



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

Samir Hipólito dos Santos

Aplicação de planejamentos simultâneos para otimização de métodos analíticos para determinação de constituintes inorgânicos em pó para refresco por ICP OES

Salvador / BA
2017

SAMIR HIPÓLITO DOS SANTOS

Aplicação de planejamentos simultâneos para otimização de métodos analíticos para determinação de constituintes inorgânicos em pó para refresco por ICP OES

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química, Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Química.

Área de concentração: Química Analítica

Linha de pesquisa: Química Analítica Aplicada

Orientador: Prof. Dr. Rennan Geovanny Oliveira Araujo

Coorientador: Prof. Dr. Tarcísio Silva de Almeida

Salvador / BA
2017

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

Santos, Samir Hipólito dos
Aplicação de planejamentos simultâneos para otimização de métodos analíticos para determinação de constituintes inorgânicos em pó para refresco por ICP OES / Samir Hipólito dos Santos. -- Salvador, 2017.
115 f.

Orientador: Rennan Geovanny Oliveira Araujo.
Coorientador: Tarcísio Silva de Almeida.
Dissertação (Mestrado - Química) -- Universidade Federal da Bahia, Instituto de Química, 2017.

1. Pó para refresco. 2. Composição mineral. 3. Preparo de amostra. 4. Ferramentas quimiométricas. I. Araujo, Rennan Geovanny Oliveira. II. Almeida, Tarcísio Silva de . III. Título.

TERMO DE APROVAÇÃO

SAMIR HIPÓLITO DOS SANTOS

"Aplicação de planejamentos simultâneos para otimização de métodos analíticos para determinação de constituintes inorgânicos em pó para refresco por ICP OES"

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

Prof. Dr. Rennan Geovanny Oliveira Araújo Rennan G. O. Araújo
Doutorado em Química, Universidade Federal da Bahia (UFBA)
Universidade Federal da Bahia

Prof. Dr. Tarcísio Silva de Almeida Tarcísio Silva de Almeida
Doutorado em Química, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC)
Universidade Federal da Bahia

Prof.^a Dr.^a Amália Geíza Gama Pessoa Amália Geíza Gama Pessoa
Doutorado em Química, Universidade Federal de São Carlos (UFSCar)
Universidade Federal da Bahia

Prof. Dr. Erik Galvao Paranhos da Silva Erik Galvao
Doutorado em Química, Universidade Federal da Bahia (UFBA)
Universidade Estadual de Santa Cruz

Salvador, 19 de dezembro de 2017.

*Se eu vi mais longe foi por estar de
pé sobre ombros de gigantes*

(ISAAC NEWTON)

AGRADECIMENTOS

A realização deste trabalho jamais seria possível sem a participação direta e indiretamente de algumas pessoas ao longo do meu caminho e agradece-los é o mínimo a ser feito. Ao criador de todo este universo, meus imensos agradecimentos.

Sou eternamente grato às três grandes mulheres que sempre deram todo e qualquer apoio no meu caminho, minha Mãe, Vovó e minha irmã Karinne. A elas, eu devo o mundo. Também agradeço aos meus irmãos, Alessandro, Alisson e Eder. E ao meu Pai (*in memorian*) que mesmo em outro universo, ainda continua presente. Todas essas almas compõem a força e razões de seguir em frente.

Agradeço ao Professor Dr. Rennan Geovanny, meu orientador, pela confiança depositada em mim, transferindo todo seu conhecimento e experiência com muita competência e profissionalismo sempre.

Ao Prof. Dr. Tarcísio, coorientador deste trabalho e pelas suas contribuições.

Aos amigos do “’Todo”, Deyse, Elidian, Luís, Marquinhos e Matheus, pelos momentos de descontração regados a muitas canções e apoio na minha jornada.

Aos amigos, Anderson, Bruno, Henry e João pelo apoio e incentivo sempre.

Ao Felipe, Oseas e Robson pelo convívio juntos nessa jornada, sempre dando todo apoio e incentivos.

A todos que compõem a família científica do GPEQA: Professora Dr.^a Amália Geíza, Felipe, Dayara, Eliane, Joilson, Marcos, Rogério, Sidnei, Talita, Vaniele, Vinícius e Sidimar, e em especial ao Silvânio que me ajudou desde o início na realização deste trabalho e a Jeferson pelo incentivo e apoio.

Ao Prof. Dr. Carlos Alexandre Borges Garcia pela infraestrutura e apoio acadêmico para realização das atividades deste trabalho de pesquisa nas dependências dos laboratórios do LQA, UFS, São Cristóvão, Sergipe.

Ao LEPETRO também pela infraestrutura e apoio acadêmico para realização das atividades desse trabalho, em nome do Prof. Dr. Antônio Fernando S. Queiroz, Dr.^a Karina Garcia e a Dr.^a Sarah Adriana R. Soares.

Aos Professores do Programa de Pós-graduação em Química da UFBA pelas aulas e conhecimento.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de mestrado e o auxílio financeiro (Universal edital 14/2013, processo 482416/2013-0).

À FAPESB pelo auxílio financeiro (PRONEX/FAPESB e Universal edital 05/2014, processo APP0065/2015) para o desenvolvimento deste trabalho.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Valores de ingestão diária recomendada (IDR) de minerais.....	25
Tabela 2. Parâmetros e Características operacionais usados para análise por ICP OES com vista axial.	40
Tabela 3. Fatores e níveis estabelecidos para o planejamento fatorial fracionário 2^{5-1} para preparação das amostras de pó para refresco utilizando HF.....	45
Tabela 4. Matriz do planejamento fatorial fracionário 2^{5-1} para o procedimento de digestão de pó para refresco usando a mistura HNO_3 , HF e H_2O_2	47
Tabela 5. Confundimentos e efeitos do planejamento fatorial fracionário 2^{5-1} com função resposta múltipla para o procedimento de digestão de amostra usando a mistura HNO_3 , HF e H_2O_2	49
Tabela 6. Análise da variância (ANOVA) para o planejamento fatorial fracionário (2^{5-1}) com função resposta Múltipla da mistura HNO_3 , HF e H_2O_2	52
Tabela 7. Valores de pesos das variáveis para as duas primeiras componentes principais da mistura HNO_3 , HF e H_2O_2	54
Tabela 8. Matriz de Doehlert para otimização das condições operacionais do ICP OES.	60
Tabela 9. Valores de mínimo, máximo e críticos das condições operacionais do ICP OES.	62
Tabela 10. Análise da variância (ANOVA) na otimização das condições operacionais do ICP OES.	63
Tabela 11. Parâmetros de mérito das análises por via úmida utilizando três níveis de concentrações adicionadas dos microelementos e macroelementos do procedimento com HNO_3 , HF e H_2O_2	66
Tabela 12. Resultados obtidos para análises de CRM de materiais de folhas de vegetais utilizando o método analítico proposto da mistura HNO_3 , HF e H_2O_2 e determinação por ICP OES.	70
Tabela 13. Resultados das concentrações dos constituintes inorgânicos em pó para refresco por ICP OES utilizando um procedimento de digestão ácida obtida pela mistura HNO_3 +HF+ H_2O_2 em bloco digestor com sistema fechado.....	73
Tabela 14. Fatores e níveis estabelecidos para o planejamento fatorial fracionário 2^{5-1} para preparação das amostras de pós para refrescos utilizando HCl.	74

Tabela 15. Matriz do planejamento fatorial fracionário 2^{5-1} para o procedimento de digestão de pó para refresco usando a mistura HNO_3 , HCl e H_2O_2	76
Tabela 16. Contrastes e confundimentos do planejamento fatorial fracionário 2^{5-1} com função resposta múltipla para a mistura HNO_3 , HCl e H_2O_2	80
Tabela 17. ANOVA da resposta múltipla para a mistura HNO_3 , HCl e H_2O_2	81
Tabela 18. Pesos das variáveis para as duas primeiras componentes principais para $\text{HNO}_3+\text{HCl}+\text{H}_2\text{O}_2$	83
Tabela 19. Parâmetros de mérito para análise de pó para refresco empregando um procedimento de preparo de amostra de uma mistura $\text{HNO}_3+\text{HCl}+\text{H}_2\text{O}_2$ e detecção por ICP OES.	87
Tabela 20. Resultados das concentrações dos elementos obtidos pela análise dos materiais de referência certificados por ICP OES após preparo de amostra usando uma mistura $\text{HNO}_3+\text{HCl}+\text{H}_2\text{O}_2$ empregando um bloco digestor com sistema fechado.	90
Tabela 21. Resultado das concentrações dos elementos em pó para refrescos por ICP OES usando a mistura $\text{HNO}_3+\text{HCl}+\text{H}_2\text{O}_2$	93
Tabela 22. Resumo estatístico das concentrações dos elementos quantificados nas seis amostras de pós para refresco pelos dois procedimentos propostos.	95
Tabela 23. Concentrações dos elementos em porções de 6 g de pó para refresco analisados, com porcentagens de contribuição ao IDR.....	98

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Gráfico de Pareto para o planejamento fatorial fracionário 2^{5-1} com função resposta múltipla do procedimento de digestão de amostra usando a mistura HNO_3 , HF e H_2O_2	50
Figura 2. Gráfico dos valores preditos versus valores observados para a função resposta múltipla da mistura HNO_3 , HF e H_2O_2 ($r \geq 0,99$).	53
Figura 3. Gráfico de pesos para a PC1 versus PC2 para as concentrações dos elementos determinados em uma amostra de pó para refresco digerida usando a mistura HNO_3 , HF e H_2O_2	55
Figura 4. Gráfico de escores para a PC1 versus PC2 referente aos 19 experimentos utilizados no planejamento fatorial fracionário 2^{5-1} para a mistura HNO_3 , HF e H_2O_2 ..	56
Figura 5. Dendograma dos dados autoescalados das concentrações dos elementos nos 19 experimentos: cálculo da distância Euclidiana e método de ligação interpondo Ward's (HNO_3 , HF e H_2O_2).....	58
Figura 6. Superfície de resposta gerada à partir da matriz de Doehlert.	61
Figura 7. Gráfico de contorno entre Potência RF e VGN.	62
Figura 8. Análise de regressão linear para as razões Mg II/Mg I encontradas a partir da matriz de Doehlert.....	64
Figura 9. Gráfico de Pareto para o planejamento fatorial fracionário 2^{5-1} com função resposta múltipla do procedimento de digestão de amostra usando a mistura HNO_3 , HCl e H_2O_2	78
Figura 10. Gráfico de correlação dos valores preditos vs valores observados com usando a função da resposta múltipla das concentrações dos elementos obtidas para a mistura $\text{HNO}_3+\text{HCl}+\text{H}_2\text{O}_2$	82
Figura 11. Gráfico de pesos para a PC1 versus PC2 para a mistura HNO_3 , HCl e H_2O_2	84
Figura 12. Gráfico de escores para a PC1 versus PC2 referente aos 19 experimentos do planejamento fatorial fracionário 2^{5-1} da mistura HNO_3 , HCl e H_2O_2	85
Figura 13. Dendograma dos dados autoescalados das concentrações dos elementos nos 19 experimentos: Cálculo da distância Euclidiana e método de ligação Ward's da mistura HNO_3 , HCl e H_2O_2	86

Figura 14. Gráfico de análise de regressão linear para Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P, S e Sr.	96
--	----

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ANOVA – Análise de variância

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

BEC – Concentração equivalente de fundo (do inglês *background equivalent concentration*)

CRM-Agro C1003a – Material de referência certificado de folha de tomate (ensaio interlaboratorial do CENA-USP)

