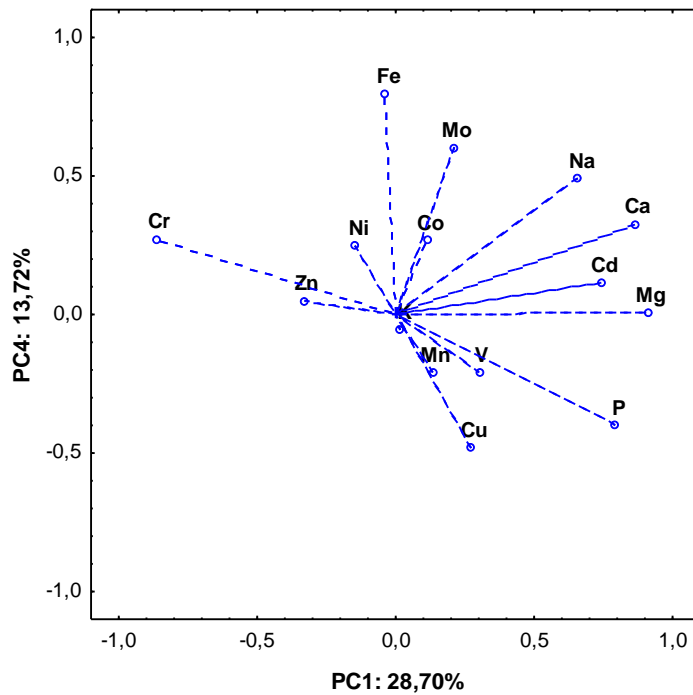
Fonte: próprio autor

Figura 5. Gráfico de escore PC1 versus PC3 aplicada em amostras de semente de amendoim de oito cidades da Bahia e uma de Pernambuco



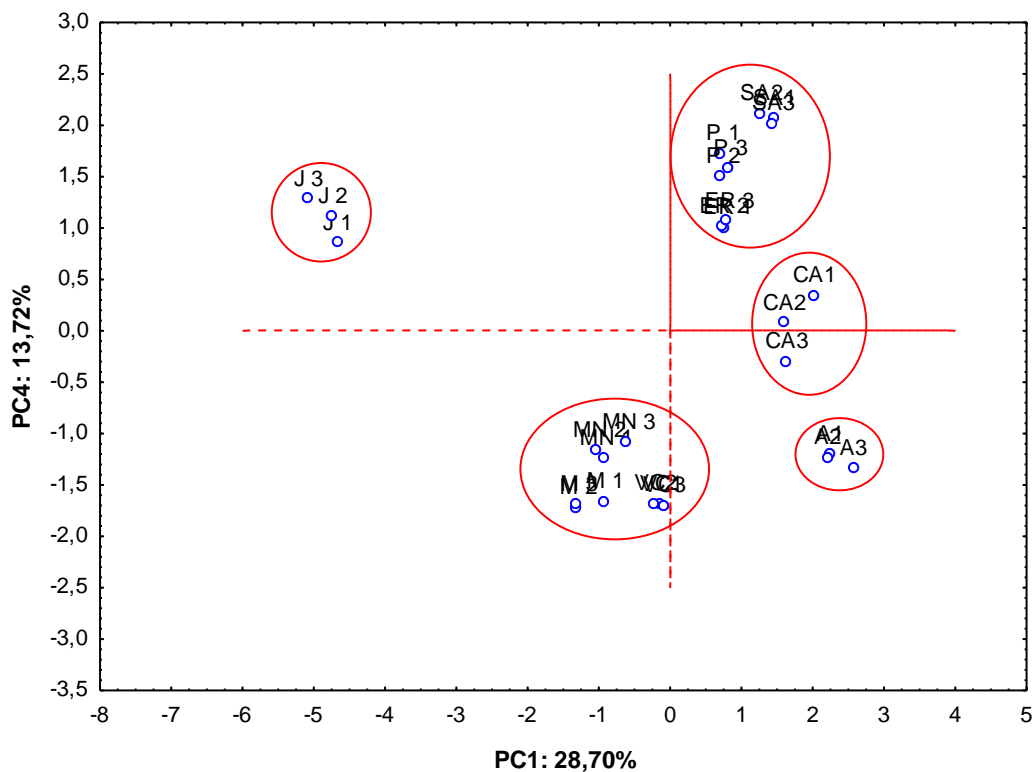
Fonte: próprio autor

Figura 6. Gráfico de peso de PC1 versus PC4 aplicada em amostras de semente de amendoim de oito cidades da Bahia e uma de Pernambuco



Fonte: próprio autor

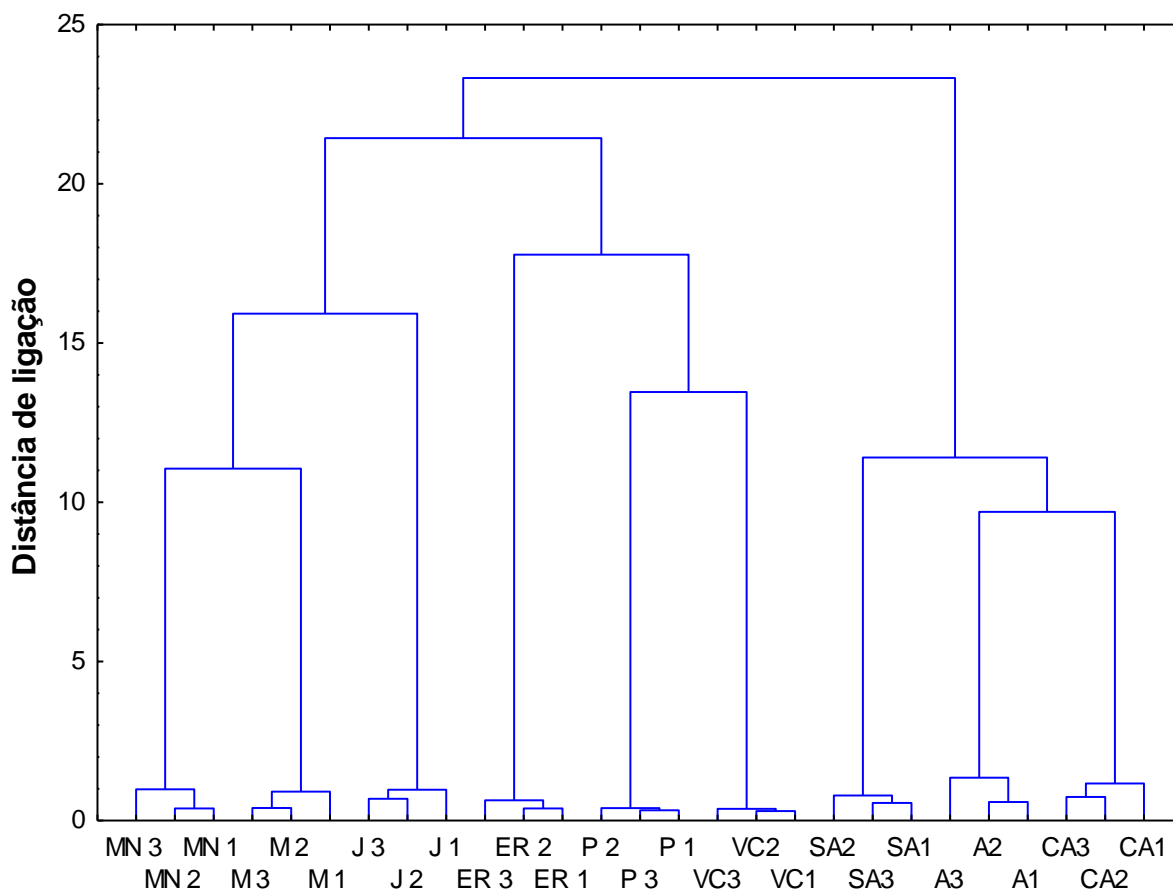
Figura 7. Gráfico de escore de PC1 versus PC4 aplicada em amostras de semente de amendoim de oito cidades da Bahia e uma de Pernambuco



Fonte: próprio autor

Na HCA foi utilizada a distância euclidiana para calcular a similaridade entre as amostras e o método de Ward's. Na Figura 8 é apresentado o dendograma referente a classificação das amostras de amendoim. Os resultados mostraram formação de dois grupos maiores um referente às amostras de Cruz das Almas (CA), Santo Amaro (SA) e Acajutiba (A) e um referente a todas as outras amostras. O HCA apresentou comportamento similar ao PCA, mostrando grupos que são observados na PC1. A formação do grupo das amostras de P e VC podem ser relacionadas aos baixos valores de K e elevados valores de Mn em comparação as outras amostras. A formação do subgrupo das amostras de Juazeiro (J) com relação as demais amostras já havia sido evidenciada na PCA, podendo ser devido aos elevados valores de Cr em comparação às demais amostras.

Figura 8. Dendrograma referente a classificação das amostras de semente de amendoim de oito cidades da Bahia e uma de Pernambuco



Fonte: próprio autor

2.4.4 Avaliação dos dados empregando rede neural artificial de Kohonen

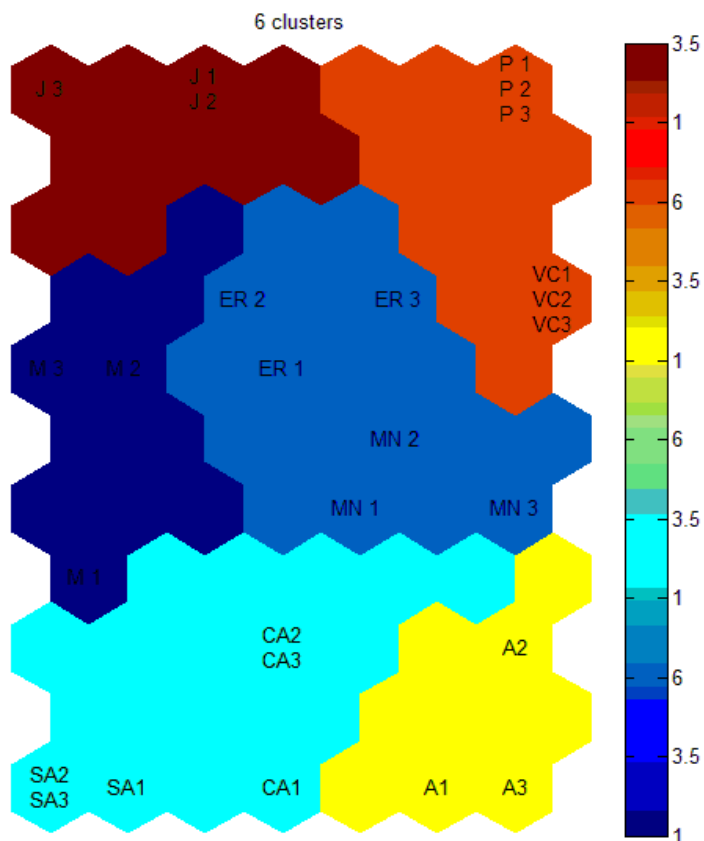
Uma das maneiras de se realizar a avaliação multivariada é empregando mapas auto organizáveis de Kohonen como estratégia de rede neural, sendo esta uma ferramenta não supervisionada para análise exploratória. Na análise, o software Matlab foi utilizado para tratamento dos dados por redes neurais, sendo o algoritmo K-means empregado para melhorar a separação.

Houve separação das amostras em seis grupos (Figura 9), sendo um dos grupos formado por apenas amostras de Juazeiro, como observado em todas as PCs (Figura 3,5 e 7) e no dendrograma (Figura 8). A formação do grupo de Cruz das Almas (CA) e Santo Amaro (SA) pode ser devido aos elevados valores de Mg. A formação do grupo das amostras de Acajutiba (A), que já tinha sido visualizado na PC1 versus PC4 (Figura 7), deve-se à elevada concentração de P nas amostras. O

dendograma (Figura 8) já havia demonstrado a formação do grupo de Petrolina (P) e Vitória da Conquista (VC), o qual se deve aos valores de Mn e K.