CRM – Material de referência certificado (do inglês *certified reference material*)

F AAS – Espectrometria de absorção atômica com chama (do inglês *flame atomic absorption spectrometry*)

GF AAS – Espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite (do inglês *graphite furnace atomic absorption spectrometry*)

HCA – Análise de agrupamento hierárquico (do inglês *hierarchical cluster analysis*)

I_{Branco} – Intensidades do branco analítico

I_{Prad} – Intensidades das soluções padrão

IDR – Ingestão diária recomendada

ICP – Plasma indutivamente acoplado (do inglês *Inductively coupled plasma*)

ICP-MS – Espectrometria de massas com 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*)

IUPAC – União Internacional de Química Pura e Aplicada (do inglês *International Union Pure and Applied Chemistry*)

LoD – Limite de detecção

LoQ – Limite de quantificação

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

MSR – Metodologia de superfície de resposta

NCS DC 73351 – *China National Analysis Center for Iron and Steel*, tea leaves
(Material de referência certificado de folha de chá)

NIST – *National Institute of Standard & Technology*

NIST 1515 – Apple leaves (Material de referência certificado de folha de maçã) do inglês *Certified reference material*

NIST 1547 – Peach leaves (Material de referência certificado de folha de pêssago) do inglês *Certified reference material*

PC – Componente principal (do inglês *Principal component*)

PCA – Análises de componentes principais (do inglês *Principal component analysis*)

PTFE – Politetrafluoretileno

PRF – Potência de rádio frequência

SBR – Razão sinal ruído (do inglês *signal to background ratio*)

SS – Solid sampling

RM – Resposta múltipla

RSD – Desvio padrão relativo (do inglês *relative standard deviation*)

VGN – Vazão do gás de nebulização

SUMÁRIO

RESUMO	13
ABSTRACT	15
1. INTRODUÇÃO	17
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	19
2.1. Pó para Refresco.....	19
2.2. Elementos essenciais e não essenciais na saúde humana.....	21
2.3. Preparo de amostra para determinação de constituintes inorgânicos	26
2.4. Uso de técnicas espectroanalíticas para análise de alimentos	29
2.4.1. Espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente	31
2.5. Ferramentas quimiométricas para o desenvolvimento de métodos analíticos	33
2.5.1. Planejamento de experimentos	33
2.5.2. Metodologia de superfície de resposta	35
2.5.3. Análise multivariada de dados	36
3. OBJETIVOS	38
3.1. Geral	38
3.2. Específicos	38
4. EXPERIMENTAL	39
4.1. Reagentes e soluções	39
4.2. Instrumentação	39
4.3. Amostras de pó para refresco	41
4.4. Controle de qualidade	41
4.5. Procedimento de digestão ácida das amostras de pó para refresco	42
4.5.1. Procedimento de digestão com a mistura HNO ₃ , HF, e H ₂ O ₂	42
4.5.2. Procedimento de digestão com a mistura HNO ₃ , HCl e H ₂ O ₂	43
4.6. Determinação da acidez residual	44
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
5.1. Avaliação da acidez residual	44

5.2. Otimização do método de digestão ácida das amostras utilizando a mistura HNO ₃ , HF e H ₂ O ₂ usando bloco digestor em sistema fechado.....	45
5.2.1. Análise multivariada de dados para o procedimento de digestão com a mistura HNO ₃ , HF, e H ₂ O ₂	53
5.2.1.1. Análise de componente principal para o procedimento de digestão com a mistura HNO ₃ +HF+H ₂ O ₂	54
5.2.1.2. Análise de agrupamento hierárquico para o procedimento de digestão com a mistura HNO ₃ +HF+H ₂ O ₂	57
5.2.2. Otimização das condições operacionais do espectrômetro.....	58
5.2.3. Parâmetros de mérito.....	64
5.2.4. Aplicação do procedimento de digestão utilizando HNO ₃ , HF e H ₂ O ₂ diluídos para análise de pó para refresco	71
5.3. Otimização do método de digestão ácida das amostras de pó para refresco para a mistura HNO ₃ + HCl + H ₂ O ₂	74
5.3.1. Análise multivariada de dados para avaliação do procedimento de digestão com a mistura HNO ₃ +HCl+H ₂ O ₂	82
5.3.1.1. Análise de componente principal para o procedimento de digestão com a mistura HNO ₃ +HCl+H ₂ O ₂	83
5.3.1.2. Análise de agrupamento hierárquico para o procedimento de digestão com a mistura HNO ₃ +HCl+H ₂ O ₂	85
5.3.2. Parâmetros de mérito usando um procedimento de digestão empregando a mistura HNO ₃ +HCl+H ₂ O ₂	87
5.3.3. Aplicação do procedimento de digestão de pó para refresco usando a mistura HNO ₃ +HCl+H ₂ O ₂	91
5.4. Comparação entre os dois procedimentos de digestão de amostra usando as misturas HNO ₃ + HF + H ₂ O ₂ e HNO ₃ + HCl + H ₂ O ₂	94
5.5. Contribuição dos minerais através do consumo de pó para refresco.....	97
6. CONCLUSÃO	100
REFERÊNCIAS.....	101

RESUMO

Neste trabalho, o planejamento experimental simultâneo e a análise multivariada de dados foram usadas como ferramentas quimiométricas na otimização de dois procedimentos de digestão de pó para refresco usando um bloco digestor em sistema fechado. Foi empregando também um planejamento Doehlert para otimizar as condições operacionais do espectrômetro. Logo, duas misturas foram utilizadas na digestão de amostras de pó para refrescos, (1) $\text{HNO}_3+\text{HF}+\text{H}_2\text{O}_2$ e (2) $\text{HNO}_3+\text{HCl}+\text{H}_2\text{O}_2$, com o finalidade da determinação de Al, As, Ba, Be, Bi, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, P, Pb, S, Sn, Sr, Ti, V e Zn por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES). Para avaliar a exatidão foram analisados os materiais de referência certificado de folhas de maçã (NIST 1515), folha de pessegueiro (NIST 1547), folha de tomate (CRM-Agro C1003a) e de Chá (NCS DC 73351) com boas concordâncias entre $80,5 \pm 0,2$ a 117 ± 24 % para o procedimento da mistura $\text{HNO}_3+\text{HF}+\text{H}_2\text{O}_2$ e para a mistura $\text{HNO}_3+\text{HCl}+\text{H}_2\text{O}_2$ variaram entre $80,8 \pm 3,7$ (K) e $115 \pm 5,7$ % (Pb). A precisão foi expressa como desvio padrão relativo, sendo melhor do que 9,9% (n=3), para ambas misturas. Foram também realizados testes de adição e recuperação em amostras de pó para refresco para avaliar a exatidão do método, sendo obtidos valores de recuperações entre $80,0 \pm 0,9$ (Al) e $119 \pm 2,8$ % (Ti) para mistura $\text{HNO}_3+\text{HF}+\text{H}_2\text{O}_2$, e envolvendo a mistura $\text{HNO}_3+\text{HCl}+\text{H}_2\text{O}_2$, os valores variaram entre $80,8 \pm 1,7$ (Cu) e $120 \pm 1,5$ % (Na) (n = 3), sendo estes valores aceitáveis para uma análise quantitativa. A análise de regressão linear foi aplicada para avaliar a comparação dos valores obtidos entre os dois métodos propostos, mostrando que os resultados das concentrações dos elementos químicos não apresentaram diferença significativa para nível de 95%. O procedimento foi aplicado em seis amostras de pó para refresco adquiridas em supermercados de Aracaju / SE, Brasil. Considerando as amostras analisadas de pó para refresco, os resultados demonstraram que a concentração média para os macronutrientes foi de 0,578% para Ca; 0,275% para K; $158 \mu\text{g g}^{-1}$ para Mg; 0,55% para Na; 0,30% para P; 0,18% para S e 0,126% para Ti. Já para os micronutrientes e elementos traços, a concentração média foi de $16,6 \mu\text{g g}^{-1}$ para Al; $1,64 \mu\text{g g}^{-1}$ para Cu; $263 \mu\text{g g}^{-1}$ para Fe; $1,30 \mu\text{g g}^{-1}$ para Mn; $6,65 \mu\text{g g}^{-1}$ para Sr; $1,09 \mu\text{g g}^{-1}$ para V e $1,16 \mu\text{g g}^{-1}$ para Zn. As concentrações para As, Ba, Be, Bi,

Cd, Co, Cr, Ni, Pb e Sn estiveram abaixo do LoQ dos métodos analíticos propostos para análise por ICP OES. Os valores de concentrações médias obtidas neste trabalho foram avaliados em relação aos índices diários recomendados (IDR) para indivíduos adultos, gestantes, crianças (7-10 anos) e lactantes estabelecidos pela Agência de Nacional Vigilância Sanitária (ANVISA), mostrando que o pó para refresco contribui com IDR entre 0,07% (Zn) para lactantes e 26,3% (Fe) para crianças (7-10 anos).

Palavras chaves: Pó para refresco; Composição mineral; Preparo de amostra; Ferramentas quimiométricas; ICP OES.

ABSTRACT

In this work, the experimental design and multivariate data analysis were used as chemometric tools in the optimization of two digestion procedures of refreshment powder using closed digestion block. It was also used Doehlert design to optimize the operational conditions of the spectrometer. Therefore, two mixtures were used in the digestion of samples of refreshment powder: (1) HNO₃ + HF + H₂O₂ and (2) HNO₃ + HCl + H₂O₂, for the purpose of determining Al, As, Ba, Be, Bi, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, P, Pb, S, Sn, Sr, Ti, V and Zn by inductively coupled plasma-optical emission spectrometry (ICP OES). To evaluate the accuracy were analyzed reference materials certified (CRM) of Apple leaves (NIST 1515), Peach leaves (NIST 1547), Tomato leaves (CRM-Agro C1003a) and Tea (NCS DC 73351) with good concordances from 80.5 ± 0.2 to 117 ± 24% for the HNO₃ + HF + H₂O₂ mixture procedure and for HNO₃ + HCl + H₂O₂ mixture varied between 80.8 ± 3.7 (K) and 115 ± 5.7% (Pb). Precision was expressed as relative standard deviation (%RSD), being better than 9.9% (n = 3), for both mixtures. Addition and recovery tests were also performed on samples of refreshment powder for also evaluate the accuracy of the method, obtaining values of recoveries between 80.0 ± 0.9 (Al) and 119 ± 2.8% (Ti) for the mixture HNO₃ + HF + H₂O₂, and involving the mixture HNO₃ + HCl + H₂O₂, The values varied between 80.8 ± 1.7 (Cu) and 120 ± 1.5% (Na) (n = 3), these values being acceptable for a quantitative analysis. The linear regression analysis was applied to evaluate the comparison of the values obtained between the two proposed methods, showing that the results of the concentrations of the chemical elements no showed difference significative for confidence level at 95%. The procedure was applied in six samples acquired in supermarkets of Aracaju / SE, Brazil. Considering the analyzed samples of refreshment powder, the results showed that average concentration for macronutrients was of 0.578% for Ca; 0.275% for K; 158 µg g⁻¹ for Mg; 0.55% for Na; 0.30% for P; 0.18% for S and 0.126% for Ti. For micronutrients and trace elements the average concentration was of 16.6 µg g⁻¹ for Al; 1.64 µg g⁻¹ for Cu; 263 µg g⁻¹ for Fe; 1.30 µg g⁻¹ for Mn; 6.65 µg g⁻¹ for Sr; 1.09 µg g⁻¹ for V and 1.16 µg g⁻¹ 1 for Zn. The Concentrations for As, Ba, Be, Bi, Cd, Co, Cr, Ni, Pb and Sn were below the LoQ of the analytical methods proposed for ICP OES analysis. The values of mean concentrations

obtained in this study were evaluated in relation recommended daily indices (RDI) for adults, pregnant women, children (7-10 years) and lactating women established by the National Sanitary Surveillance Agency (Agência de Nacional Vigilância Sanitaria - ANVISA), showing that the refreshment powder contributing with RDI between 0.07% (Zn) for lactating women and 26.3% (Fe) for children (7-10 years).

Keywords: Refreshment powder; Mineral composition; Sample preparation; Chemometric Tools; ICP OES.

1. INTRODUÇÃO

Naturalmente, sucos de frutas vem sendo uma alternativa como fonte de nutrientes como vitaminas, minerais, proteínas, macroelementos e microelementos e outros fitoquímicos na dieta humana, sendo um alimento popular no dia a dia em todo o mundo devido a seus variados benefícios a saúde, além disso, se tornando um grande atrativo pelo seu sabor, coloração, aroma e baixo custo [WELNA & SZYMCZYCHA-MADEJA, 2014; CHANUKYA & RASTOGI, 2017; NAVARRO-PASCUAL-AHUIR et al., 2015; SZYMCZYCHA-MADEJA & WELNA, 2013; LAI et al., 2016; NUALKAEKUL, 2012].

Na indústria, os sucos de frutas passam por vários processos de fabricação até chegar às prateleiras e devido às várias operações unitárias do processo, aumentam o custo de produção, além do impecilho de maiores probabilidades de contaminação desse alimento. Por outro lado, os preparados sólidos artificiais para refrescos que são popularmente conhecidos como pó para refresco ou suco de fruta em pó, tem o seu consumo aumentado ao longo do tempo, devido ao seu baixo preço e facilidade de preparo, quando comparado com as demais bebidas prontas existentes no mercado (suco líquido em caixa tetrapark®) [INMETRO, 2017].

O pó para refresco apresenta uma série de vantagens com relação aos seus concorrentes líquidos, como, volume, peso e embalagens reduzidas, maior vida útil nas prateleiras e se tornando mais fácil de armazenar e transportar. Assim como, vem sendo usado no preparo de diversos tipos de alimentos como doces, sorvetes, bolos e entre outros [SAIFULLAH et al., 2016; FAZAELI et al., 2012]. Então, a avaliação da composição de constituintes inorgânicos neste alimento se torna de ampla importância, devido a sua composição conter diversos sais inorgânicos.

Como necessárias, as técnicas espectrométricas atômicas tem sido relatadas na literatura como as ferramentas analíticas adequadas na determinação da concentração elementar em sucos de frutas [SZYMCZYCHA-MADEJA et al., 2014; WELNA & SZYMCZYCHA-MADEJA, 2014; LO COCO et al., 2006]. Entre elas, pode-se citar a

espectrometria de absorção atômica com chama (F AAS), espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite (GF AAS), espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) e espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS). Em geral, as técnicas de ICP OES e ICP-MS são bastante utilizadas pela vantagem em realizar determinações simultâneas de macroelementos, microelementos e elementos traço em amostras de alimentos. [CINDRIĆ et al., 2011; FROES et al., 2009].

Porém, convencionalmente estas técnicas requerem que a amostra esteja na forma de solução, sendo necessária uma etapa de preparação da amostra para que toda a amostra esteja mineralizada, ou seja, disponível para introdução no sistema de nebulização para análise. Sendo assim, uma otimização no preparo de amostra se faz necessária para se obter as melhores condições para favorecer a determinação simultânea de constituintes inorgânicos na amostra de alimento [WELNA & SZYMCZYCHA-MADEJA, 2014; SZYMCZYCHA-MADEJA & WELNA, 2013; SZYMCZYCHA-MADEJA et al., 2014; SILVA et al., 2016].

Apesar da digestão ácida ser uma das principais metodologias de preparo de amostra de sucos de frutas para determinação elementar [SZYMCZYCHA-MADEJA & WELNA, 2013; SZYMCZYCHA-MADEJA et al., 2014], estas amostras possuem uma matriz complexa e diversas variáveis podem afetar a eficiência do processo de digestão, como a quantidade de reagentes e amostra, a temperatura e o tempo de digestão da amostra, podendo não ocorrer a digestão completa da amostra dificultando sua introdução para análise.

Diante disto, neste trabalho foi aplicado um planejamento fatorial fracionário 2^{k-1} para otimização do preparo de amostra de forma a identificar quais variáveis irão sofrer influências significativas no processo de digestão das amostras de pó para refresco. Além da Matriz de Doehlert com a finalidade da otimização nas condições operacionais do espectrômetro de emissão óptica com plasma indutivamente, estudando os parâmetros que influenciam, na robustez do plasma como a vazão do gás de nebulização (VGN) e Potência de rádio frequência (PRF) para determinação de constituintes inorgânicos, com o objetivo de aumentar a eficiência da análise química deste alimento [NOVAES et al., 2016; SERESHTI et al., 2011].

Além disto, a análise multivariada de dados é uma ferramenta quimométrica utilizada com frequência para identificar padrões de grupos ou semelhanças entre amostras, ajudando a reduzir grandes conjuntos de dados obtendo interpretações com mais facilidade em determinações multielementares. A análise de componentes principais (PCA) e análise de agrupamento hierárquico (HCA) são técnicas comumente empregadas para identificar as relações entre as concentrações dos elementos determinados e os experimentos estudados [YÜCEL & SULTANOGLU, 2013; HIDALGO et al., 2016].

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Pó para Refresco

O crescimento e sustento da vida em todos os seres humanos é adquirido principalmente através da absorção dos elementos químicos presentes nos alimentos e bebidas [CACCIOLA, DUGO & MONDELLO, 2017]. Conhecido como a principal fonte de vitaminas, proteínas, carboidratos, minerais, macro e microelementos, os alimentos podem apresentar papel importante na prevenção de doenças cardiovasculares, diabetes e câncer, além da própria manutenção da saúde humana [SOUZA-SILVA, GIONFRIDDO & PAWL, 2015; LUNDBERG-HALLÉN & OHRVIK, 2015; WANG, JIN & CHEN, 2017]. Entretanto, são nos alimentos que também podem ser encontrados elementos tóxicos e não essenciais que apresentam efeitos adversos também à saúde humana [MIR-MARQUÉS, CERVERA & LA GUARDIA, 2016].

O alimento é definido como toda substância ou misturas de substâncias, no estado sólido, líquido, pastoso ou qualquer outra forma adequada, destinadas a fornecer ao organismo humano os elementos químicos essenciais à sua formação, manutenção e desenvolvimento [BRASIL, 1969]. As bebidas são alimentos líquidos importantes em todo o mundo, e fazem parte da dieta diária na vida dos seres humanos, podendo ser divididas em bebidas alcoólicas e não alcoólicas [ZBAKH & ABBASSI, 2012].

Conhecidas como uma das bebidas mais populares, os sucos de frutas nos proporcionam efeitos benéficos a saúde, sendo este alimento bastante apreciado pelos

seres humanos pelo seu agradável sabor, sendo constituído de uma grande quantidade de compostos importantes como, os carotenóides, flavonóides, pectinas, vitaminas, proteínas, carboidratos, monoterpenos, ácidos fenólicos, macro e microelementos [SZYMCZYCHA-MADEJA et al., 2014; ZBAKH, H. & ABBASSI, 2012]. Os produtos de sucos de fruta em pó passaram a ser uma alternativa de bebida mais conveniente e econômica em relação aos sucos líquidos no dia a dia das pessoas, devido o seu preço [SAIFULLAH et al., 2016; SHISHIR. & CHEN, 2017].

Este tipo de alimento vem ao longo do tempo ganhando cada vez mais espaço como base alimentar dos seres humanos, principalmente pelas populações em geral, já que é um produto comercializado com um custo mais reduzido dos que os sucos de fruta líquidos, e o seu pó prepara bebidas refrescantes instantâneas após a dissolução em água com ampla diversidade de sabores. O suco de fruta em pó é um produto comercialmente bastante vantajoso, e seu pó apresenta algumas facilidades na sua produção, como aumento da vida útil de armazenamento, podendo durar de meses a anos nas prateleiras dos supermercados, além do transporte mais conveniente pelas indústrias, já que suas embalagens apresentam menor volume e menor peso, facilitando um melhor manuseio e transporte do produto [SAIFULLAH et al., 2016; INMETRO, 2017; SHISHIR & CHEN, 2017; CATÃO, DA SILVA & OLIVEIRA, 2013].

Os pós para refresco são produzidos a base de frutas e vegetais naturais ou produzidos com sabores artificiais. No Brasil, os preparados sólidos para refresco são popularmente conhecidos como pó para refresco e foi a partir da década de 1960 que começaram a serem comercializados como produtos para consumo. Inicialmente foram comercializados como uma composição puramente artificial. Somente a partir da década de 1990, com a Portaria N° 544 de 16 de novembro de 1998 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), que foram estabelecidos padrões de qualidade e identidade deste produto, fazendo com que os pós para refrescos ganhassem novas formulações com adição de polpas de frutas, sucos desidratados de fruta, fibras solúveis, gomas, sucos ou extratos de vegetais na composição do produto, melhorando cada vez mais a sua aparência e sabor, chamando mais atenção do consumidor [INMETRO, 2017; CALEGUER, TOFFOLI & BENASSI, 2006; CALEGUER & BENASSI, 2007; BRASIL, 1998].

O pó para refresco através da Portaria Nº 544, 16 de novembro de 1998 do MAPA é definido como “o produto a base de suco ou extrato vegetal de sua origem e açúcares, podendo ser adicionado de edulcorantes hipocalóricos e não-calóricos, destinado à elaboração de bebida, para consumo imediato, pela adição de água potável” [BRASIL, 1998]. Os pós para refrescos tem como principal característica a sua coloração bastante variada e fazendo com que as crianças sejam o seu principal público.

Os corantes são os principais aditivos para dar cor nesses produtos e são adicionados com o objetivo de intensificá-la, corrigir variações naturais da coloração, compensar a sua perda devida a exposição à luz, ar, temperatura, umidade e armazenamento [INMETRO, 2017]. Os conservadores químicos (conservantes) também fazem parte da formulação do pó para refresco, sendo um aditivo utilizado na forma de um sal para manter alimentos por um longo tempo antes do consumo [MENDONÇA, VAZ & MENDONÇA, 2001].

Os pós para refresco são alimentos bastante populares no dia a dia das pessoas e possuem composição química complexa com diversos compostos e aditivos, fazendo com que este tipo de produto seja uma fonte de vários constituintes inorgânicos, e desenvolver estudos para análises elementares nesta matriz é de grande importância para segurança alimentar, uma vez que existem poucos estudos da avaliação da qualidade deste produto na literatura.

2.2. Elementos essenciais e não essenciais na saúde humana

Os alimentos são as principais fontes de nutrientes minerais para a saúde humana, proporcionando o crescimento, desenvolvimento e funções fisiológicas adequadas do corpo e manutenção da saúde de modo geral [AUGUSTO et al., 2017; MIR-MARQUÉS, CERVERA & LA GUARDIA, 2016]. O consumo de alimentos é sempre uma fonte de diversos constituintes que podem ser necessários a saúde humana adequada, e também como fontes de elementos prejudiciais à saúde [MIR-MARQUÉS, CERVERA & LA GUARDIA, 2016]. Mais de 60 elementos podem ser encontrados nos alimentos, sendo que os elementos minerais podem ser divididos em elementos essenciais (macro e microelementos), elementos não essenciais e potencialmente tóxicos [DESIDERI, MELI & ROSELLI, 2010; RUZIK, 2012].