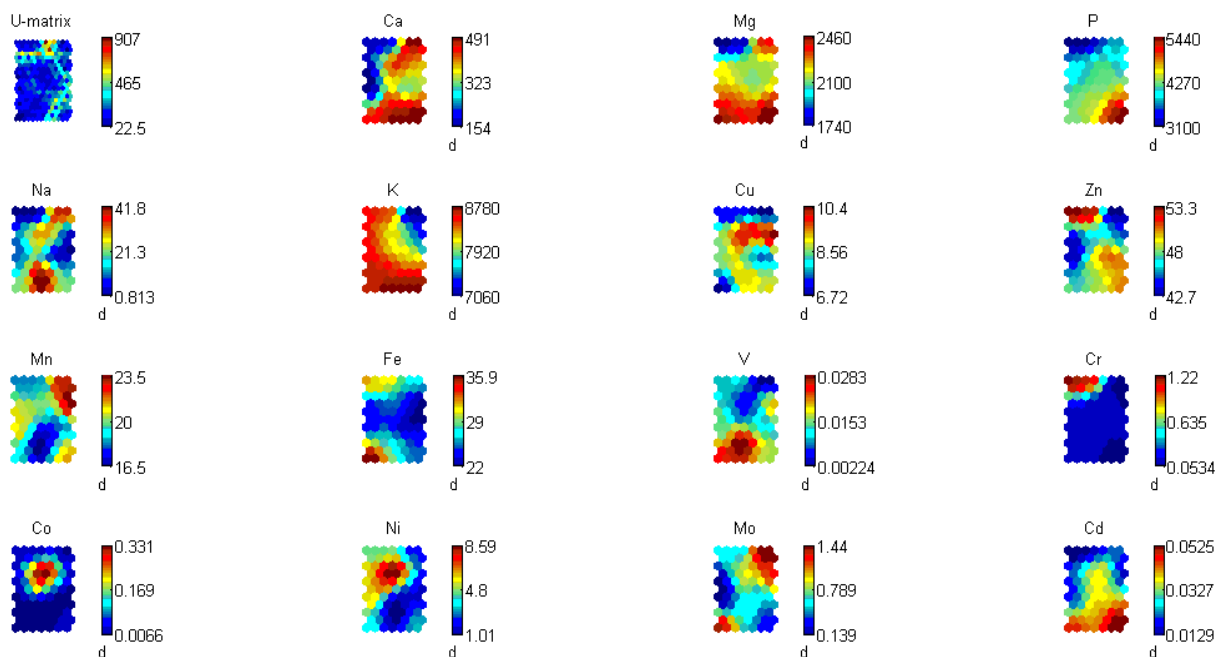
As redes neurais são baseadas em inteligência artificial que através das conexões sinápticas geram uma informação como um todo. Todavia, o PCA é feito através de reduções dimensionais, necessitando de uma determinada quantidade de PCs para explicar o agrupamento. Há grupos apresentados pelas redes neurais na Figura 9 que não puderam ser visualizados na PCA, esses grupos talvez se encontrem em outras PCs não analisadas, já que análise apresentou 15 PCs (Figura 1). Um exemplo foram as das amostras de ER (Entre Rios) e MN (Mundo Novo), que devido ao fato de apresentarem valores próximos de vários elementos químicos, formaram um grupo não visualizado no PCA. A formação do grupo MN e ER pode ter ocorrido porque esses dois municípios apresentam predominantemente o mesmo tipo de solo PODZÓLICO (Anexo I e II) [72].

Figura 9. Mapa neural evidenciando a formação de grupos aplicada em amostras de semente de amendoim de oito cidades da Bahia e uma de Pernambuco



Fonte: próprio autor

Figura 10. Mapa neural evidenciando as concentrações dos elementos analisados e matriz de distância aplicada em amostras de semente de amendoim de oito cidades da Bahia e uma de Pernambuco



Fonte: próprio autor

Parâmetros de validação da rede neural foram avaliados por erro de quantização, índices de Davies-Bouldin [73] e Silhueta [73], sendo obtidos os valores 1,716, 0,5629 e 0,8235, respectivamente, indicando bom agrupamento entres os dados analisados. O valor do erro de quantização pode ser atribuído ao número de amostras analisadas.

2.5 Considerações Parciais

Os métodos propostos empregando ICP OES e ICP-MS como técnicas de detecção, mostraram-se eficientes na determinação dos elementos traço em amostras de amendoim. A precisão e exatidão do método apresentaram bons resultados analíticos.

A PCA, HCA e redes neurais mostraram-se ferramentas estatísticas eficientes na análise exploratória de dados provenientes da determinação de elementos essenciais e não essenciais em amostras de amendoim. Os resultados das análises multivariada mostraram que ocorreram formação de grupos conforme a similaridade entre os elementos analisados. Essas três ferramentas quimiométricas apresentaram correlações estatística entre os resultados obtidos.

A análise exploratória por HCA observou a formação de dois grupos principais. A partir de um desses grupos ocorreu a formação do grupo de Juazeiro o que foi evidenciado pelo PCA e rede neurais, mostrando grande concordância entre as diferentes ferramentas estatísticas.

Para a PCA, as quatro componentes principais explicaram a maior parte da variância total. A duas primeiras variáveis mostraram a tendência de formação de quatro grupos relacionados a oito cidade da Bahia e a cidade de Petrolina - PE, que apresentaram algumas correlações com HCA e rede neurais.

Redes auto organizáveis de Kohonen apresentaram-se uma boa ferramenta estatística na avaliação dos resultados por análise exploratória de dados provenientes da determinação de elementos traço em amendoim. Os resultados obtidos apresentaram similaridade com as PCs estudadas e o HCA. Para maior correlação do PCA e Rede neurais seria necessário a visualização de outras PCs. Os parâmetros de validação da rede mostraram-se satisfatórios e a formação de grupos foi melhorada com o algoritmo K-Means.

CAPITULO III
ANÁLISE DE INJEÇÃO EM FLUXO AUTOMÁTICO COM
MULTISERINGA (MSFIA) PARA A DETERMINAÇÃO DE Sb,
Se E As EM AMOSTRAS DE AMENDOIM EMPREGANDO
GERAÇÃO DE VAPOR.

3.1 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1.1 Análise por injeção em fluxo

As técnicas de análise em fluxo são sistemas que utilizam automação do método analítico, tornando mais rápido, sensível, preciso, com menor consumo de reagentes e amostras, menor contaminação (devido a menor manipulação da amostra pelo analista) e seletivo para determinação de diferentes espécies [74,75]. A análise em fluxo tem sido aplicada na determinação de diferentes tipos de analitos e amostras [75]. Essas técnicas além de possibilitarem a análise quase ou totalmente automatizada, tornam possíveis a extração e pré-concentração do analito [74].

Uma forma de análise em fluxo é a Análise de Injeção em Fluxo com Multiseringa (MSFIA), desenvolvida em 1999 por Victor Cerdà [76]. Essa técnica combina o alto índice da análise por injeção em fluxo (FIA) e a robustez da análise em fluxo sequencial (SIA) [48]. Em comparação ao SIA que emprega uma válvula de seleção, o MSFIA possui um sistema de quatro seringas, que podem ser de volumes diferentes e trabalhar de maneira independente, permitindo a injeção de amostra e reagentes durante a análise [11,77,78]. Cada seringa possui uma válvula solenoide de três vias e são presas a um único motor de passo que tem a função de movimentar um pistão [49].

O MSFIA também se mostra eficiente no controle dos diferentes parâmetros das reações que podem ser necessárias na determinação do analito. Reações de complexação ou redução podem ser controladas e realizadas de maneira automatizada [48,75,76]. Nesse sistema os reagentes e amostras são injetados de maneira constante, de fluxo controlado e na quantidade estabelecida por computador, o que diminui também o consumo de reagentes [75].

Diferentes técnicas de detecção podem ser acopladas a análise em fluxo para um melhor desempenho do método, devido ao fato de acrescentar suas vantagens a esse sistema. Trabalhos empregando a análise em fluxo acopladas as técnicas de Espectrofotometria [74,76], Espectrometria de Fluorescência Atômica (AFS) [48], Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-MS) [74], entre outras, tem sido utilizados para determinação de diferentes analitos.

As técnicas de geração de hidreto hifenadas a diferentes técnicas de detecção e a análise em fluxo também têm se mostrado bastante eficiente, devido ao aumento da sensibilidade, diminuição do efeito de matriz e melhor seletividade [48]. Serra e colaboradores (2012) utilizaram o sistema MSFIA e geração de hidreto acoplada a fluorescência atômica na especiação de selênio [48]. Nesse trabalho a espécie selenometionina foi oxidada a selenito por radiação ultravioleta e o selenato reduzido por radiação ultravioleta na presença de meio alcalino e iodeto. Portugal e colaboradores (2015) também utilizaram o sistema MSFIA com geração de hidreto acoplada a fluorescência atômica para a especiação de Sb (III), Sb (V) e trimetilantimônio (TMSb). No trabalho coluna de resina catiônica foi utilizada para reter o TMSb e o iodeto de potássio foi empregado como pré-redutor de Sb(V) a Sb(III). O trabalho foi aplicado em amostras de água coletadas nas Ilhas Baleares, Espanha [79].

3.2 OBJETIVO

3.1 Objetivo geral

Desenvolver um método automatizado para determinação de As, Sb e Se em amostras de amendoim empregando MSFIA-HG-AFS.

3.2 Objetivos Específicos

- Configurar um sistema MSFIA acoplado a um sistema de geração de vapor químico (CVG);
- Otimizar o método utilizando ferramentas quimiométricas (planejamento multivariados com análise multirresposta) para obter os fatores mais significativos e as melhores condições de análise;
- Validar o método proposto, seguindo parâmetros estabelecidos pela IUPAC, (tais como: limites de detecção e quantificação, faixa linear de trabalho, exatidão e precisão);
- Analisar amostras de amendoim obtidas no nordeste brasileiro.

3.3 Parte Experimental

3.3.1 Reagentes e Soluções

Solução estoque de Se(IV) 1000 mg L^{-1} em HNO_3 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ (Scharlau, Espanha) foi utilizada no preparo de solução de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ em meio à mesma acidez da solução estoque. Esta solução foi utilizada no preparo dos padrões usados nos estudos e análises.

A solução padrão de Se(VI) de 1000 mg L^{-1} em meio HNO_3 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ foi preparado a partir do sal $\text{Na}_2\text{SeO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ (BDH Chemicals Ltd, Inglaterra). Esse foi utilizado no preparo de uma solução de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ em meio HNO_3 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ o qual foi empregado na preparação dos padrões a serem utilizados nas análises.

A solução padrão de As(III) de 1000 mg L^{-1} em meio a $2,0 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl foi preparada a partir da dissolução do sal As_2O_3 (Merck, Alemanha). Essa solução foi então empregada no preparo do padrão de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ em meio HCl $2,0 \text{ mol L}^{-1}$ o qual foi utilizado na elaboração dos padrões utilizados na análises.

A solução padrão de As(V) de 1000 mg L^{-1} em meio HCl $2,0 \text{ mol L}^{-1}$ foi preparado a partir do sal $\text{As}_2\text{O}_5 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ de peso molecular $229,84 \text{ g mol}^{-1}$ (Aldrich Chemical Company, Canadá). Essa solução foi empregada no preparo da solução de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ utilizada nas análises.

A solução padrão de Sb(III) de 1000 mg L^{-1} em meio HCl $2,0 \text{ mol L}^{-1}$ foi preparado a partir de sal $\text{KOOOC(CHOH)}_2\text{SbO} \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$ (Carlo Erba, Itália). Essa foi utilizada na preparação de um padrão de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ em meio a mesma acidez, a qual foi empregada em análises posteriores.

A solução padrão de Sb(V) de 1000 mg L^{-1} em meio HCl $2,0 \text{ mol L}^{-1}$ foi preparado a partir do sal KSb(OH)_6 (Carlo Erba, Italia). Essa solução foi utilizada no preparo de um padrão $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ na mesma acidez, a qual foi utilizada no trabalho.

Uma solução de borohidreto de sódio (Scharlau, Espanha) em meio hidróxido de sódio 0,05% (Scharlau, Espanha) foi preparada para estudos e aplicação do método. Uma solução de iodeto de potássio (Scharlau, Espanha) em meio a ácido ascórbico 2,5% (Scharlau, Espanha) empregada como pré-redutor de As (V) e Sb (V).

A água ultra pura foi utilizada na diluição de padrões, reagentes e amostras. As vidrarias foram limpas com água destilada e colocadas em banho ácido de nítrico 10% por 24 horas. Após esse período foram retiradas e lavadas com água ultrapura. O HNO₃ 65%(m/m), HCl 37% (m/m) e H₂O₂ 30 % (m/m) empregados no trabalho foram de grau de pureza elevado (Scharlau, Spain).

3.3.2 Equipamentos e Acessórios

O equipamento utilizado na detecção de arsênio, selênio e antimônio foi um Espectrômetro de Fluorescência Atômica (Excalibur, da P.S.Analytical, Orpington, UK). O equipamento é composto por dois ganhos: um interno de 100, que foi mantido fixo e um externo, o qual foi variado para cada elemento. Este equipamento é monoelementar composto por uma lâmpada de cátodo oco, sendo assim necessária a troca da mesma para determinação de cada elemento. A corrente primária e secundária utilizadas nas lâmpadas de cátodo oco foram as estabelecidas pelo fabricante, e estão apresentadas na Tabela 14.

Tabela 14. Correntes utilizadas nas lâmpadas de cátodo oco do fluorescência

Elemento	Corrente Primaria (mA)	Corrente secundaria (mA)
Arsênio	27,5	35,0
Selênio	25,0	25,0
Antimônio	17,5	15,0

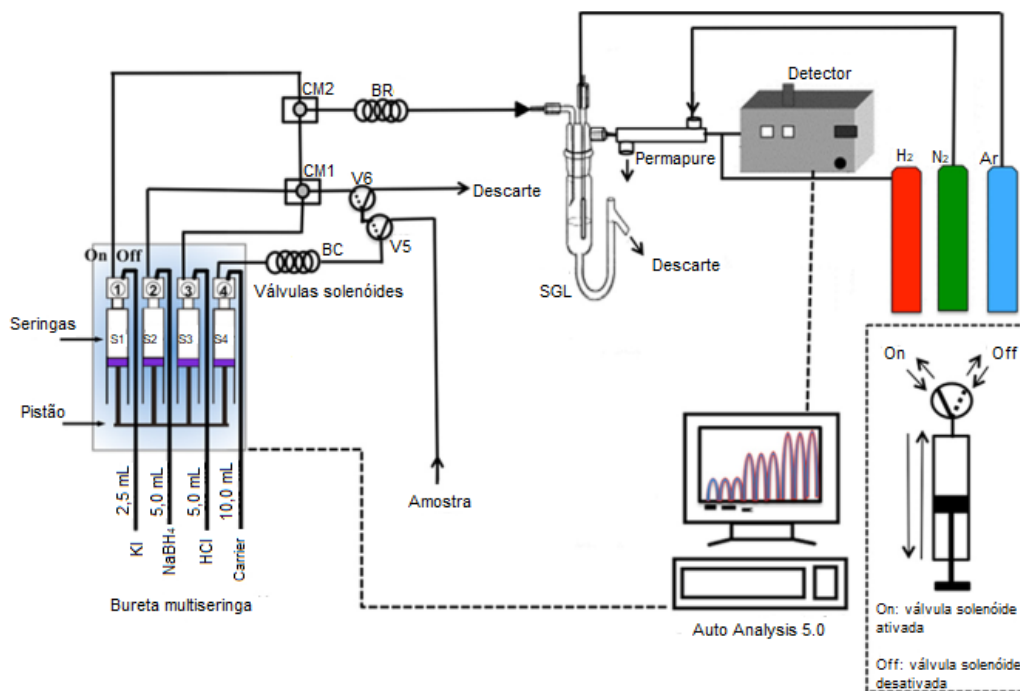
Fonte: próprio autor

A água ultra pura foi obtida por sistema de purificação Milli-Q (Millipore Molsheim, França), com resistividade de 18 MΩ cm⁻¹. As amostra foram digeridas por micro-ondas da marca Millestore composto por 12 tubos de TFM.

O sistema para determinação de As, Se e Sb é apresentado na Figura 11. Um módulo de multiseringa bureta (Multiburette 4S, Crison, Alella, Barcelona) foi utilizado para injeção dos reagentes e da amostra, o qual é composto por quatro seringas: S4 (5,0 mL), S3 (5,0 mL), S2 (2,5 mL) e S1 (10,0 mL). Duas válvulas solenoides independentes (N-Research, Caldwell, NJ, USA) para injeção e descarte

de amostra, as quais foram conectadas à multisingra. O programa Autoanalysis 5.0 foi utilizado para controlar o sistema de análise em fluxo, a aquisição e processamento de dados. O método desenvolvido para controlar o sistema encontra-se indicado na Tabela 15. Como se pode observar, esse sistema utilizou velocidade de $5,0 \text{ mL min}^{-1}$ no módulo de multisingra durante a formação do hidreto e injeção no separador gás/líquido. O sistema proposto é constituído de três gases (nitrogênio, argônio e hidrogênio) com as vazões utilizadas no trabalho apresentadas na Tabela 16. O ganho externo utilizado durante a validação e aplicação em amostras de amendoim foram de 8, 7 e 4 para arsênio, selênio e antimônio, respectivamente.

Figura 11. Sistema MSFIA-HG-AFS para determinação de antimônio, arsênio e selênio



SGL: separador gás-líquido; BC: bobina de carga; CM1 e CM2: conectores de metacrilato; BR: bobina de reação; V5 e V6: válvulas solenóides; S1-S4: seringas.

Fonte: Adaptada por de Santana e colaboradores [80], próprio

Tabela 15. Programa utilizado MSFIA para determinação As, Se e Sb

Etapa	Volume (mL)	Taxa de vazão (mL min ⁻¹)	Operação	Posição da válvula solenoide					
				S1	S2	S3	S4	S5	S6
1	1,6	10,0	Dispensar	off	off	off	off	off	on
Encher o capilar da amostra									
2	0,5	5,0	Aspiração	off	off	off	on	off	off
3	1,0	10,0	Dispensar	off	off	off	on	off	on
4	0,9	5,0	Aspiração	off	off	off	off	off	on
Leitura de branco (Set zero)									
5	-	-		-	-	-	-	-	-
Encher o bucle de com amostra									
6	0,8	5,0	Aspiração	off	off	off	on	off	off
Mensuração cada 0,5 segundo									
7	-	-		-	-	-	-	-	-
Injetar amostra e reagentes									
8	2,2	5,0	Dispensar	on	on	on	on	on	off
9	2,4	5,0	Dispensar	on	off	off	on	on	off
10	3,8	10,0	Aspiração	off	off	off	off	off	off
Parada da medição									
11	-	-		-	-	-	-	-	-
limpeza do sistema									
12	3,0	5,0	Dispensar	off	off	off	off	off	off
13	3,0	5,0	Aspiração	off	off	off	off	off	off
14	2,0	10,0	Dispensar	off	off	off	off	off	on
15	2,0	5	Aspiração	off	off	off	on	off	off
16	3,0	10,0	Dispense	off	off	off	on	off	on
17	2,6	5,0	Aspiração	off	off	off	off	off	on
Encher as seringas									
18	-	-		off	off	off	off	off	on

Fonte: próprio autor

Tabela 16. Condições utilizadas na otimização e determinação de As, Se, Sb por fluorescência atômica.

Parâmetros	Valores de vazão
Fluxo de argônio	325 mL min ⁻¹
Fluxo de hidrogênio	45 mL min ⁻¹
Fluxo de nitrogênio	250 mL min ⁻¹

Fonte: próprio autor

3.3.3 Procedimento de Preparo e Decomposição das Amostras

As amostras de amendoim *in natura* foram limpas com água ultra pura. As sementes foram congeladas e logo após liofilizadas por 48 horas. As amostras secas foram trituradas em moinho e conservadas em um dessecador.

Para decomposição foram utilizadas 0,25 g de amostra com 4,0 mL de ácido nítrico concentrado e 2,0 mL de peróxido de hidrogênio 30 % (v/v). O programa empregado na operação do forno de micro-ondas encontra-se estabelecido na Tabela 17. Todas as amostras foram digeridas em triplicata.

Logo após resfriamento os digeridos foram colocados em balões de 50,0 mL, seguidos da adição de 25,0 mL de ácido clorídrico e avolumados com água ultra pura. A solução resultante foi então transferida para tubos cônicos e levados ao aquecimento durante 15 minutos a 80 °C, para redução do Se (VI) a Se (IV).

Tabela 17. Programa de decomposição por micro-ondas.

Etapa	Rampa (minutos)	Temperatura (°C)	Patamar (minutos)
1	10:00	100	10:00
2	10:00	180	10:00

Fonte: próprio autor

3.3.4 Planejamento Fatorial 2³ para Formação Hidreto por Fluorescência

Um planejamento fatorial de dois níveis e três variáveis foi realizado, com três réplicas no ponto central. Esse tipo de planejamento permite encontrar as variáveis que são mais significativas para obtenção dos melhores sinais analíticos,

além de permitir identificar se há efeito de interação entre as variáveis estudadas. Para realização do planejamento uma solução multi-elementar de $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$ de Se(IV) e Sb(V) e $2,5 \mu\text{g L}^{-1}$ As(V) em HCl 50% (v/v), foi utilizada. O domínio experimental utilizado está apresentado na Tabela 18. O ganho externo de 8 foi estabelecido para todos os elementos.

Tabela 18. Domínio experimental do planejamento fatorial 2^3 .

Variável	Mínimo (-1)	Ponto central (0)	Máximo (+1)
HCl (mol L^{-1})	1	3	5
NaBH ₄ (%)	0,1	0,3	0,5
KI (%)	6	10	14

Fonte: próprio autor

3.4 DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

3.4.1 Planejamento Fatorial 2³ para Formação de Hidreto

O planejamento fatorial 2³ com triplicata no ponto central foi composto de onze experimentos. Os resultados encontrados no planejamento foram analisados utilizando resposta múltipla, para obter uma única condição para a formação do hidreto considerando os três elementos estudados [81,82]. A matriz com os valores codificados e os resultados dos sinais analíticos em termos de fluorescência atômica obtidos para arsênio, antimônio e selênio e para resposta múltipla são apresentados na Tabela 19. A resposta múltipla (RM) foi calculada a partir da equação 4, onde I_{As} , I_{Sb} e I_{Se} são os sinais para analito nos experimentos e I_{maxAs} , I_{maxSb} e I_{maxSe} são os valores de intensidade máxima obtidos para cada elemento no planejamento de experimento.

$$RM = \frac{I_{As}}{I_{maxAs}} + \frac{I_{Sb}}{I_{maxSb}} + \frac{I_{Se}}{I_{maxSe}} \quad \text{Equação 4}$$

Tabela 19. Planejamento fatorial 2³ para parâmetros químicos do equipamento

Experimento	[HCl]	[NaBH ₄]	[KI]	Sb ⁺⁵	As ⁺⁵	Se ⁺⁴	Resposta Múltipla
1	-1	-1	-1	672	61	527	0,69
2	1	-1	-1	618	100	548	0,70
3	-1	1	-1	2231	1536	1034	2,40
4	1	1	-1	2430	1787	871	2,48
5	-1	-1	1	656	74	537	0,69
6	1	-1	1	704	113	497	0,70
7	-1	1	1	2826	1401	1021	2,53
8	1	1	1	2819	1921	1268	3,00
9 (C)	0	0	0	1833	608	939	1,71
10 (C)	0	0	0	1818	614	971	1,73
11 (C)	0	0	0	1797	612	938	1,69