Os macroelementos essenciais são necessários em maiores quantidades para uma nutrição adequada e saudável, e são representados por alguns elementos como cálcio (Ca), potássio (K), magnésio (Mg), sódio (Na), fósforo (P) e enxofre (S), enquanto que, os microelementos essenciais cobalto (Co), cobre (Cu), cromo (Cr), flúor (F), ferro (Fe), iodo (I), manganês (Mn), molibdênio (Mo), níquel (Ni), selênio (Se), silício (Si), zinco (Zn), vanádio (V), são necessários para o organismo humano em pequenas quantidades [RUZIK, 2012; BORGESSE et al., 2015; GHARIBZAHEDI & JAFARI, 2017].

Os elementos químicos como boro (B), bário (Ba), cério (Ce), germânio (Ge), rubídio (Rb), estrôncio (Sr) e titânio (Ti), são elementos não essenciais para a saúde humana e não tóxicos em quantidades de traço. Os elementos alumínio (Al), arsênio (As), bário (Ba), cádmio (Cd), cromo (Cr), cobre (Cu), mercúrio (Hg), chumbo (Pb), antimônio (Sb), estanho (Sn), tório (Th), urânio (U) podem ser considerados potencialmente tóxicos mesmo também em quantidades de traço e dependendo da sua espécie química [RUZIK, 2012; BORGESSE et al., 2015; BRITO et al., 2017].

Os elementos tóxicos são danosos à saúde, porém até os elementos essenciais para a saúde humana podem apresentar efeitos tóxicos quando em níveis de concentrações elevadas, ou seja, uma dose não adequada [MIR-MARQUÉS, CERVERA & LA GUARDIA, 2016]. Geralmente a toxicidade provocada por elementos tóxicos afetam o sistema nervoso e os rins. Os elementos As e Cd podem ao longo do tempo provocar o desenvolvimento de câncer. Cobre e chumbo podem se ligar as membranas celulares e atrapalhar o processo de transportes através da parede celular. Além disso, cada elemento tóxico desempenha uma toxicidade diferente e também está relacionada ao tempo de exposição e sua concentração [WASEEM & ARSHAD, 2016].

Os macroelementos cálcio e magnésio estão envolvidos em diversos processos fundamentais para um adequado funcionamento do corpo humano, como a formação da estrutura e tecidos ósseos, além disso, os dois elementos químicos juntos com o potássio (K) são fundamentais para a regulação e dilatação dos vasos sanguíneos e contração muscular, influenciando na regulação dos batimentos cardíacos [GHARIBZAHEDI & JAFARI, 2017; ALZAHIRANI et al., 2016]. O fósforo (P) também tem papel importante no organismo humano, fornecendo crescimento celular, manutenção e reparação dos tecidos, sendo responsável por carregar, armazenar e liberar energia, além de ajudar

muitas enzimas e vitaminas na extração de energia [DESIDERI, MELI & ROSELLI, 2010; GHARIBZAHEDI & JAFARI, 2017].

O enxofre (S) é um dos elementos mais abundantes do planeta Terra e um elemento essencial para a vida de todos seres vivos, podendo ser encontrado em todos os tecidos animais e vegetais, fazendo parte de muitos aminoácidos, coenzimas, vitaminas e encontrado em grande variedade de alimentos de origem animal e vegetal. Nos alimentos, o S é utilizado como conservante, assim como aditivo químico para inibir o crescimento e oxidação de bactérias na produção do vinho. No entanto, os seus compostos gasosos são prejudiciais para a saúde [NAKADI, ROSA & DA VEIGA, 2013; ZAMBRZYCKA & GODLEWSKA-ŻYŁKIEWICZ, 2014; OZBEK & BAYSAL, 2017].

O sódio (Na) é um macroelemento essencial importante para a regulação da pressão sanguínea, arterial e manutenção do equilíbrio ácido-base. Entretanto, altos níveis de concentração de sódio podem causar sérios riscos à saúde, provocando hipertensão, doença renal, acidentes vascular cerebral, doenças cardíacas e osteoporose [PLOEGAERTS, DESMET & KRIEKEN, 2016; HWANG et al., 2017].

Os microelementos essenciais como Cu, Fe, Mn, Se e Zn desempenham papel importante no metabolismo enzimático, fazendo parte da estrutura das enzimas [DESIDERI, MELI & ROSELLI, 2010]. O ferro é o quarto elemento mais abundante na crosta terrestre. Este elemento é essencial para a saúde humana, estando envolvido no transporte de oxigênio e regulação do crescimento celular, sendo um componente vital das proteínas, hemoglobina e mioglobina [ALZHRANI et al., 2016; VERMA, TAPADIA & SONI, 2017; POZZATTI et al., 2017]. O cobre tem funções importantes no organismo pela sua presença nas enzimas e proteínas que protegem o corpo dos radicais livres através dos processos de oxidação-redução [PEDRON et al., 2016].

O microelemento manganês quando em concentrações necessárias para a saúde tem função importante na cicatrização de feridas, atua na digestão, reprodução e no regulamento da energia celular [FREELAND-GRAVES, MOUSA & KIM, 2016]. Selênio é um microelemento inorgânico essencial que pode proteger contra diferentes tipos de câncer como de intestino, mama, pele, próstata e pulmão, causando benefícios em animais e seres humanos. Entretanto, apresenta uma estreita faixa entre suficiência e toxicidade [OHKI et al., 2016; BODNAR & KONIECZKA, 2016]. O zinco é um

microelemento com diversas funções bioquímicas, ligado a membranas com funções estruturais, reguladoras, antioxidantes e um dos elementos mais abundantes nas células, sendo um elemento fundamental em mais de 300 metaloenzimas [DJINOVIC-STOJANOVICA et al., 2017; BILANDZ'IC et al., 2014].

Os alimentos sólidos e as bebidas são as principais fontes de elementos químicos essenciais, não essenciais ou tóxicos. Os sucos de frutas é um tipo de bebida das mais consumidas em todo o mundo por ser umas das maiores fontes de nutrientes como vitaminas, proteínas, flavonoides, carboidatos, macro e microelementos essenciais para a saúde [SIENER et al., 2016]. Eles abrangem uma grande quantidade de macro e microelementos essenciais para a saúde, como Ca, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na, Zn e apresenta grande variabilidade de concentrações nesse tipo de bebida, além disso, produtos de sucos de frutas comerciais geralmente possuem concentrações maiores de elementos inorgânicos do que em sucos *in natura*, isso devido aos vários processos de fabricação e processamento [SZYMCZYCHA-MADEJA et al., 2014].

O consumo diário de suco de fruta e outras bebidas derivadas, pode abranger facilmente a ingestão diária recomendada (IDR) de macro e microelementos de uma dieta saudável. O IDR da concentração do Na pode aumentar dependendo da qualidade do produto consumido, se tornando um risco para a saúde. Outros microelementos essenciais, não essenciais e tóxicos (Al, As, Cd, Co, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Pb e Zn) estão presentes em baixas concentrações em sucos de frutas, no entanto, quando em IDR altos, podem provocar efeitos tóxicos no organismo humano. Quando as concentrações dos elementos Al, As, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ni e Pb em sucos de frutas são determinadas em baixas concentrações, ou seja, baixo do valor máximo permitido pela legislação ou não detectáveis, as bebidas apresentam boa qualidade e segurança alimentar [SZYMCZYCHA-MADEJA et al., 2014].

A determinação e conhecimento da composição elementar para segurança de alimentos (alimentos sólidos e bebidas) vem se tornando cada vez mais fundamental devido a sua importância na vida das pessoas e tamanha complexidade desse tipo de matriz [ANVISA, 2005].

A determinação multielementar em diversos tipos de alimentos vem sendo bastante relatados na literatura. Andrade et al. determinaram Cd, Cr, Cu e Pb em iogurte por espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de

grafite (GF AAS) [ANDRADE et al., 2017]. Pereira et al. encontraram a concentração de K, Cr, Cu, Mg, Na, Pb e Zn em 4 amostras de sucos de frutas (morango, manga, pêssego e laranja) processados empregando técnicas de espectrometria atômica [PEREIRA et al., 2017].

Turra et al. investigaram em 57 amostras de sucos de laranja por espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) as concentrações de Al, Ba, Cu, Cs, Fe, Mg, Mn, Rb, Si, Sr e Zn [TURRA et al., 2017]. Gómez-Nieto et al. quantificaram as concentrações de Cu, Mg, Mn, Si e Zn em bebidas e suplementos alimentares por espectrometria de absorção atômica com chama (F AAS) [GÓMEZ-NIETO et al., 2017]. Szymczycha-Madeja et al. determinaram as concentrações de Ca, Fe, K, Mg e Na por FAAS e Al, Ba, Cd, Co, Cr, Mn, Ni, Pb e Sr por ICP OES em bebidas de cafés instantâneos [SZYMCZYCHA-MADEJA et al., 2016].

Neste contexto, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), adotou a resolução RDC N° 269, de 22 de setembro de 2005, que aprovou o regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR), de proteínas, vitaminas e minerais que deve ser consumida diariamente, atendendo as necessidades nutricionais de uma população sadia conforme apresentado na Tabela 1 [ANVISA, 2005].

Tabela 1. Valores de ingestão diária recomendada (IDR) de minerais.

Grupo populacional	Adultos	Gestantes	Crianças 7 - 10 anos	Lactantes
Ca (mg)	1000	12000	700	1000
Cr (µg)	35	30	15	45
Cu (µg)	900	1000	440	1300
F (mg)	4	3	2	3
Fe (mg)	14	27	9	15
I (µg)	130	200	100	200
Mg (mg)	260	220	100	270
Mn (mg)	2,3	2	1,5	2,6
Mo (µg)	45	50	22	50
P (mg)	700	1250	1250	1250
Se (µg)	34	30	21	35
Zn (mg)	7	11	5,6	9,5

Visando proteger a saúde pública, a ANVISA através da Resolução RDC n° 42, de 29 de Agosto de 2013, dispõe sobre o regulamento técnico Mercado Comum do Sul

(MERCOSUL) sobre limites máximos de contaminantes inorgânicos em alimentos. Os limites máximos foram estabelecidos para apenas As, Pb, Cd e Sn em sucos de frutas com valores de 0,10; 0,05; 0,05 e 150 mg kg⁻¹, respectivamente [ANVISA, 2013].

2.3. Preparo de amostra para determinação de constituintes inorgânicos

A complexidade da matriz de alimentos é sempre um desafio para a determinação de seus analitos. Já que as amostras possuem uma composição bem diversificada como proteínas, gorduras, inúmeros aditivos com diferentes propriedades, minerais e outros componentes. Sendo assim, o preparo da amostra é a etapa crítica dentre todas as etapas envolvidas em uma análise química, porque consome aproximadamente 60% total da sequência analítica. Esta etapa é a que mais exige atenção e planejamento do analista, pois é nessa etapa que o custo é mais elevado, a ocorrência de erros é acentuada, sendo também exigido o maior tempo em relação a outras etapas, sendo assim, considerada importante para redução de custos como menor gasto de reagentes, materiais e menor geração de resíduos [KRUG, 2006; XU et al., 2016].

Na determinação de constituintes inorgânicos por técnicas espectrométricas atômica, é convencionalmente necessário que a amostra esteja dissolvida em solução aquosa, levando em consideração que seus sistemas de introdução de amostra são adaptados para introdução de amostras líquidas [KRUG, 2006; PRIEGO-CAPOTE & DE CASTRO, 2007; FLORES et al., 2007]. Basicamente, as amostras são decompostas utilizando ácidos minerais, misturas de ácidos ou com ajuda de reagentes suplementares e aplicando energia suficiente para quebrar algumas ligações para obter os analitos em solução [KRUG, 2006; OLIVEIRA, 2003]. As amostras sólidas são as mais complicadas de serem preparadas já que a maioria dos instrumentos analíticos não são adaptados para introdução desse tipo de matriz e por isso a necessidade de converter amostras sólidas para solução [PRIEGO-CAPOTE & DE CASTRO, 2007].

As digestões via seca e úmida são procedimentos de decomposição mais comuns utilizados na preparação de amostras sólidas. O processo de digestão é realizado com auxílio de energia (calor) e reagentes químicos ou pressão, em sistemas abertos ou fechados. Os procedimentos analíticos mais conhecidos para digestão de amostras

utilizam fontes de energia como térmica através de bloco digestor, ultrassom e radiação micro-ondas [OLIVEIRA, 2003; PRIEGO-CAPOTE & DE CASTRO, 2007].

A digestão por via seca é talvez a técnica mais simples para decomposição de amostras de alimentos, ambientais e biológicas para determinação de elementos traço. Ela é baseada na incineração da fração orgânica da amostra, removendo a matéria orgânica utilizando como fonte de energia térmica um forno mufla, onde a amostra é colocada em um cadinho aberto e aquecida a temperaturas de 450 a 550 °C à pressão atmosférica, sendo as cinzas restantes, dissolvidas em ácidos diluídos, geralmente HNO₃. No entanto, a digestão por via seca apesar de ser uma técnica simples, se mostra limitante uma vez que são maiores os riscos de contaminação, reação com o cadinho e perdas por volatilização de alguns analitos como As, Cd, Hg e Pb [OLIVEIRA, 2003; KORN et al., 2008].

A digestão úmida é utilizada para decomposição de vários tipos de amostras em sistemas abertos ou fechados usando ácidos ou misturas de ácidos levando em consideração a força do ácido, o seu poder oxidante e/ou complexante. Comparado com a digestão por via seca, a digestão úmida tem como principal vantagem a utilização de menor temperatura no processo de digestão e como consequência menos perdas de elementos por volatilização em sistemas fechados. As fontes de energia utilizadas no auxílio do processo de digestão úmida com aquecimento térmico por bloco digestor e por radiação de micro-ondas são as mais conhecidas [PRIEGO-CAPOTE & DE CASTRO, 2007; KORN et al., 2008].

Os ácidos inorgânicos HCl, HNO₃, HClO₄, H₂SO₄ e HF são bastantes utilizados na decomposição de diversas amostras. Geralmente a utilização de H₂SO₄ é evitado quando usado técnicas que o sistema de introdução de amostras é gerada pela nebulização da amostra, como F AAS, ICP OES e ICP-MS, devido a sua alta viscosidade, mesmo tendo alta eficiência na digestão de matrizes orgânicas, como gorduras ou oleosas.

O HF é mais utilizado para aumentar a solubilidade de alguns elementos como o Si, Sn, Ti, Zr e Ta, sendo utilizado principalmente em amostras contendo silicatos. O íon fluoreto é um ótimo complexante com vários elementos, reagindo com elementos difíceis de serem solubilizados, formando complexos solúveis. No entanto, os íons fluoretos podem danificar os instrumentos analíticos, corroendo a tocha de quartzo do

plasma e sendo importante utilizar frascos de PTFE ou outros materiais plásticos para a digestão, além de cuidados na sua manipulação pelo analista. Porém, a utilização de ácido bórico (H_3BO_3) após a digestão das amostras é importante pra complexar e neutralizar os íons fluoretos evitando danos ao equipamento de análise [KRUG, 2006; FLORES et al., 2007; KORN et al., 2008].

O HNO_3 , HClO_4 , H_2SO_4 são ácidos com propriedades oxidantes mais conhecidos na digestão úmida de amostras orgânicas e biológicas. O ácido perclórico é o menos desejado por ser um reagente muito perigoso pelo risco de ocasionar explosões caso seja usado isoladamente ou em altas temperaturas e pressão. A recomendação é que seja utilizado combinado com outros ácidos, geralmente ácido nítrico [KRUG, 2006]. Apesar de não apresentar propriedades oxidantes mesmo sendo um ácido forte, o HCl pode formar complexos fortes com muitos íons metálicos, sendo um ácido eficiente na solubilização de muitos metais e óxidos [KRUG, 2006].

O HNO_3 é conhecido como o mais utilizado para oxidação de matrizes orgânicas pelo seu poder oxidante e pode ainda ser aumentado em condições elevadas de temperatura e pressão, e principalmente quando combinado com H_2O_2 [CATARINO et al., 2010]. Ele se tornou o ácido mais desejável para as técnicas espectroanalíticas, porém, muitas vezes é muito difícil promover uma completa oxidação das amostras utilizando apenas o HNO_3 , sendo comum fazer uso de misturas com outros ácidos e também com ajuda de H_2O_2 , como agente oxidante auxiliar promovendo oxigênio para a reação na digestão [KRUG, 2006].

As misturas de ácidos minerais ou misturas de ácidos com outros reagentes são usados na maioria dos métodos de decomposição de amostras de diversos tipos, geralmente misturando dois ou três ácidos com adição de muitas vezes de agente auxiliar, como $\text{HNO}_3 + \text{HCl}$, $\text{HNO}_3 + \text{HF}$, $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$, $\text{HNO}_3 + \text{HCl} + \text{H}_2\text{O}_2$, $\text{HNO}_3 + \text{HF} + \text{H}_2\text{O}_2$. As misturas de ácidos e outros reagentes proporcionam diferentes propriedades combinadas no processo de digestão, como a utilização de um ácido oxidante com um ácido com poder complexante, reação de dois ácidos formando um produto mais reativo do que os dois isoladamente, um ácido com propriedade indesejável pode ser moderado por um segundo ácido, como exemplo o HClO_4 na presença do HNO_3 [KRUG, 2006].

2.4. Uso de técnicas espectroanalíticas para análise de alimentos

A análise elementar em matrizes de alimentos tem sido amplamente relatada na literatura, devido à sua importância na segurança de alimentos e cada vez mais crescente pela busca por uma dieta rica em substâncias mais saudáveis. Logo, as técnicas espectroanalíticas tem sido utilizadas em diversos estudos na determinação da composição mineral em alimentos. As técnicas espectroanalíticas utilizadas em análises elementares em diversos tipos de alimentos são a espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS), espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica com forno de grafite (GFAAS), espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) e espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS), e entre outras, respeitando a sensibilidade e seletividade de cada técnica [BRESSY et al., 2013; ALTUNDAG & TUZEN, 2011; SZYMCZYCHA-MADEJA, 2014; SZYMCZYCHA-MADEJA, A. & WELNA, 2013].

Nestas técnicas a amostra é convencionalmente introduzida na forma de uma solução ou via sólida empregando a análise direta de amostra (SS), que em seguida é atomizada por uma chama, atomizador eletrotérmico ou por um plasma, onde a amostra é convertida em átomos e / ou íons gasosos elementares, e a concentração dos elementos de interesse vão ser medidos através propriedades físicas do analito (absorção, emissão ou razão massa/carga das espécies em um determinado comprimento de onda característico ou número de massa), tendo o sinal medido através de um detector [MONTASER & GOLIGHTLY, 1992].

Entre elas, a técnica de ICP-MS tem sido muito requisitada, devido a sua sensibilidade alcançada com valores de concentrações dos elementos químicos na ordem entre ng L^{-1} e $\mu\text{g L}^{-1}$. Além de ser uma técnica multielementar, com determinação sequencial rápido de mais de 70 elementos em poucos minutos, com uma faixa linear dinâmica ampla, o que torna a técnica preferida para determinação de elementos traços para rotina e medição de isótopos estáveis [SKOOG et al., 2006; HE et al., 2017]. No entanto, o alto custo desse equipamento muitas vezes torna dispendiosa a sua aplicação, levando em conta também a necessidade da utilização de reagentes de alta pureza. Apesar de ser menos sensível e possuir sensibilidade menor ($\mu\text{g L}^{-1}$ e mg L^{-1}) do que a técnica de ICP-MS, a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) é amplamente empregada em análises multielementares de vários

tipos de amostras de alimentos [KHAN et al., 2014; LUIS et al., 2015; DENG et al., 2017; MULLER et al., 2017].

Na literatura são reportados diversos trabalhos que utilizam técnicas espectroanalíticas para determinação de constituintes inorgânicos em amostras de alimentos. Amorim et al., desenvolveram um procedimento de amostragem para determinação de Fe e Mg em amostras de amido de mandioca empregando F AAS [AMORIM et al., 2017]. Shrivias e Jaiswal determinaram Cu em cereais e amostras de alimentos vegetais também por F AAS [SHRIVIAS & JAISWAL, 2013]. Gürkan e Altunay propuseram um método simples, rápido e seletivo para determinação de Sn total em amostras de bebidas enlatadas por extração em ponto nuvem por F AAS [GÜRKAN & ALTUNAY, 2015]. Oliveira et al. avaliaram a contaminação por Pb em amostras de leite bovino bruto e processado por SS-GF AAS [OLIVEIRA et al., 2017].

Junior e Dantas, determinaram em amostras de chá e na planta de garra de gato as concentrações de Ba, Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, P, Pb e Zn por ICP OES e Se por GF AAS [JUNIOR & DANTAS, 2016]. Oliveira et al., avaliaram a comparação de três métodos de preparação de amostra em dois tipos de arroz, determinando as concentrações de As, Cd, Pb e Se por GF AAS [OLIVEIRA et al., 2016]. Rybicka e Gliszczynska-Swigło determinaram os macross elementos Ca, K, Mg, Na e os micross elementos Cu, Fe, Mn, Zn em amostras de 50 grãos de farinhas, pães, macarrão, flocos e outros alimentos por F AAS [RYBICKA & GLISZCZYNSKA-SWIGŁO, 2017].

Luis et al. determinaram 20 elementos (Na, K, Ca, Mg, Al, B, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Li, Pb, Zn, Ni, Sr e V) em 72 amostras de iogurte por ICP OES [LUIS et al., 2015]. Feist e Mikula, propuseram um método de separação e pré-concentração de Cd, Co, Cu, Ni, Pb e Zn usando carvão ativado e analisando por ICP OES [FEIST & MIKULA, 2014]. Biata et al., desenvolveram um método simples e rápido de microextração em fase líquido-líquido dispersiva líquida iônica para pré-concentração de traços de Sb e Sn em três amostras de bebidas enlatadas e quatro em garrafas de polietileno empregando ICP OES [BIATA et al., 2017].

Muller et al. desenvolveram um método de preparação de amostras utilizando digestão por micro-ondas em amostras comerciais de méis e quatro tipos de farinha (mandioca, trigo, milho e batata), para determinação de Ca, Fe, Mg e Na por ICP OES e As, Ba, Cd, Co, Cu, Mn, Mo, Pb, Sr e Zn por ICP-MS [MULLER et al., 2017].