Fonte: próprio autor

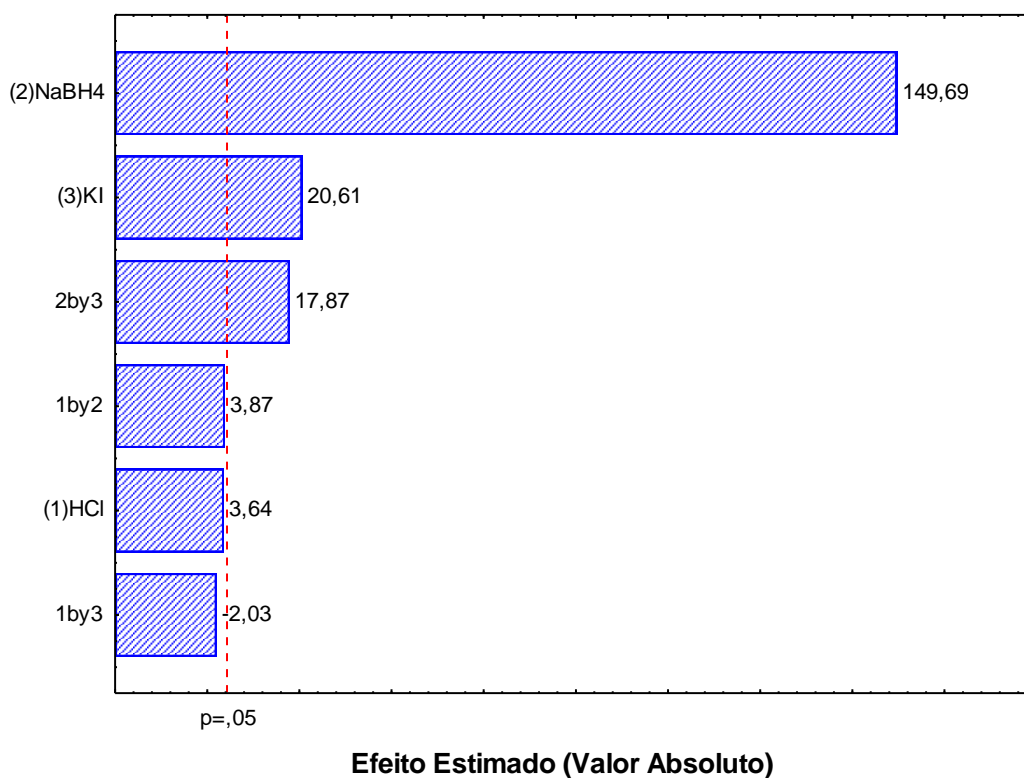
Na Tabela 20 são apresentados os efeitos para variáveis estudadas, apresentando em vermelho os valores significativos. A otimização multivariada foi realizada a partir da avaliação das respostas individuais dos três elementos e a resposta múltipla. Os gráficos de Pareto (Figuras 12, 13, 14 e 15) e os efeitos (Tabela 20) para cada elemento e resposta múltipla demonstraram que a concentração de borohidreto de sódio foi a variável mais significativa, apresentando uma tendência a maior quantidade desse reagente. Isso é devido ao favorecimento da maior quantidade de analito a formar hidreto.

Tabela 20. Efeitos e interações para os fatores estudados para planejamento 2³

Fatores e interações	Efeito para As	Efeito para Sb	Efeito para Se	Efeito para resposta múltipla
[NaBH ₄]	1547 ± 9	1914 ± 55	521 ± 57	1,91 ± 0,05
[HCl]	212 ± 9	47 ± 55	16 ± 57	0,14 ± 0,05
[HCl]x [NaBH ₄]	173 ± 9	50 ± 55	26 ± 57	0,13 ± 0,05
[HCl] x [KI]	67 ± 9	-26 ± 55	87 ± 57	0,09 ± 0,05
[NaBH ₄] x [KI]	-7 ± 9	229 ± 55	106 ± 57	0,16 ± 0,05
[KI]	6 ± 9	264 ± 55	86 ± 57	0,16 ± 0,05

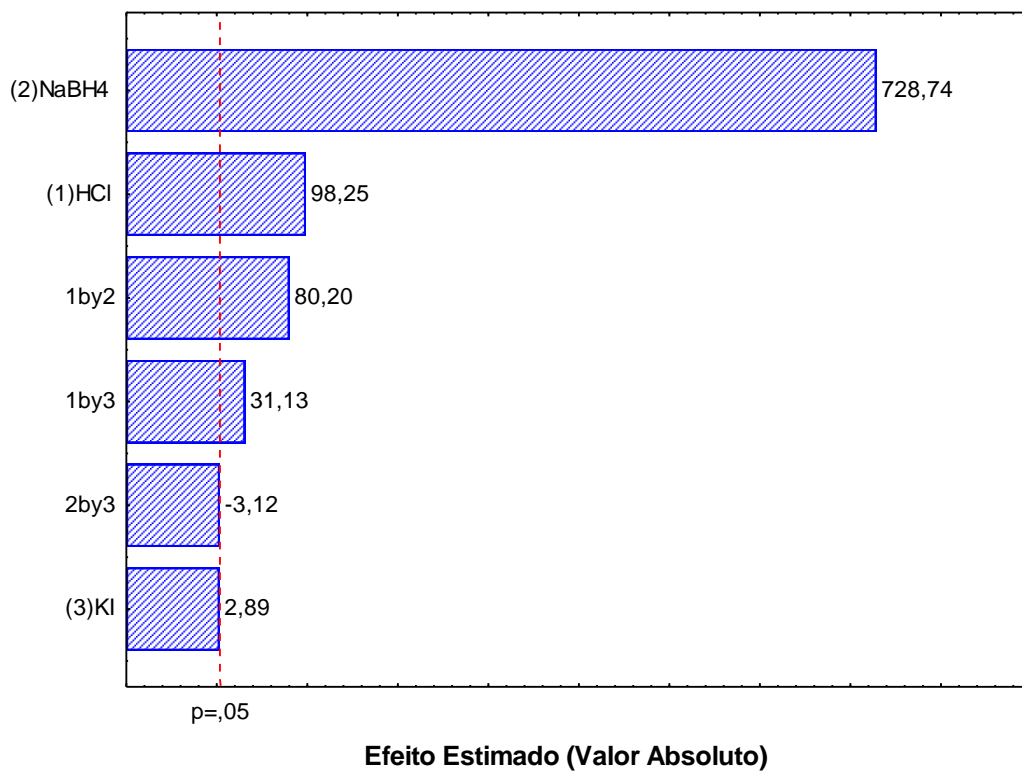
Fonte: próprio autor

Figura 12. Gráfico de pareto do planejamento fatorial para antimônio



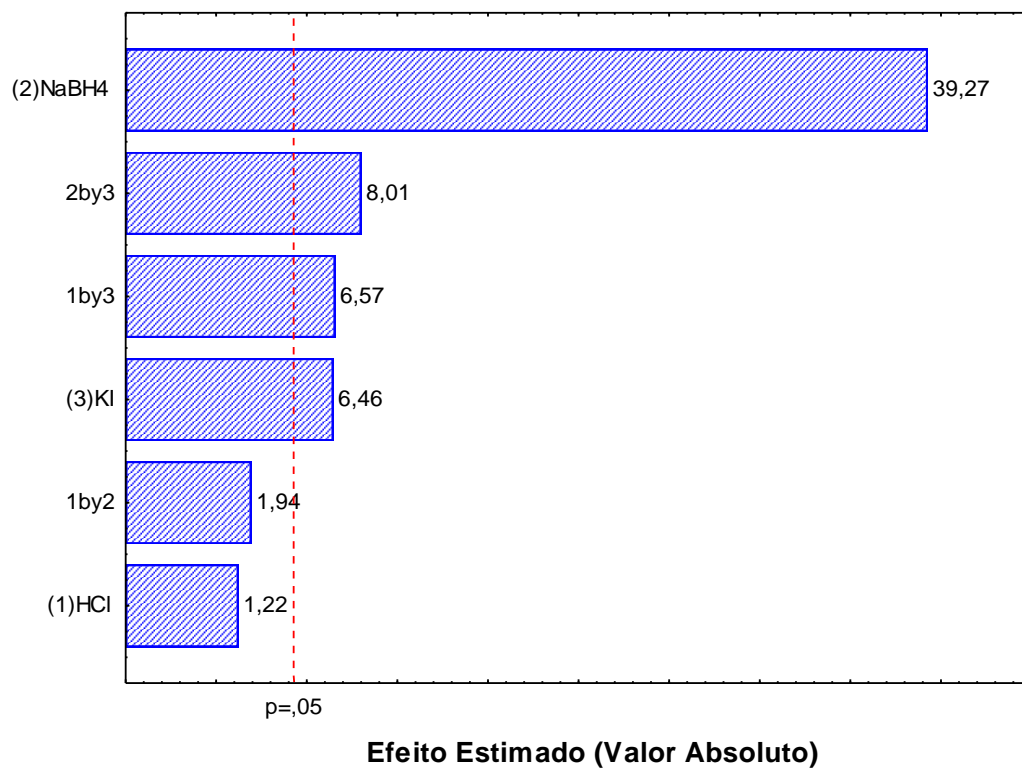
Fonte: próprio autor

Figura 13. Gráfico de pareto do planejamento fatorial para arsênio



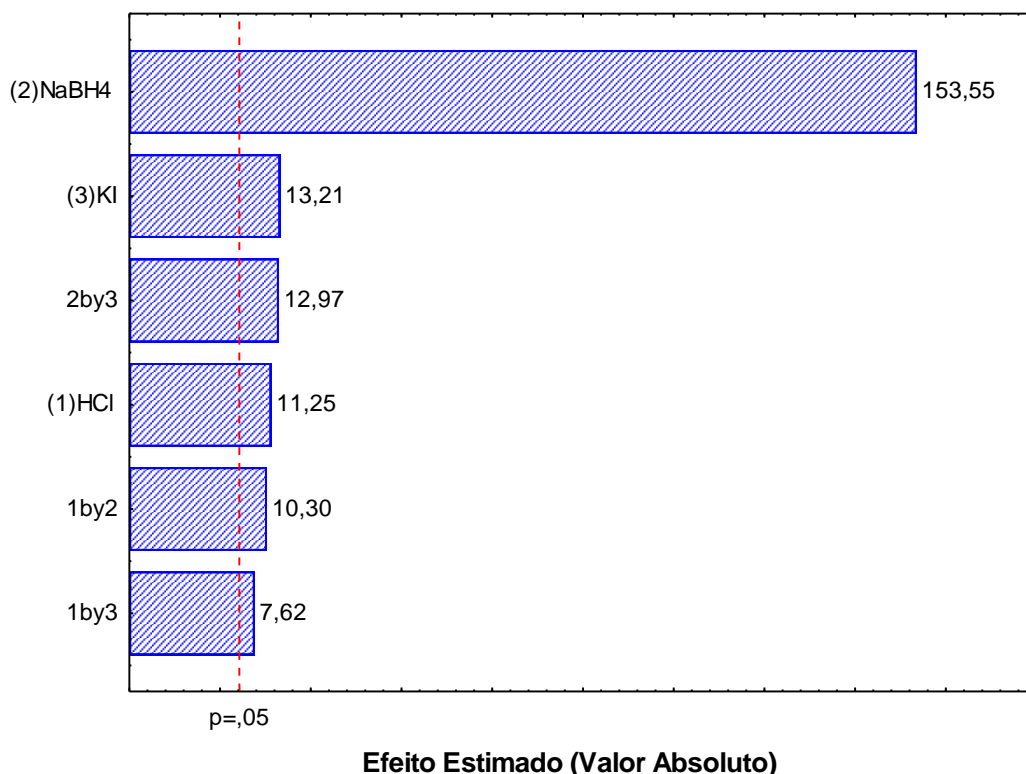
Fonte: próprio autor

Figura 14. Gráfico de pareto do planejamento fatorial para selênio



Fonte: próprio autor

Figura 15. Gráfico de pareto do planejamento fatorial para resposta múltipla



Fonte: próprio autor

Valores elevados das variáveis estudadas podem ser inviáveis. Como por exemplo, valores de borohidreto de sódio elevados podem provocar uma instabilidade na chama da fluorescência e um aumento nos sinais dos brancos o que prejudica a sensibilidade e precisão do sistema. Do mesmo modo, concentrações elevadas de HCl provoca o aumento de impurezas no sistema e diminui a vida útil do mesmo. Assim sendo, a aplicação de uma superfície de resposta se mostra desnecessária, já que a resposta múltipla mostrou bons resultados no experimento, onde melhores condições para geração de vapor químico ocorreu no experimento 8 (Tabela 19) que é a de máxima eficiência para toda as variáveis estudadas. Considerando a partir disso as condições para o método: 0,5% de borohidreto de sódio, $5,0 \text{ mol L}^{-1}$ de ácido clorídrico e 14 % de iodeto de potássio.

3.4.2 Estudo do Efeito de Matriz

A fim de avaliar o efeito de matriz em amostra de amendoim foi realizado um estudo comparando a curva de adição de analitos e a curva aquosa em meio ácido. Uma curva de adição de padrão na solução digerida de amendoim e uma curva analítica de calibração em meio às mesmas condições de HNO₃ e HCl foram analisadas pelo método proposto. As curvas foram expressas com intervalo de confiança de 95 % (Tabela 21) podendo se observar que não houve diferenças significativas entre os coeficientes angulares das equações correspondentes a estas curvas para As, Se e Sb. Assim, pode se inferir que não houve interferência de matriz para a determinação dos três elementos analisados em amostras de amendoim.

Tabela 21. Curva aquosa e curva de adição de analito em amostra de amendoim

Elemento	Curva de Adição na Amostra	Curva Aquosa
As ⁺³	$y = (1019,6 \pm 56,1)x + (226,6 \pm 68,7)$	$y = (1040,4 \pm 44,9)x + (3008,2 \pm 68,0)$
Se ⁺⁴	$y = (635,5 \pm 111,3)x + (813,1 \pm 187,8)$	$y = (573,5 \pm 130,7)x + (2714,3 \pm 244,5)$
Sb ⁺³	$y = (2087,0 \pm 218,6)x + (404,1 \pm 169,3)$	$y = (1922,2 \pm 189,8)x + (2712,8 \pm 121,5)$

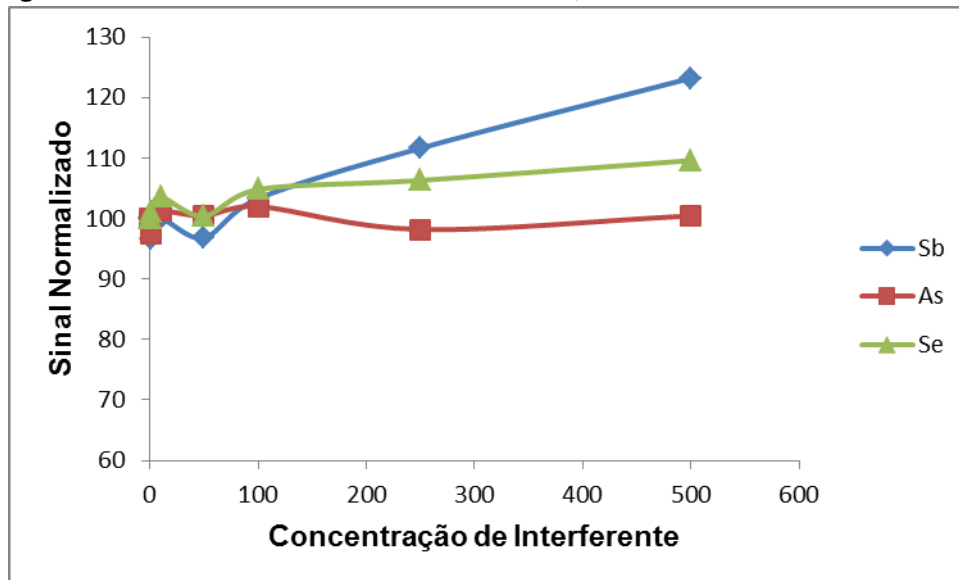
Fonte: próprio autor

3.4.3 Estudo de Interferência

Com a finalidade de avaliar como os elementos V, Cr, Co, Ni, Cu, Zn, Mn, Fe e Mo interferem na determinação de As, Se e Sb foi efetuado um estudo de interferência. Foram avaliados os interferentes nas seguintes condições: 0,5; 1,0; 10,0; 50,0; 100,0; 250; 500,0 µg L⁻¹ com 0,5 µg L⁻¹ de arsênio, selênio de antimônio com 1,12 mol L⁻¹ ácido nítrico e 50% de ácido clorídrico. Um gráfico de interferência foi elaborado com sinais normalizados de As, Se e Sb, o que se refere ao sinal obtido em cada condição dividido pelo sinal obtido para condições sem adição de interferente, sendo essa razão em porcentagem (Figura 16). Pode-se observar que para arsênio não ocorreu variação do sinal acima de 5% até 500 µg L⁻¹, já para

selênio e antimônio ocorreu variação positiva do sinal acima de 5% a partir de 250 $\mu\text{g L}^{-1}$ de interferente.

Figura 16. Gráfico do sinal normalizado de As, Se e Sb em meio a interferente.



Fonte: próprio autor

3.4.4 Validação do Método de Determinação de As, Se e Sb por MSFIA

3.4.4.1 Exatidão do método

A exatidão do método inicialmente foi avaliada com a utilização de material de referência certificado de folha de pêssigo (NIST 1547) para arsênio e selênio, o qual passou pelo mesmo procedimento de decomposição e análise das amostras. Como observado na Tabela 22 os valores obtidos e os valores certificados com intervalo de confiança de 95%, os quais não apresentaram diferença significativa entre os resultados obtidos e certificados. O Sb para esse material de referência não apresenta valor certificado.

Tabela 22. Análise de material de referência certificado NIST 1547

Elemento	Valor Obtido ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Valor Certificado ($\mu\text{g g}^{-1}$)
As	$0,080 \pm 0,006$	$0,060 \pm 0,018$
Se	$0,118 \pm 0,012$	$0,120 \pm 0,009$

Fonte: próprio autor

3.4.4.2 Estudo de Adição e Recuperação do método

Às amostras de amendoim foram adicionadas alíquotas de solução padrão de arsênio, selênio e antimônio em diferentes concentrações e analisadas utilizando o método proposto. Os resultados mostraram um percentual de recuperação aceitável para os três elementos empregando o procedimento proposto (Tabela 23). A faixa de recuperação obtida para As, Se, Sb foram, respectivamente: 88,70 – 110,27%; 89,70 – 112,15%; 90,12 – 121,27%.

Tabela 23. Valores obtidos por adição de analito nas amostras semente de amendoim empregando MSFIA-HG-AFS.

Elemento	Amostra	Concentração Padrão Adicionado ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperação
As	Petrolina	1	88,70
		1,5	95,64
	Mundo Novo	1	102,96
		1,4	110,27
Se	Petrolina	0,5	102,70
		2	104,523
	Mundo Novo	0,5	112,15
		1,5	89,70
Sb	Petrolina	1,2	110,44
		1,4	90,12
	Mundo Novo	1,2	121,27
		1,4	110,06

Fonte: próprio autor

3.4.4.3 Limites de detecção e qualificação

O limite de detecção (LD) foi calculado como sendo três vezes o desvio padrão de 10 medidas do branco do procedimento proposto dividido pelo coeficiente angular da curva de calibração. O limite de quantificação (LQ) foi calculado como sendo 10 vezes desvio padrão de 10 medidas de branco do procedimento proposto dividido pelo coeficiente angular da curva de calibração. Os resultados obtidos para As, Se e Sb estão apresentados na Tabela 24.

Tabela 24. Limites de detecção e quantificação para As, Se, Sb empregando MSFIA-HG-AFS

Elemento	LD	LQ
As	0,008 mg Kg ⁻¹ (0,04 µg L ⁻¹)	0,028 mg Kg ⁻¹ (0,14 µg L ⁻¹)
Se	0,022 mg Kg ⁻¹ (0,11 µg L ⁻¹)	0,074 mg Kg ⁻¹ (0,37 µg L ⁻¹)
Sb	0,008 mg Kg ⁻¹ (0,04 µg L ⁻¹)	0,028 mg Kg ⁻¹ (0,14 µg L ⁻¹)

Fonte: próprio autor

3.4.4.4 Faixa de Trabalho

A faixa de trabalho foi estabelecida a partir do valor do limite de quantificação, da concentração das amostras e das limitações do sistema. Na Tabela 25 estão dispostos os valores da faixa de trabalho para curva de calibração utilizadas em meio a 1,12 mol L⁻¹ de HNO₃ e 50% de HCl.

Tabela 25 Faixa de trabalho para método de determinação de As, Se e Sb empregando MSFIA-HG-AFS

Elemento	Faixa de Trabalho (µg L ⁻¹)	R ²
As	0,14 – 2,5	0,9994
Se	0,37 – 5,0	0,9992
Sb	0,14 – 1,4	0,9994

Fonte: próprio autor

3.4.4.5 Precisão

Para este trabalho a precisão foi avaliada pela repetibilidade em matrizes de amendoim usando uma média de 10 repetições nas amostras. Uma vez obtidos os valores dos resultados destas repetições, foram calculados o desvio padrão relativo (RSD) a partir da média e o desvio padrão. Os valores de RSD para todos os elementos estão dispostos na Tabela 26, podendo se observar que todos os valores de RSD encontram-se inferiores a 5%, mostrando assim uma boa precisão. A precisão variou para As, Sb e Se, respectivamente, entre: 1,15 – 3,64%; 1,80 – 1,97%; 1,85 – 3,39%.

Tabela 26. Precisão do método proposto para As, Se, Sb em amostras de semente amendoim empregando MSFIA-HG-AFS

Elemento	Amostra	RSD (%)
As	Cruz das Almas	3,64
	Santo Amaro	1,66
	Vitoria da Conquista	1,15
Se	Cruz das Almas	1,97
	Santo Amaro	1,89
	Juazeiro	1,80
Sb	Cruz das Almas	3,07
	Maragogipe	3,39
	Juazeiro	1,85

Fonte: próprio autor

3.4.5 Aplicação

O método validado foi aplicado em amostra de amendoim de diferentes cidades da Bahia e uma de Pernambuco para determinação de arsênio, selênio e antimônio. Os resultados obtidos encontram-se dispostos na Tabela 27. Todos os resultados foram obtidos em triplicata e calculados com intervalo de confiança de 95%. Os resultados obtidos para As, Sb e Se em algumas amostras apresentaram

valores abaixo do limite de quantificação do método (<LQ). Para selênio foi necessária a diluição das amostras da cidade de Mundo Novo devido a valores acima da faixa de trabalho.

Tabela 27. Aplicação do método em amostra de semente amendoim para As, Se e Sb MSFIA-HG-AFS

Cidade da amostra	As (mg Kg ⁻¹)	Se (mg Kg ⁻¹)	Sb (mg Kg ⁻¹)
Cruz das Almas	0,0413 ± 0,0074	0,4801 ± 0,0110	0,0326 ± 0,0037
Maragogipe	<LQ	<LQ	0,0344 ± 0,0073
Santo Amaro	0,0327 ± 0,0058	0,0864 ± 0,0109	ND
Juazeiro	<LQ	0,1323 ± 0,0142	0,0395 ± 0,0084
Vitoria da Conquista	0,0287 ± 0,0064	<LQ	0,0524 ± 0,0051
Petrolina	<LQ	0,2011 ± 0,0024	<LQ
Mundo Novo	<LQ	1,0399 ± 0,0809	0,0291 ± 0,0024

ND = não determinado

Fonte: próprio autor

3.5 Considerações Parciais

Nesse trabalho foi proposto um método para determinação de arsênio, selênio e antimônio utilizando um único sistema MSFIA para fluorescência. Para estabelecer as melhores condições do sistema de produção de hidreto e redução do Sb (V) e As (V) foi realizada otimização multivariada com resposta múltipla para o maior sinal de Sb, As e Se. Essa otimização permitiu a determinação dos três elementos utilizando as mesmas condições químicas e instrumentais pelo método proposto.