Orecchio et al. determinaram As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Mo, Ni, Pb, Sb, Se, Sn, V e Zn em amostras de alimentos sem glúten (macarrão, pães, farinhas e outros) por ICP-MS [ORECCHIO et al., 2014]. Khan et al. determinaram 22 elementos (As, Pb, Cd, Cr, Cu, Ni, Zn, Tl, U, Rb, Cs, Li, Be, Ba, Sr, Bi, Cs, Ga, In, V, Co e Se) em amostras de leite e iogurte com digestão em bloco digestor e analisando em ICP-MS [KHAN et al., 2014].

2.4.1. Espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente

Desde a década de 1970 que a espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP OES) se tornou atrativa como técnica analítica para determinações multielementares e simultâneas em muitos laboratórios de rotina para análise de diversos tipos de matrizes, sendo conhecida como adequada para determinação de metais, metaloides e não metais [SANTOS et al., 2010; SOUZA et al., 2013]. Tendo em vista também por ser caracterizada como uma técnica rápida para análise com exatidão e precisão, baixos limites de detecção, especificidade e seletividade, com faixa ampla linear de trabalho [MONTASER & GOLIGHTLY, 1992; AMORELLO et al., 2016; ZHOU et al., 2010; FARIÑAS et al., 2016].

O sistema de ICP OES é composto de um nebulizador pneumático associado a uma câmara de nebulização, uma tocha para formação do plasma, um gerador de radiofrequência (RF), um sistema de dispersão da radiação, um detector e um sistema de controle utilizando um computador para recepção e processamento dos dados [MERMET, 2005; MONTASER & GOLIGHTLY, 1992].

No sistema de introdução, a amostra geralmente é aspirada através de uma bomba peristáltica, sendo bombeada para um nebulizador, sendo a solução transformada em um fino aerossol pela ação do fluxo do gás de arraste e introduzida em uma câmara de nebulização, onde somente gotículas pequenas passarão para o centro do plasma onde irão sofrer dessolvatação, vaporização e dissociação em átomos e íons, passando para seus estados excitados no plasma, e ao retornarem para seus estados fundamentais, vão emitir radiação características sendo medidas por um espectrômetro óptico [SKOOG et al., 2006; OJEDA & ROJAS, 2007].

O plasma acoplado indutivamente (ICP) é mais popularmente conhecido como fonte de energia de excitação de átomos e íons podendo atingir temperaturas entre 6.000 a 10.000 K, o que torna a atomização e excitação dos elementos e até os mais refratários com alta eficiência, sendo mais comum utilizado como fonte energética em ICP [DENG et al., 2017; ZHOU et al., 2010; SOUZA et al., 2013]. O plasma pode ser definido como um gás parcialmente ionizado e eletricamente neutro, sendo produzido por um fluxo de gás argônio ionizado através de uma bobina tesla acoplado a um gerador de radiofrequência onde é criado um campo magnético [MONTASER & GOLIGHTLY, 1992; OJEDA & ROJAS, 2007].

A geração do plasma ocorre através de uma tocha composta por três tubos concêntricos de quartzo com entrada independente para cada tubo. Um tubo interno de amostra, um tubo do plasma e o tubo mais externo de resfriamento. Um fluxo de gás argônio é iniciado e uma descarga elétrica é gerada para semear elétrons e iniciado a ionização do argônio, onde íons e elétrons resultantes interagem com um campo magnético gerado através de uma bobina tesla acoplada a um gerador de radiofrequência que promove uma movimentação e colisões entre as espécies gerando alta energia. Esse processo exige um isolamento térmico das paredes da tocha de quartzo que é feito através do fluxo do gás argônio tangencialmente pelas paredes do tubo, resfriando as paredes internas da tocha do plasma [MONTASER & GOLIGHTLY, 1992].

2.5. Ferramentas quimiométricas para o desenvolvimento de métodos analíticos

2.5.1. Planejamento de experimentos

As técnicas de planejamento de experimentos têm sido utilizadas com bastante frequência por diversos campos da ciência como ferramenta estatística afim de otimizar, planejar e validar métodos, com o objetivo de se obter informações que possam ajudar no estudo de determinadas variáveis que influenciam em um processo [FERREIRA, 2015].

As variáveis e as interações entre elas podem ser investigadas com mais segurança, tornando importante o uso dessa ferramenta. A otimização de experimentos pode ajudar a reduzir gastos de materiais utilizados em um experimento, de modo que a quantidade de experimentos a ser realizados pode ser reduzida tornando a avaliação dos resultados menos trabalhosa [NETO, SCARMINIO & BRUNS, 2010]. As variáveis são conhecidas como, variáveis independentes ou fatores, que podem ser controladas em um processo e as variáveis dependentes, que são resultantes do processo [NOVAES et al., 2016; FERREIRA, 2015].

Duas estratégias de otimização dos fatores estudados podem ser aplicadas em um processo, a otimização univariada e multivariada. Na otimização univariada apenas um fator é variado por vez e os outros fatores se mantêm constantes, sendo que durante os experimentos, as interações entre os fatores não são consideradas [CANDIOTI et al., 2014; HEIDARIZADI & TABARAKI, 2016]. Na otimização multivariada todos os fatores podem ser estudados simultaneamente e o número de experimentos realizados são menores do que na otimização univariada tornando-se melhor o desempenho analítico, porém a interpretação dos dados é mais complexo [CANDIOTI et al., 2014; HEIDARIZADI & TABARAKI, 2016].

Basicamente, o processo de otimização multivariada pode ser dividido em duas etapas, a etapa de triagem, onde os fatores são escolhidos e identificar os que influenciam no processo em função do domínio experimental, e a otimização do processo, em que os fatores são avaliados e selecionados os estatisticamente significativos para as melhores condições analíticas [CANDIOTI et al., 2014]. Os experimentos para triagem mais utilizados para determinar os fatores experimentais e suas interações que tem influência significativa sobre o processo são os planejamentos

fatoriais completos, representados por $n = 2^k$ e os planejamentos fatoriais fracionários, são representados por $n = 2^{k-x}$, todos com dois níveis para cada fator, onde ‘n’ é o número de experimentos, ‘k’ é o número de fatores e ‘x’ é o tamanho da fração que pode ter valor 1 ou 2 [TEÓFILO & FERREIRA, 2006; FERREIRA, 2015].

Desta forma, para cada fator adicionado no planejamento fatorial completo, um grande número de experimentos deverá ser realizado, sendo que para $k > 4$, os efeitos de altas ordens são praticamente não significativos. Sendo assim, o planejamento fatorial fracionário pode obter informações relevantes dos efeitos de maior influência no processo mesmo com a redução de experimentos [TEÓFILO & FERREIRA, 2006]. É um exemplo de planejamento que possibilita realizar um número menor de experimentos sem que haja perdas de informações significativas, se comparado com um planejamento fatorial completo, que ao modo que se aumenta o número de fatores, o número de experimentos e resultados também é aumentado.

O presente estudo utilizou a técnica de planejamento fatorial fracionário 2^{k-1} para otimização dos dois métodos de digestão desenvolvidos neste trabalho, onde 5 fatores foram avaliados simultaneamente, em função das concentrações determinadas dos elementos químicos e obtidas como resposta, e uma função baseada no somatório das respostas normalizadas foi usada para obtenção da resposta múltipla (RM), conforme a Equação 1 [NOVAES et al., 2016].

$$RM = \frac{R_{x1}}{R_{Máx1}} + \frac{R_{x2}}{R_{Máx2}} + \frac{R_{x3}}{R_{Máx3}} + \dots + \frac{R_{xn}}{R_{Máxn}} \quad (\text{Eq. 1}),$$

em que, R_{x1} , é a resposta analítica de um elemento em um experimento e $R_{Máx1}$, é a resposta máxima de um elemento em um experimento.

A função resposta múltipla (RM) é utilizada como estratégia para otimização de determinações multielementares, pois um sistema químico produz múltiplas respostas, sendo necessária para avaliar as variáveis dependentes de modo simultâneo a utilização de uma resposta normalizada global para uma melhor eficiência do planejamento proposto [FERREIRA, 2015].

2.5.2. Metodologia de superfície de resposta

A metodologia de superfície de resposta é baseada na construção de modelos matemáticos empregando funções polinomiais lineares ou quadráticas, utilizada para avaliar os efeitos dos fatores estudados, sendo bem aplicada em sistemas de várias variáveis que influenciam em uma resposta ou em um conjunto de respostas, podendo descrever de forma precisa um processo, com o objetivo de otimizar os níveis dos fatores para alcançar a condição de ótimo [TEÓFILO & FERREIRA, 2006; BEZERRA et al., 2008]. As principais metodologias de superfícies de resposta utilizadas para ajustar modelos quadráticos são, planejamento composto central, planejamento Box Behnken, planejamento fatorial de três níveis e matriz de Doehlert, sendo estabelecidos através de figuras geométricas [BEZERRA et al., 2008].

Os planejamentos de primeira ordem, tais como, planejamento fatorial completo de dois níveis e planejamento fatorial fracionário geralmente são utilizados primeiramente para avaliar os fatores e definir o domínio experimental do estudo [BEZERRA et al., 2008; FERREIRA, 2015]. No processo de otimização, o sistema pode resultar em muitas respostas, sendo conveniente a utilização da função resposta múltipla (RM), Equação 1 [FERREIRA, 2015].

A matriz de Doehlert é um planejamento de segunda ordem que descreve para duas variáveis utilizadas, um domínio circular, esférico para três variáveis e hiperesférico para mais de três variáveis apresentando vantagens como a necessidade de menor número de experimentos, e sendo mais eficiente. Esse planejamento tem como característica importante, que cada fator é estudado em um número de níveis, permitindo avaliar as variáveis mais importantes no processo e é expresso por $n = k^2 + k + pc$, em que ‘n’ é o número de experimentos, ‘k’ é o número de fatores e ‘pc’ é o número de experimentos no pontos centrais [TEÓFILO & FERREIRA, 2006; HEIDARIZADI & TABARAKI, 2016].

2.5.3. Análise multivariada de dados

A análise multivariada de dados é uma ferramenta quimiométrica bastante utilizada para descrever um conjunto de dados analíticos a partir de inúmeras variáveis medidas de várias amostras, encontrando possíveis relações entre amostras e variáveis [KUMAR et al., 2014]. As técnicas como análise de componentes principais (PCA) e análise de agrupamentos hierárquico (HCA) são usadas para reconhecimento de padrões avaliando as semelhanças e diferenças entre amostras de um grupo de dados [DOS SANTOS et al., 2013].

A PCA extrai novas variáveis conhecidas como componentes principais (PCs) caso existam correlações significativas entre as muitas variáveis de um conjunto de dados originais, sendo capaz de descrever toda informação em um número menor de variáveis do que as variáveis iniciais, reduzindo a dimensionalidade dos dados. A redução do número de variáveis é obtida através da combinação linear das variáveis originais, com o objetivo de agrupar aquelas com informações semelhantes. A primeira PC contém a maior porcentagem da variância total explicada, sendo portanto estatisticamente mais significativa e as demais PCs restantes contém as porcentagens da variância residual [KUULIALA et al., 2018; SMOLINSKI et al., 2016; REINHOLDS et al., 2015].

A HCA é baseada na identificação de grupos formados através das similaridades ou dissimilaridades entre objetos (amostras ou variáveis). Esses agrupamentos são formados com base na medida de proximidade das propriedades dos objetos, sendo os resultados apresentados na forma de um dendograma. Os objetos com maiores similaridades ou menores distâncias são organizados em agrupamentos ordenados. As medidas de distâncias mais utilizadas para calcular a formação dos agrupamentos são as distâncias Euclidiana, distância Manhattan e coeficiente de correlação e os métodos de ligação são usados podem ser métodos de ligação simples, método de ligação completa e de Ward [KUULIALA et al., 2018; SMOLINSKI et al., 2016; REINHOLDS et al., 2015; SZYMANSKA et al., 2015].