A resposta múltipla se mostrou uma boa ferramenta quimiométrica para avaliar a influência da concentração de NaBH_4 , KI e HCl na determinação de As, Se e Sb por MSFIA. O NaBH_4 que atua como agente redutor apresentou maior influência na análise, no método proposto. Devido aos resultados e limitações do equipamento, não foi realizado estudo de superfície de resposta. Sendo assim, foram designados os valores de máximo do domínio experimental para as condições de trabalho.

O sistema MSFIA mostrou-se uma técnica apropriada na determinação dos elementos trabalhados devido ao menor consumo de reagentes e amostra, como borohidreto de sódio e argônio, e menor produção de resíduo em comparação a técnica FIA. O método mostrou-se eficiente na determinação de As, Se e Sb em amostras de amendoim apresentando boa recuperação, exatidão e precisão. A utilização de iodeto de potássio possibilitou de maneira eficiente a pré redução de arsênio e selênio.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O trabalho foi dividido em duas partes, referentes a análise de amostras de amendoim. Na primeira parte foi realizada uma análise multivariada de elementos traço e na segunda, o desenvolvimento de uma estratégia analítica para determinação de As, Se e Sb empregando análise em fluxo.

Na primeira parte foram determinados os elementos Ca, K, Na, P, Cu, Fe, Mn e Zn por ICP OES e V, Cr, Co, Ni, Mo e Cd por ICP-MS. Os procedimentos experimentais empregados na análise foram validados com materiais de referência certificados. Ambos os métodos apresentaram boa precisão, exatidão e sensibilidade eficiente para determinação dos analitos estudados.

Na análise multivariada do trabalho foram empregadas três ferramentas quimiométricas: PCA, HCA e redes neurais. Os três instrumentos de análises multivariadas utilizados apresentaram a maior parte dos grupos distribuídos de maneira semelhante, sendo a distribuição da PC1 versus PC2, similar ao HCA. As formas de análises multivariadas apresentaram se eficiente na análise exploratória dos dados obtidos.

A rede neural artificial auto-organizável de Kohonen mostrou-se uma das ferramentas estatísticas de melhor visualização e interpretação dos resultados. Os parâmetros utilizados na interpretação também se mostraram eficientes e a formação dos grupos foram melhores com o algoritmo de K-mens. A diferença entre a PCA e as redes neurais podem ser resultado da dimensionalidade reduzida da PCA.

O segundo trabalho foi o desenvolvimento de estratégia analítica de determinação de As, Se e Sb empregando MSFIA e geração de hidreto acoplado à fluorescência atômica. O método desenvolvido possibilitou a determinação dos três elementos empregando mesmo sistema de análise em fluxo e parâmetros iguais de geração de hidreto e preparo de amostra. Esse trabalho foi realizado durante o doutorado sanduiche em Universidade das Ilhas Baleares, gerando um artigo na Talanta em 2016 com título: "Development of a MSFIA system for sequential determination of antimony, arsenic and selenium using hydride generation atomicfluorescence spectrometry [80].

Para otimização da geração de hidreto foi empregada a otimização multivariada com resposta múltipla. A utilização da resposta múltipla possibilitou obter melhores condições dos parâmetros químicos de geração de hidretos para As, Se e Sb. A condição empregada foi a de máximo no planejamento para todas as variáveis, devido aos efeitos indicarem uma tendência de maior quantidade dos reagentes. Devido a limitações do método não é indicado elevar os valores das variáveis estudadas acima do domínio experimental trabalhado.

O método proposto mostrou-se como uma boa alternativa analítica na determinação de As, Se e Sb empregando MSFIA com geração de hidreto e detecção por fluorescência atômica. O método apresentou boa precisão e recuperação dos analitos estudados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] MATAVELI, L.R.V; POHL, P.; MOUNICOU, S.; ARRUDA, M.A.Z.; SZPUNAR, J. A comparative study of element concentrations and binding in transgenic, and non-transgenic soybean seeds, **Metallomics**, v. 2, p. 800–805, 2010.
- [2] HOVANEC, B.M. Arsenic speciation in commercially available peanut butter spread by IC-ICP-MS, **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 19, p. 1141 – 1144, 2004.
- [3] JAJDA, H. M.; PATEL, K. G.; PATEL, S. R.; SOLANKI, V. H.; PATEL, K. N.; SINGH, S. Comparative efficacy of two standard methods for determination of iron and zinc in fruits, pulses and cereals, **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, p. 1096 – 1102, 2015.
- [4] THIEN, K.-Y.P.-; WRIGHT, G.C.; LEE, N.A. Inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS) and -optical emission spectroscopy (ICP–OES) for determination of essential minerals in closed acid digestates of peanuts (*Arachis hypogaea*L.), **Food Chemistry**, v. 134, p. 453 – 460, 2012.
- [5] WELNA, M.; SZYMCZYCHA-MADEJA, A.; PAWEL POHL, P. Optimization of sample preparation of carrot-fruit juice for determination of antimony, arsenic, and selenium by hydride generation-inductively coupled plasma optical emission spectrometry, **Analytical Letters**, v. 47, p. 2104–2119, 2014.
- [6] SERRA, A. M.; ESTELA, J. M.; CERDÀ, V. A MSFIA system for selenium speciation by atomic fluorescence spectrometry, **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 27, p. 1858–1862, 2012.
- [7] WANG, C.; DUAN, H.-Y.; TENG, J.-W. Assessment of Microwave Cooking on the Bioaccessibility of Cadmium from Various Food Matrices Using an In Vitro Digestion Model, **Biological Trace Element Research**, v. 160, p. 276 – 284, 2014.
- [8] GUO, W.; HOU, Y.-L.; WANG, S.-G.; ZHU, Y.-G. Effect of silicate on the growth and arsenate uptake by rice (*Oryza sativa* L.) seedlings in solution culture, **Plant and Soil**, v.272, p.173–181, 2005.
- [9] ISLAM, M.S.; AHMED, M.K.; MAMUN, M.H.A. MASUNAGA, S. Assessment of trace metals in foodstuffs grown around the vicinity of industries in Bangladesh, **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 42, p. 8 – 15, 2015
- [10] WANG, S.; LI, G. Assessment of cadmium bioaccumulation and distribution in the kernels of peanut widely cultivated in China, **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.108, p. 23 – 28, 2014

-
- [11]SEMENOVA, N.V.; LEAL, L.O.; FORTEZA, R.; CERDÀ, V. Antimony determination and speciation by multisyringe flow injection analysis with hydride generation-atomic fluorescence detection, **Analytica Chimica Acta**, v. 530, p. 113–120, 2005.
- [12]CARNEADO S.; HERNÁNDEZ-NATAREN E.; LÓPEZ-SÁNCHEZ, J.F.; SAHUQUILLO, A. Migration of antimony from polyethylene terephthalate used in mineral water bottles, **Food Chemistry**, v. 166, p. 544–550, 2015.
- [13]KELLER, N.S.; STEFÁNSSON, A.; SIGFÚSSON, B. Determination of arsenic speciation in sulfidic waters by Ion Chromatography Hydride-Generation Atomic Fluorescence Spectrometry (IC-HG-AFS), **Talanta**, v. 128, p. 466–472, 2014.
- [14]CHEN, G.; CHEN, T. SPE speciation of inorganic arsenic in rice followed by hydride-generation atomic fluorescence spectrometric quantification, **Talanta**, v. 119, p. 202–206, 2014.
- [15]SEMENOVA, N.V.; LEAL, L.O.; FORTEZA, R.; CERDÀ, V. Multisyringe flow-injection system for total inorganic arsenic determination by hydride generation-atomic fluorescence spectrometry, **Analytica Chimica Acta**, v. 455, p. 277–285, 2002.
- [16] TAKASE, I.; PEREIRA, H.B.; LUNA, A.S.; GRINBERG, P. de CAMPOS, R.C. A geração química de vapor em espectrometria atômica, **Química Nova**, v. 25, p. 1678-7064, 2002.
- [17] dos SANTOS, G.; SILVA, L.O.B; JUNIOR, A.F.S.; da SILVA, E.G.P.; dos SANTOS, W.N.L. Analytical Strategies for Determination and Environmental Impact Assessment of Inorganic Antimony Species in Natural Waters Using Hydride Generation Atomic Fluorescence Spectrometry (HG AFS), **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.1,p. 1 – 6, 2017.
- [18] dos SANTOS, W.N.L.; CAVALCANTE, D,D; GOMES, P.D.N.; SANTOS, D.C.M.B.; OLIVEIRA, L.B.; SANTOS, G.S.; FERREIRA, S.L.C. Determination of Selenium in Eggs of Different Birds Using Sample Digestion in a Reflux System and Hydride Generation Atomic Fluorescence Spectrometry, **Current Analytical Chemistry**, v. 12, p. 102 – 107, 2016.
- [19] YANG, M.; XUE, J.; LI, M.; HAN, G.; XING, Z.; ZHANG, S.; ZHANG, X. Low temperature hydrogen plasma assisted chemical vapor generation for Atomic Fluorescence Spectrometry, **Talanta**, v. 126, p. 1–7, 2014.
- [20] TU, H.; HE, Y. Ultrasensitive and Simultaneous Determination of Arsenic and Antimony in Clinical Samples by Atomic Fluorescence Spectrometry, **Analytical Letters**, v. 48, p. 1629 – 1637, 2015.

-
- [21]MUSIL, S.; MATOUŠEK, T.; CURRIER, J.M.; STÝBLO, M.; DĚDINA, J. Speciation Analysis of Arsenic by Selective Hydride Generation Cryotrapping-Atomic Fluorescence Spectrometry with Flame-in-GasShield Atomizer: Achieving Extremely Low Detection Limits with Inexpensive Instrumentation, **Analytical Chemistry**, v. 86, p. 10422 – 10428, 2014.
- [22]SEMENOVA, N.V.; LEAL, L.O.; FORTEZA, R.; CERDÀ, V. Multisyringe flow injection system for total inorganic selenium determination by hydride generation-atomic fluorescence spectrometry, **Analytica Chimica Acta**, v. 486, p. 217–225, 2003.
- [23]LONG, X.; MIRÓ, M.; HANSEN, E.H.; ESTELA, J.M.; CERDÀ, V. Hyphenating Multisyringe Flow Injection Lab-on-Valve Analysis with Atomic Fluorescence Spectrometry for On-Line Bead Injection Preconcentration and Determination of Trace Levels of Hydride-Forming Elements in Environmental Samples, **Analytical Chemistry**, v. 78, p. 8290 – 8298, 2006.
- [24] CASTOR, J.M.R; PORTUGAL, L.; FERRER, L.; MAR, J.L.G.; RAMÍREZ, A.H.; CERDÀ, V.; REYES, L.H. Arsenic fractionation in agricultural soil using an automated three-step sequential extraction method coupled to hydride generation-atomic fluorescence spectrometry, **Analytica Chimica Acta**, v. 874, p. 1–10, 2015.
- [25] JUNIOR, M.M.S.; PORTUGAL, L.A.; SERRA, A.M.; FERRER, L.; CERDÀ, V.; FERREIRA, S.L.C. On line automated system for the determination of Sb(V), Sb(III), trimethyl antimony(v) and total antimony in soil employing multisyringe flow injection analysis coupled to HG-AFS, **Talanta**, v. 165, p. 502–507, 2017.
- [26]LEAL, L.O.; FORTEZA R.; CERDÀ V. Speciation analysis of inorganic arsenic by a multisyringe flow injection system with hydride generation–atomic fluorescence spectrometric detection, **Talanta**, v. 69, p. 500–508, 2006.
- [27]CHAPARRO, L.L.; FERRER, L.; CERDÀ, V.; LEAL, L.O. Automated system for on-line determination of dimethylarsinic and inorganic arsenic by hydride generation–atomic fluorescence spectrometry, **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 404, p. 1589–1595, 2012.
- [28]FILHO, P.A.M.; DOS SANTOS, R.C. A cultura do amendoim no nordeste: situação atual e perspectivas, **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, v. 7, p. 192 – 208, 2010.
- [29]LU, Z.; ZHANG, Z.; SU, Y.; LIU, C.; SHI, G. Cultivar variation in morphological response of peanut roots to cadmium stress and its relation to cadmium accumulation, **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 91, p. 147–155, 2013.

-
- [30] SHEN, H.; XIONG, H.; XIONG, H.; GUO, X.; WANG, P.; DUAN, P.; ZHANG, L.; ZHANG, F.; ZUO, Y. AhDMT1, a Fe²⁺ transporter, is involved in improving iron nutrition and N₂ fixation in nodules of peanut intercropped with maize in calcareous soils, **Planta**, v. 239, p. 1065–1077, 2014.
- [31] MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Anuário estatístico da agroenergia 2014. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/>. Acesso em: 29 mar. 2016.
- [32] BARRETO, A.N.; SILVA, A.C.; COSTA, B.J.; DE ANDRADE, G.P.; RIBEIRO, G.P.-.; ZAGONEL, G.F.; CORÓ, J.R.; CARVALHO, J.M.F.C.; DE LIMA, L.M.; GIMENES, M.A.; E LUZ, M.J.S.; BELTRÃO, N.E.M.; SUASSUNA, N.D.; DA SILVA, O.R.R.F.; FILHO, P.A.M.; ALMEIDA, R.P.; NOGUEIRA, R.J.M.C.; MARTINS, R.; FREIRE, R.M.M.; DOS SANTOS, R.C.; DE FREITAS, S.M.; BERTIOLI, S.C.M.L.-.; SUASSUNA, T.M.F.; GONDIM, T.M.S.; SOFIATTI, V.; QUEIROGA, V.P.; CARTAXO, W.V.; COUTINHO, W.M. **Amendoim: O produtor perguntou a Embrapa responde**. Brasília:Embrapa, 2009, 214p. Disponível em: <http://dgi.unifesp.br/sites/comunicacao/>. Acesso em: 22 fev. 2016.
- [33] ZHOU, X.; XIA, Y.; REN, X.; CHEN, Y.; HUANG, L.; HUANG, S.; LIAO, B.; LEI, Y.; YAN, L.; JIANG, H. Construction of a SNP-based genetic linkage map in cultivated peanut based on large scale marker development using next-generation double-digest restriction-site-associated DNA sequencing (ddRADseq), **BMC Genomic**, v. 15, p.351 – 365, 2014.
- [34] MANTOVANI, J.P.M. **Adução boratada foliar na cultura de amendoim**. 2011. 33f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente, 2011.
- [35] MANJUSHA, R.; DASH, K.; KARUNASAGAR, D. UV-photolysis assisted digestion of food samples for the determination of selenium by electrothermal atomic absorption spectrometry (ETAAS), **Food Chemistry**, v. 105, p. 260–265, 2007.
- [36] CARNEIRO, M.M.L.C.; DEUNER, S.; DE OLIVEIRA, P.V.; TEIXEIRA, S.B.; SOUSA, C.P.; BACARIN, M.A.; DE MORAES, D.M. Atividade antioxidante e viabilidade de sementes de girassol após estresse hídrico e salino, **Revista Brasileira de Sementes**, v. 33, p. 752 – 761, 2011.
- [37] BAKIRCIOGLU, D.; KURTULUS, Y.B.; YURTSEVER, S. Comparison of extraction induced by emulsion breaking, ultrasonic extraction and wet digestion procedures for determination of metals in edible oil samples in Turkey using ICP-OES, **Food Chemistry**, v. 138, p. 770 – 775, 2013.
- [38] THIEN, K.Y. P.; WRIGHT, G.C.; LEE, N.A. Genotype-by-Environment Interaction Affects the Essential Mineral Composition of Peanut (*Arachis hypogaea*L.)

-
- Kernels, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, p. 9204–9213, 2010.
- [39] YU, L.; ZHU, J.; HUANG, Q.; SU, D.; JIANG, R.; LI, H. Application of a rotation system to oilseed rape and rice fields in Cd-contaminated agricultural land to ensure food safety, **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.108, p. 287 – 293, 2014.
- [40] SHI, G.; SU, G.; LU, Z.; LIU, C.; WANG, X. Relationship between biomass, seed components and seed Cd concentration in various peanut (*Arachis hypogaea*L.) cultivars grown on Cd-contaminated soils, **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 110, p. 174 – 181, 2014.
- [41] MARTÍNEZ, E.J.L.; DE CÓRDOVA, M.L.F.; MEDINA, A.R. BARRALES, P.O. Analysis of 20 trace and minor elements in soy and dairy yogurts by ICP-MS, **Microchemical Journal**, v. 102, p. 23–27, 2012.
- [42] CORGUINHA, A.P.B.; DE SOUZA, G.A.; GONÇALVES, V.C.; CARVALHO, C.A.; DE LIMA, W.E.A.; MARTINS, F.A.D; YAMANAKA, C.H.; FRANCISCO, E.A.B.; GUILHERME, L.R.G. Assessing arsenic, cadmium, and lead contents in major crops in Brazil for food safety purposes, **Journal of Food Composition and Analysis**, v.37, p. 143 – 150, 2015.
- [43] THIEN, K.-Y. P.-.; WRIGHT, G.C.; LEE, N.A. Genotype-by-Environment Interaction Affects the Essential Mineral Composition of Peanut (*Arachis hypogaea*L.) Kernels, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, p. 9204–9213, 2010.
- [44] MATAVELI, L.R.V; POHL, P.; MOUNICOU, S.; ARRUDA, M.A.Z.; SZPUNAR, J. A comparative study of element concentrations and binding in transgenic, and non-transgenic soybean seeds, **Metallomics**, v. 2, p. 800–805, 2010.
- [45] YIP, Y.C.; CHAN, K.K.; CHEUNG, P.Y.; POON, K.W.; SHAM, W.C. Analysis of non-fat soybean powder for the mass fractions of three elements: Copper and zinc by isotope dilution ICP–MS and calcium by ICP–AES, **Food Chemistry**, v. 112, p.1065–1071, 2009
- [46] PANIZZI, M.C.C.-.; MANDARINO, J.M.G. Soja Potencial de uso na Dieta Brasileira. Londrina: Embrapa – CNPSo. 1998. 16p. (Embrapa, Documento 113).
- [47] USDA, **United States Department of Agriculture. National Nutrient Database for Standard Reference Release.** Disponível em: <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/search>. Acesso em: 27 mar. 2016.

-
- [48]SERRA, A.M; ESTELA, J.M.; CERDÀ, V. A MSFIA system for selenium speciation by atomic fluorescence spectrometry, **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v.27, p. 1858–1862, 2012.
- [49]CHAPARRO, L.; FERRER, L.; LEAL, L.; CERDÀ, V. A multisyringe flow-based system for kinetic–catalytic determination of cobalto (II), **Talanta**, v.133, p. 94–99, 2015.
- [50]BAKIRCIOGLU, D.; KURTULUS, Y.B.; YURTSEVER, S. Comparison of extraction induced by emulsion breaking, ultrasonic extraction and wet digestion procedures for determination of metals in edible oil samples in Turkey using ICP-OES, **Food Chemistry**, v. 138, p. 770 – 775, 2013.
- [51]LAURA-VIVEROS, F.M.; VENTURA-MAZA, A.; EHSAN, M.; RODRÍGUEZ-ORTEGA, A.; VARGAS-MONTER, J.; LANDERO-VALENZUELA, N. Contenido de Cd y Pb en suelo y plantas de diferentes cultivos irrigados con aguas residuales en el Valle del Mezquital, Hidalgo, México, **Revista Internacional de Contaminación Ambiental**, v.31, p. 127 – 132, 2015.
- [52]CHOPRA, A. K.; PATHAK, C. Accumulation of heavy metals in the vegetables grown in wastewater irrigated areas of Dehradun, India with reference to human health risk, **Environmental Monitoring and Assessment**, v.187, p. 445 – 453, 2015.
- [53]CORREIA, P.R.M., FERREIRA, M.M.C. Reconhecimento de padrões por métodos não supervisionados: explorando procedimentos quimiométricos para tratamento de dados analíticos, **Química Nova**, n.2, p. 481 – 487, 2007.
- [54]OLIVEIRA, A.C.; dos SANTOS, V.S.; dos SANTOS, D.C.; CARVALHO, R.D.S.; FERREIRA, S.L.C. Determination of the mineral composition of Caigua (*Cyclanthera pedata*) and evaluation using multivariate analysis, **Food Chemistry**, v. 152, p. 619–623, 2014.
- [55]HONGYU, K.; SANDANIELO, V.L.M.; JUNIOR, G.J.O. Análise de Componentes Principais: resumo teórico, aplicação e interpretação, **Engineering and Science**, v. 1, p. 83 – 90, 2016.
- [56]TEOFILOVIĆ, B.; LETIĆ, N.G.-.; KON, S.G.-.; STOJANOVIĆ, S.; VASTAG, G.; GADŽURIĆ, S. Experimental and chemometric study of antioxidant capacity of basil (*Ocimum basilicum*) extracts, **Industrial Crops and Products**, v. 100, p.176–182, 2017.
- [57]da SILVA, Y.J.A.B.; CANTALICE, J.R.B; DO NASCIMENTO, C.W.A; SINGH, V.P.; da SILVA, Y.J.A.B; SILVA, C.M.C.A.C.; SILVA, M.O.; GUERRA, S.M.S.

Bedload as an indicator of heavy metal contamination in a Brazilian anthropized watershed, **Catena**, v. 153, p. 106–113, 2017.

- [58] KAMAL, M.; KAROUI, R. Monitoring of mild heat treatment of camel milk by front-face fluorescence spectroscopy, **LWT - Food Science and Technology**, v. 79, p. 586 – 593, 2017.
- [59] de SOUZA, C.T.; SOARES, S.A.R.; QUEIROZ, A.F.S.; dos SANTOS, A.M.P.; Ferreira, S.L.C. Determination and evaluation of the mineral composition of breadfruit (*Artocarpus altilis*) using multivariate analysis technique, **Microchemical Journal**, v. 128, p. 84–88, 2016.
- [60] CEBI, N.; DOGAN, C.E.; DEVELIOGLU, A.; YAYLA, M.E.A.; SAGDIC, O. Detection of L-Cysteine in wheat flour by Raman microspectroscopy combined chemometrics of HCA and PCA, **Food Chemistry**, v. 228, p. 116–124, 2017.
- [61] DIAS, T.L.; CATALDI, M.; FERREIRA, V.H. Aplicação de técnicas de redes neurais e modelagem atmosférica para elaboração de previsões de vazão na Bacia do Rio Grande (MG), **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 22, p. 169 – 178, 2017.
- [62] LEMES, M. R.; JÚNIOR, A.D.P. A tabela periódica dos elementos químicos prevista por redes neurais artificiais de Kohonen, **Química Nova**, v. 31, p. 1141 – 1144 , 2008.
- [63] BORGES, P.H.M.; MENDOZA, Z.M.S.H.; MAIA, J.C.S.; BIANCHINI, A.; FERNÁNDES, H.C. Estimation of fuel consumption in agricultural mechanized operations using artificial neural networks, **Journal of the Brazilian Association of Agricultural Engineering**, v. 37, p. 136 – 147, 2017.
- [64] VERONEZI, C.C.D.; SIMÕES, P.W.T.A.; dos SANTOS, R.L; da ROCHA, E.L.; MELÃO, S.; de MATTOS, M.C.; CECHINEL, C. Análise computacional para auxílio ao diagnóstico de osteoartrite de coluna lombar baseado em redes neurais artificiais, **Revista Brasileira de Ortopedia**, v. 46, p. 195 – 199, 2011.
- [65] BINOTI, M.L.M.S.; BINOTI, D.H.B.; LEITE, H.G. Aplicação de redes neurais artificiais para estimação da altura de povoamentos equiâneos de eucalipto, **Revista Árvore**, v. 37, p. 639 – 645, 2013.
- [66] BARRETO, J.M., Introdução às Redes Neurais Artificiais. **Anais V Escola Regional de Informática da SBC Regional Sul**, 5 a 10 de maio de 1997.
- [67] GONTIJO, E.S.J.; OLIVEIRA, F.S.D.; FERNANDES, M.L.; da SILVA, G.A.; ROESER, H.M.P.; FRIESE, K. Application of a Multivariate Exploratory Analysis Technique in the Study of Dissolved Organic Matter and Metal Ions in Waters

from the Eastern Quadrilátero Ferrífero, Brazil, **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 25, p. 208 – 218, 2014.