Bezerra et al. desenvolveram um procedimento de preparo de amostra usando extração do ponto nuvem para determinação simultânea de Cd, Cr, Cu, Mn, Ni e Pb em efluentes de refinaria de óleo salino e amostras de vegetais por ICP OES empregando a

metodologia de superfície de resposta (MSR) utilizando um planejamento Doehlert para otimização do procedimento. Como forma de simplificar a análise e facilitar a otimização simultânea das seis respostas dos elementos, Bezerra et al. utilizaram a PCA, com o objetivo de avaliar as contribuições desses elementos nas respostas dos experimentos, fazendo reduzir o número de respostas a serem analisadas [BEZERRA, BRUNS & FERREIRA, 2006].

Neste trabalho, a PCA e HCA foram utilizadas com o objetivo semelhante ao trabalho desenvolvido por Bezerra et al. para otimizar um método analítico. Sendo assim, as técnicas foram utilizadas para avaliar as contribuições dos elementos químicos sobre os 19 experimentos propostos por um planejamento fatorial fracionário, facilitando a visualização de como as concentrações dos elementos podem influenciar nas respostas múltiplas.

3. OBJETIVOS

3.1. Geral

Este trabalho teve como objetivo geral a otimização de métodos analíticos no preparo de amostras de pó para refresco para determinação da composição mineral por espectrometria óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES).

3.2. Específicos

- ✓ Estabelecer precedimentos de preparo de amostras para análise de amostras de pó para refresco;
- ✓ Utilizar um planejamento fatorial fracionário 2^{k-1} para avaliar a eficiência do método de digestão úmida em bloco digestor fechado utilizando a mistura de ácidos diluídos;
- ✓ Utilizar PCA e HCA para avaliar as contribuições dos elementos analisados nos experimentos do planejamento fatorial fracionário;
- ✓ Otimizar as condições operacionais do ICP OES para análise química, usando o planejamento Doehlert;
- ✓ Caracterizar a exatidão e precisão dos métodos analíticos;
- ✓ Avaliar a concentração dos elementos químicos em pó para refresco empregando legislação vigente.

4. EXPERIMENTAL

4.1. Reagentes e soluções

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico. As soluções foram preparadas com água deionizada com resistividade de $18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$, utilizando um sistema Milli-Q (Millipore, Darmstadt, EUA).

Os reagentes utilizados para digestão das amostras foram o ácido nítrico concentrado (HNO_3 , 65% m m⁻¹, Merck, Germany), peróxido de hidrogênio concentrado (H_2O_2 , 30% m m⁻¹, Merck, Germany), ácido fluorídrico concentrado (HF, 48% m m⁻¹, Merck, Darmstadt, Alemanha) e ácido clorídrico (HCl, 37% m m⁻¹, Merck, Darmstadt, Alemanha).

Todas as vidrarias e materiais utilizados no presente estudo foram descontaminados em solução de ácido nítrico (HNO_3) 10% v v⁻¹, imersos por 48 horas e em seguida lavados com água deionizada [KRUG, 2006].

4.2. Instrumentação

A preparação das soluções foram feitas utilizando água deionizada produzida por um Ultra-purificador de água de marca Millipore, modelo Milli-Q Plus ZD5211584, (Millipore, Darmstadt, EUA).

Para desumidificar as amostras foi utilizado uma estufa com circulação forçada de ar de marca Marconi, modelo MA 035, Brasil. Uma balança analítica digital (Metler, modelo Toledo AB 204-05, EUA) foi usada para a pesagem das amostras.

Um bloco digestor com controle de temperatura equipado com quinze frascos de politetrafluoretileno (PTFE) com tampas de roscas (marca TECHNICAL, modelo TE007 A, São Paulo, Brasil) foi utilizado para a otimização do método proposto.

Foi utilizado um espectrofotômetro de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) com configuração axial (modelo 720, View Pro, Agilent Technologies, Penang, Malaysia) e um detector de estado sólido resfriado a $-35 \text{ }^\circ\text{C}$ por um sistema Peltier para determinar as concentrações de Al, As, Ba, Be, Bi, Ca,

Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, P, Pb, S, Sn, Sr, Ti, V, Zn. Os parâmetros de operação e características estabelecidas estão apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2. Parâmetros e condições operacionais usados para análise por ICP OES com vista axial.

Parâmetros	Características
Potência de radiofrequência (kW)	1,2
Vazão de gás no plasma (L min ⁻¹)	15,0
Vazão de gás auxiliar (L min ⁻¹)	1,5
Vazão do gás nebulizador (L min ⁻¹)	0,8
Tipo de nebulizador	Seaspray
Câmara de nebulização	Concêntrica
Replicatas	3
Diâmetro do tubo injetor (mm)	2,4
Tempo de integração do sinal (s)	1,0
Comprimentos de onda	Al I (308,215), As I (193.696), Ba II (614,171), Be I (234.861), Bi I (223.061), Ca II (317,933), Cd I (228.802), Co II (238.892), Cr II (267.716), Cu II (213.598), Fe II (239,563), K I (766,491), Mg II (279,553), Mn II (259,372), Na I (330,237), Ni II (231.604), P I (213.618), Pb II (220.353), S II (181,972), Sn I (283.998), Sr II (216,596), Ti II (334,941), V II (292.401), Zn II (213,857).

Linha atômica (I) e linha iônica (II).

Foi preparada uma solução padrão multielementar para calibração externa instrumental para os microelementos e elementos traço Al, As, Ba, Be, Bi, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Sn, Sr, Ti, V, Zn, a partir de um padrão de 100 mg L⁻¹ da Specsol[®]. Para os macroelementos Ca, K, Mg, Na, P e S foram utilizados padrões monoelementar Specsol[®] de 1000 mg L⁻¹.

O gás utilizado para a formação do plasma foi o argônio com pureza de 99,9999% (White Martins, São Paulo, Brasil). As curvas de calibração externa foram preparadas com concentrações entre 0,1 a 10,0 mg L⁻¹ para Al, As, Ba, Be, Bi, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Sn, Sr, Ti, V, Zn e entre 5,0 a 150 mg L⁻¹ para Ca, K, Mg, Na, P e S.

4.3. Amostras de pó para refresco

Seis amostras de pó para refresco de cinco marcas diferentes (A/uva, B/morango, C/maracujá, D/uva, E/tangerina e F/morango) foram adquiridas em supermercados da cidade de Aracaju-SE, Brasil, sendo comercializadas em sachês selecionados aleatoriamente nas prateleiras.

As amostras foram desumidificadas em estufa por 24 horas a uma temperatura de 40°C e maceradas com o auxílio de almofariz e pistilo para adquirir um pó fino, e promover uma maior homogeneidade da amostra.

4.4. Controle de qualidade

A precisão e exatidão dos métodos analíticos propostos foram avaliados utilizando 4 amostras de materiais de referência certificado e de laboratório de folhas vegetais: folhas de maçã (Apple leaves - NIST 1515), folhas de pessegueiro (Peach leaves - NIST 1547), ambos adquiridos pelo *National Institute of Standards & Technology* (Gaithersburg, MD, USA), e o material de referência de laboratório de folhas de tomate (CRM-Agro C1003a) fornecido pelo Laboratório de Radioisótopos – Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo e Chá (Tea - NCS DC 73351) adquirido do *China National Analysis Center for Iron and Steel*.

Com a finalidade também de avaliar a exatidão e a precisão dos métodos analíticos propostos foram realizados testes de adição e recuperação em três níveis de concentração para Al, As, Ba, Be, Bi, Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb, Sn, Sr, V, Zn com adições de 0,30; 0,50 e 1,00 mg L⁻¹. Para Fe e Ti as adições foram nas concentrações de 2,00; 5,00 e 10,0. Por fim, os macroelementos Ca, Mg, P as adições ocorreram nas concentrações de 5,0; 10,0 e 30,0 mg L⁻¹ e 10,0; 30,0, e 50,0 mg L⁻¹ para K, Na, S. Todas as amostras foram preparadas em triplicata, inclusive a solução branco analíticos dos reagentes para controle de qualidade.

4.5. Procedimento de digestão ácida das amostras de pó para refresco

4.5.1. Procedimento de digestão com a mistura HNO₃, HF, e H₂O₂

As amostras de pó para refresco foram mantidas por 24 horas a 40 °C em uma estufa com circulação de ar. Após o tempo, elas foram trituradas com o auxílio de almofariz e pistilo para redução da granulometria menor do que 150 µm.

Cerca de 0,2000 (±0,0001) g de amostra foi medida e transferida para frascos de politetrafluoretileno (PTFE). Em seguida, foram adicionados 0,70 mL de HNO₃ 65% (m m⁻¹, MERCK, Darmstadt, Alemanha), 1,35 mL de H₂O₂ (% m m⁻¹, MERCK, Darmstadt, Alemanha) e 1,00 mL de HF 48% (m m⁻¹, MERCK, Darmstadt, Germany). Os frascos de PTFE foram mantidos abertos, em repouso por 30 minutos. Após isso, foram adicionados 6,95 mL de água deionizada, sendo fechados e submetidos a aquecimento em um bloco digestor a uma temperatura de 150 °C por um tempo de 120 minutos.

Foi realizada a análise em triplicadas das amostras. As soluções do branco foram preparadas com o objetivo do controle de qualidade dos reagentes. Este procedimento foi estabelecido após um planejamento simultâneo para obter as melhores condições experimentais.

Após o processo de digestão das amostras, os frascos foram abertos depois de total esfriamento, para não ocorrer perda de material e não haver riscos de projeção do material no momento de sua abertura.

Em seguida, toda a solução foi transferida quantitativamente para tubos falcon de 50 mL, sendo adicionado também 3,0 mL de uma solução de ácido bórico (H_3BO_3 , Vectec, Rio de Janeiro, Brasil) 4% (m v^{-1}) para minimizar o efeito do HF, já que este ácido ataca a tocha de quartzo [SILVA et al., 2016]. Finalmente, as amostras foram avolumadas para 15 mL com água deionizada. Os tubos tipo falcon foram armazenados a 4 °C para posterior determinação de seus constituintes inorgânicos por ICP OES.

4.5.2. Procedimento de digestão com a mistura HNO_3 , HCl e H_2O_2

O procedimento foi realizado conforme o tópico anterior (4.5.1), no entanto, utilizando HCl no lugar do HF e conseqüentemente sem a necessidade do uso de da solução de H_3BO_3 . Este procedimento também foi otimizado previamente através de um planejamento simultâneo.

Foram adicionados 2,10 mL de HNO_3 65% (m m^{-1} , MERCK, Darmstadt, Alemanha), 0,66 mL de H_2O_2 (% m m^{-1} , MERCK, Darmstadt, Alemanha) e 1,66 mL de HCl 37% (m m^{-1} , MERCK, Darmstadt, Alemanha). Os frascos de PTFE foram mantidos abertos, em repouso por 30 minutos. Após isso, foram adicionados 5,58 mL de água deionizada, sendo fechados e submetidos a aquecimento em um bloco digestor a uma temperatura de 190 °C por um tempo de 120 minutos.

Em seguida, toda a solução foi transferida quantitativamente para tubos falcon de 50 mL. Finalmente, as amostras foram avolumadas para 15 mL com água deionizada. Os tubos tipo falcon foram armazenados a 4° C para posterior determinação de seus constituintes inorgânicos por ICP OES.