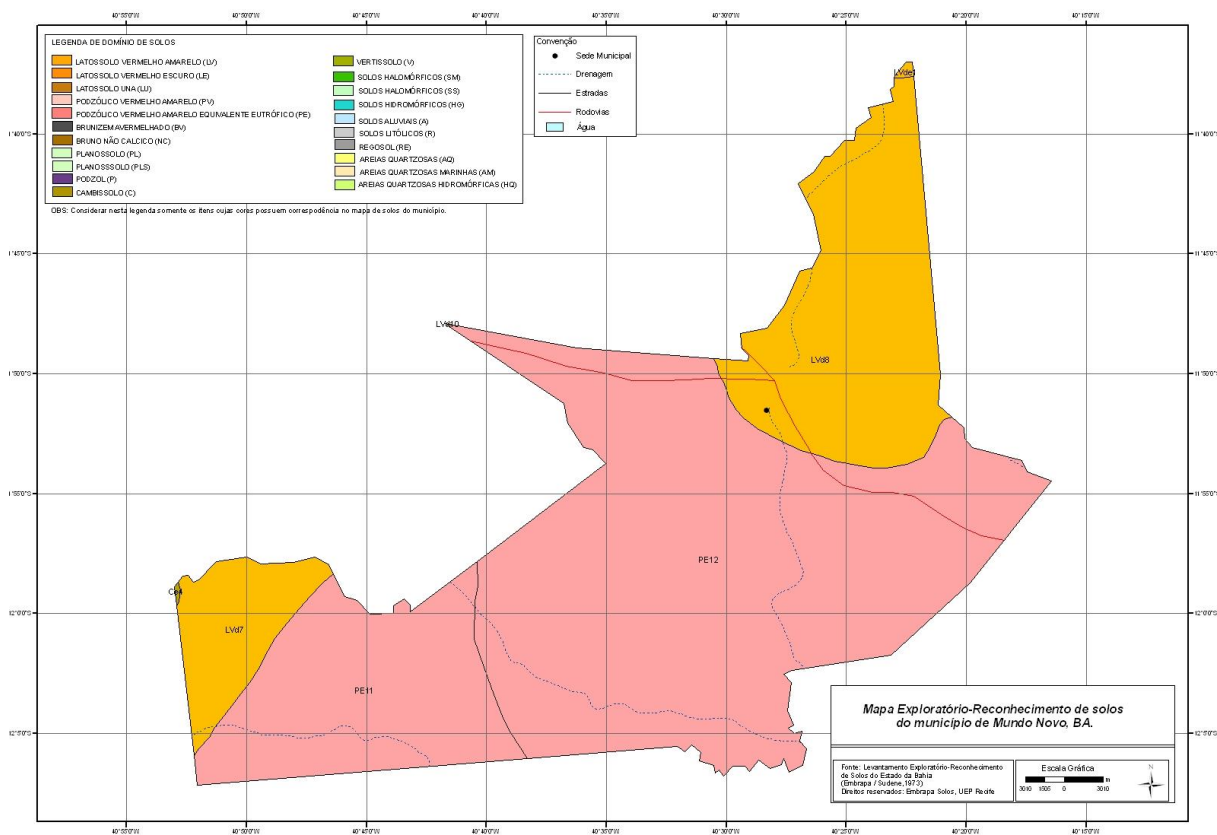
- [68] PICHILIANI, Mauro. **Data Mining na Prática: Algoritmo K-Means**. Disponível em: <http://www.devmedia.com.br/data-mining-na-pratica-algoritmo-k-means/4584#ixzz3yUwJNXdU>. Acesso em 27 ago. 2017.
- [69] NOVAES, C.G.; ROMÃO, I.L.S.; SANTOS, B. G.; RIBEIRO, J. P.; BEZERRA, M. A.; da SILVA, E.G.P. Screening of Passiflora L. mineral content using principal component analysis and Kohonen self-organizing maps, **Food Chemistry**, v. 233 p. 507–513, 2017.
- [70] RIBANI, M.; BOTTOLI, C.B.G.; COLLINS, C.H.; JARDIM, I.C.S.F. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos, **Química Nova**, v. 27, p. 771-780, 2004.
- [71] Companhia Baiana de Pesquisa Mineral. **Oportunidade de negócios minerais**, CBPN, Salvador, 2014.
- [72] EMBRAPA. **Solos do nordeste**. Disponível em: <http://www.uep.cnps.embrapa.br/solos/index.php?link=ba>. Acesso em 17 de ago. de 2017.
- [73] PUMA-VILLANUEVA, W.J.; VON ZUBEN, F.J. **Índices de Validação de Agrupamentos. Departamento de Engenharia de Computação e Automação Industrial**, Faculdade de Engenharia Elétrica e de Computação, Universidade Estadual de Campinas. Disponível em: http://www.dca.fee.unicamp.br/portugues/pesquisa/seminarios/2008/artigos/puma-villanueva_vonzuben.pdf. Acesso em 27 de agosto de 2017.
- [74] BARBESI, D.; VILAS, V.V.; MILLET, S.; SANDOW, M.; COLLE, J-. Y.; de las HERAS, L.A. A LabVIEW[®]-based software for the control of the AUTORAD platform: a fully automated multisequential flow injection analysis Lab-on-Valve (MSFIA-LOV) system for radiochemical analysis, **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 313, p. 217 – 227, 2017.
- [75] ABOUHIAT, F.Z.; HENRÍQUEZ, C.; HORSTKOTTE, B.; YOUSFI, F.E.; CERDÀ, V. A miniaturized analyzer for the catalytic determination of iodide in seawater and pharmaceutical samples, **Talanta**, v.108, p. 92–102, 2013.
- [76] MAR, J.L.G.; RAMÍREZ, A.H.; CHUKEN, U.J.L.; de ALBA, P.L.L.; CERDÀ, V. A multisyringe flow injection method for the determination of thorium in water

samples using spectrophotometric detection, **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 289, p. 67 – 73, 2011.

- [77] CERDÀ, V. **Introducción a los métodos de análisis em flujo**, 1ª ed., SCIWARE, Palma de Mallorca, 2006.
- [78] FRIZZARIN, R.; AGUADO, E.; PORTUGAL, L.A.; MORENO, D.; ESTELA, J.M.; ROCHA, F.R.P.; CERDÀ, V. A portable multi-syringeflow system for spectrofluorimetric determination of iodide in seawater, **Talanta**, v. 144, p. 1155–1162, 2014.
- [79] PORTUGAL, L.A.; FERRER, L.; SERRA, A.M.; da SILVA, D.G.; FERREIRA, S.L.C.; CERDÀ, V. A non-chromatographic automated system for antimony speciation in natural water exploiting multisyringe flow injection analysis coupled with online hydride generation–atomic fluorescence spectrometry, **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 30, p. 1133–1141, 2015.
- [80] de SANTANA, F.A.; PORTUGAL, L.A.; SERRA, A.M.; FERRER, L.; CERDÀ, V.; FERREIRA, S.L.C. Development of a MSFIA system for sequential determination of antimony, arsenic and selenium using hydride generation atomic fluorescence spectrometry, **Talanta**, v. 156 – 157, p. 29 – 33, 2017.
- [81] NOVAES, C.G.; FERREIRA, S.L.C.; NETO, J.H.S.; de SANTANA, F.A.; PORTUGAL, L.A. GOICOECHEA, H.C. A multiple response function for optimization of analytical strategies involving multi-elemental determination, **Current Analytical Chemistry**, v.12, p. 94–101, 2016.
- [82] FERREIRA, S.L.C. **Introdução às técnicas de planejamento de experimentos**, 1ª ed., Vento Leste, Salvador, 2015.

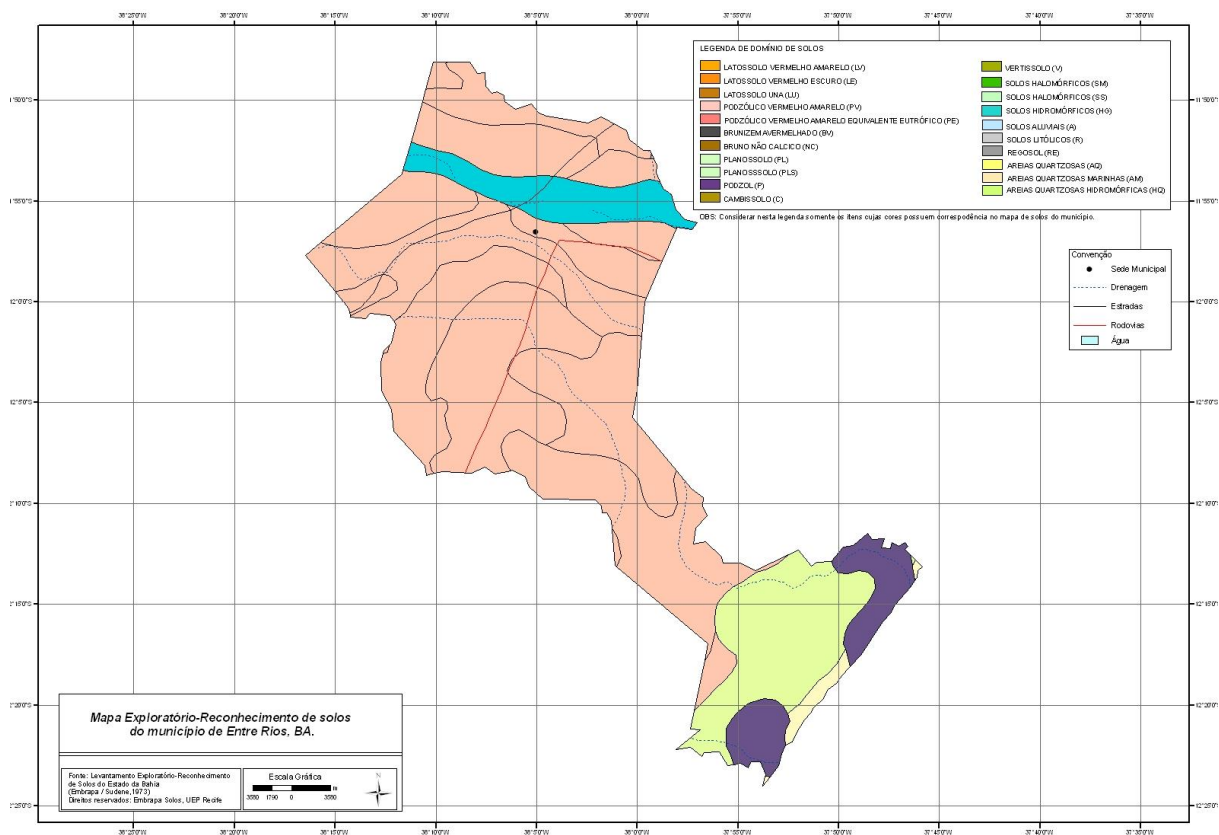
ANEXOS

Anexo I. Mapa de solo do município Mundo Novo (BA)



Fonte: Embrapa [72]

Anexo II. Mapa de solo município de Entre Rios (BA).



Fonte: Embrapa [72]