4.6. Determinação da acidez residual

Um solução de hidróxido de sódio (NaOH, Vectec, Rio de Janeiro, Brasil) ($0,1000 \pm 0,0001$) mol L⁻¹ foi padronizado com monohidrogenofalato de potássio P.A. (C₈H₅O₄K, Vetec, Rio de Janeiro, Brasil) usando fenolftaleína como indicador, sendo utilizada para realizar teste de acidez residual nas amostras depois da digestão em bloco digestor.

O teste de acidez residual foi realizado por meio da titulação das amostras após a digestão em bloco digestor, tomando uma alíquota de 0,5 mL das amostras digeridas e diluindo para 20,0 mL com água deionizada e adicionando duas gotas de fenolftaleína como indicador. Em seguida as amostras foram tituladas com a solução de NaOH ($0,1000 \pm 0,0001$) mol L⁻¹ padronizado, e todas as determinações foram feitas em triplicata.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Avaliação da acidez residual

A avaliação da acidez residual foi reavaliada nas amostras de pó para refresco após a digestão úmida em bloco digestor. Os resultados mostraram que as amostras tiveram uma concentração ácida residual média de 1,5 mol L⁻¹ para a condição otimizada utilizando a mistura HNO₃+HF e 1,24 mol L⁻¹ para a otimização com a utilização a HNO₃+HCl, sendo valores de concentrações adequadas para introdução no sistema de análise do espectrômetro de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado.

5.2. Otimização do método de digestão ácida das amostras utilizando a mistura HNO₃, HF e H₂O₂ usando bloco digestor em sistema fechado

A otimização do processo de digestão das amostras de pó para refrescos foi realizada utilizando um planejamento fatorial fracionário 2⁵⁻¹. A análise de componentes principais (PCA) e análise de agrupamento hierárquico (HCA) foram aplicadas nas concentrações obtidas do planejamento fatorial fracionário para avaliar as influências dos analitos determinados sobre os 19 experimentos realizados em relação às proporções dos reagentes, temperatura e tempo de digestão. O conceito da função da resposta múltipla foi aplicado para avaliar o planejamento. O software *Statistica 6.0*[®] foi utilizado para tratamento dos dados obtidos do planejamento experimental.

Os fatores independentes escolhidos para o estudo da otimização do processo de digestão foram concentração do ácido nítrico ([HNO₃] mol L⁻¹), concentração do peróxido de hidrogênio ([H₂O₂] % m m⁻¹), volume de ácido fluorídrico (HF / mL), temperatura de aquecimento do bloco digestor (°C) e tempo de digestão (min), para a otimização do processo de digestão utilizando HF. Os experimentos foram realizados de forma aleatória, e os fatores e níveis estabelecidos se encontram na Tabela 3.

Tabela 3. Fatores e níveis estabelecidos para o planejamento fatorial fracionário 2⁵⁻¹ para preparação das amostras de pó para refresco utilizando HF.

Variáveis	Valor mínimo	Ponto central	Valor máximo
	(-)	(0)	(+)
[HNO ₃] mol L ⁻¹	1,0	2,0	3,0
[H ₂ O ₂] % m m ⁻¹	1,0	2,5	4,0
HF / mL	0,0	0,5	1,0
Temperatura de aquecimento / °C	150	170	190
Tempo de digestão / min	60	90	120

A otimização do método na digestão das amostras de pó para refresco foi realizada utilizando uma amostra de marca (A), com sabor de uva. Um planejamento fatorial fracionário 2⁵⁻¹ com função resposta múltipla foi aplicado para avaliar a influência das variáveis no processo de digestão em amostras de refresco em pó para determinação multielementar por ICP OES.

Os valores reais e codificados para os fatores, assim como resposta múltipla (RM) e a determinação dos elementos se encontram na Tabela 4. A normalização das respostas individuais de cada elemento foi feita através da Equação 1, resultando na resposta múltipla:

$$RM = \frac{R_{x1}}{R_{Max1}} + \frac{R_{x2}}{R_{Max2}} + \frac{R_{x3}}{R_{Max3}} + \dots + \frac{R_{xn}}{R_{Maxn}} \quad (\text{Eq. 1})$$

em que, R_{x1} , é a resposta analítica da concentração do elemento em cada experimento, e R_{Max1} é a resposta analítica da concentração máxima do elemento dos experimentos propostos.

Todos os experimentos foram avaliados em função da sua resposta múltipla [FERREIRA, 2015]. Os valores obtidos em cada experimento para a maioria dos elementos mostram que dentro do domínio experimental não houve diferenças significativas dos fatores e as suas interações, no processo de digestão. No entanto, para os elementos Al, Ca, Mg e Ti, os valores de concentrações obtidas para os experimentos 5, 6, 7 e 8 foram os que obtiveram melhores respostas em função dos níveis experimentais utilizados, como apresentado na Tabela 4.

Ficou notório, que o uso do ácido fluorídrico (HF) no nível máximo nesses experimentos, possibilitou um aumento no efeito das respostas em relação aos constrates proposto pelo planejamento fatorial fracionário. O ácido fluorídrico (HF) presente na digestão, misturado com HNO_3 e o H_2O_2 , como agente auxiliar, solubiliza as formas de óxidos do Al, Ca, Mg e Ti, formando complexos solúveis. Para determinação do Ti [SILVA et al., 2016], a utilização no preparo de amostra usando apenas HNO_3 e H_2O_2 não seria suficiente para solubilizar esse elemento. O elemento Ti nas amostras de pó para refresco está presente em grandes quantidades em forma de dióxido de titânio (TiO_2) em pigmentos para corantes usados neste alimento [FUNDACENTRO, 2017]. Diante disso, se faz importante a utilização do HF no preparo da amostra para determinação da concentração total do Ti.

Tabela 4. Matriz do planejamento fatorial fracionário 2^{5-1} para o procedimento de digestão de pó para refresco usando a mistura HNO_3 , HF e H_2O_2 .

Experimentos	Valores codificados / Valores reais					Valores encontrados											RM
	[HNO_3] (mol L^{-1})	[H_2O_2] (% m m^{-1})	HF (mL)	Temperatura (° C)	Tempo (min)	Na (%)	Al ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Ba (%)	K ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Ca ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Zn ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Ti ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Sr ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Mn ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Mg ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Fe ($\mu\text{g g}^{-1}$)	
1	-1 / (1,0)	-1 / (1,0)	-1 / (0,0)	-1 / (150)	+1 / (120)	19,6	6,03	14,7	307	3366	0,413	0,00	6,02	0,536	202	302	7,23
2	+1 / (3,0)	-1 / (1,0)	-1 / (0,0)	-1 / (150)	-1 / (60)	20,9	7,77	15,7	309	3375	0,221	0,00	5,87	0,500	204	309	7,21
3	-1 / (1,0)	+1 / (4,0)	-1 / (0,0)	-1 / (150)	-1 / (60)	20,1	8,57	15,8	354	3553	0,147	0,00	6,38	0,414	207	262	7,17
4	+1 / (3,0)	+1 / (4,0)	-1 / (0,0)	-1 / (150)	+1 / (120)	19,1	8,94	15,1	307	3450	0,294	0,00	6,14	0,497	204	303	7,23
5	-1 / (1,0)	-1 / (1,0)	+1 / (1,0)	-1 / (150)	-1 / (60)	18,1	29,82	14,7	320	3667	0,791	57,8	6,57	0,521	218	304	9,46
6	+1 / (3,0)	-1 / (1,0)	+1 / (1,0)	-1 / (150)	+1 / (120)	18,9	26,52	15,1	314	3630	0,583	59,9	6,60	0,902	219	356	9,82
7	-1 / (1,0)	+1 / (4,0)	+1 / (1,0)	-1 / (150)	+1 / (120)	18,8	29,97	15,5	338	3878	0,781	62,2	6,93	0,518	223	285	9,73
8	+1 / (3,0)	+1 / (4,0)	+1 / (1,0)	-1 / (150)	-1 / (60)	21,1	28,46	15,8	323	3759	0,846	57,9	6,62	0,580	217	331	9,85
9	-1 / (1,0)	-1 / (1,0)	-1 / (0,0)	+1 / (190)	-1 / (60)	21,4	20,67	17,4	357	3911	0,458	0,00	6,77	0,596	224	313	8,57
10	+1 / (3,0)	-1 / (1,0)	-1 / (0,0)	+1 / (190)	+1 / (120)	20,8	13,52	15,8	324	3595	0,877	0,00	6,44	0,492	207	305	8,15
11	-1 / (1,0)	+1 / (4,0)	-1 / (0,0)	+1 / (190)	+1 / (120)	22,1	9,58	16,5	327	3503	0,472	0,00	6,36	0,587	205	265	7,72
12	+1 / (3,0)	+1 / (4,0)	-1 / (0,0)	+1 / (190)	-1 / (60)	18,3	11,42	16,5	277	3445	0,557	0,00	6,01	0,456	196	260	7,29
13	-1 / (1,0)	-1 / (1,0)	+1 / (1,0)	+1 / (190)	+1 / (120)	21,8	11,47	15,9	305	3580	0,559	57,7	4,50	0,376	188	221	8,00
14	+1 / (3,0)	-1 / (1,0)	+1 / (1,0)	+1 / (190)	-1 / (60)	20,3	22,09	15,1	301	3427	0,570	49,2	6,20	0,534	201	315	8,80
15	-1 / (1,0)	+1 / (4,0)	+1 / (1,0)	+1 / (190)	-1 / (60)	19,5	22,94	14,8	305	3317	0,477	47,2	5,88	0,411	198	278	8,34
16	+1 / (3,0)	+1 / (4,0)	+1 / (1,0)	+1 / (190)	+1 / (120)	19,1	24,59	14,3	287	3266	0,950	50,2	5,80	0,468	196	299	8,86
17	0 / (2,0)	0 / (2,5)	0 / (0,5)	0 / (170)	0 / (90)	18,7	28,04	14,0	283	3357	0,821	58,5	5,70	0,365	202	250	8,73
18	0 / (2,0)	0 / (2,5)	0 / (0,5)	0 / (170)	0 / (90)	18,3	20,85	14,1	297	3126	0,796	54,8	5,48	0,406	192	255	8,35
19	0 / (2,0)	0 / (2,5)	0 / (0,5)	0 / (170)	0 / (90)	18,3	19,91	13,9	282	3135	0,789	48,3	5,48	0,383	198	268	8,20

RM: Resposta múltipla.

O planejamento fatorial fracionário deve ser avaliado levando em consideração os prováveis confundimentos entre os fatores e as suas interações. A resolução V foi prevista para avaliar os confundimentos entre os contrastes. A interpretação dos resultados do planejamento fatorial fracionário 2^{5-1} pode ser feita através da Tabela 5, que mostra os confundimentos e os seus efeitos para os contrastes. O fator principal avaliado, volume de ácido fluorídrico (HF / mL) de primeira ordem e a interação de segunda ordem (HF / mL * Temperatura / °C) obtiveram os maiores valores de efeitos para contrastes, sendo significativo para o processo de digestão das amostras de pós para refresco.

A interação de quarta ordem (1*2*4*5) poderia causar um confundimento com o efeito principal (HF / mL) de primeira ordem, por obter os mesmos contrastes, no entanto, os efeitos dos contrastes de primeira ordem dos fatores principais tem uma tendência a serem maiores do que os efeitos dos contrastes de maior ordem [FERREIRA, 2015]. Neste sentido, as interações (1*2*4*5), não apresentam efeitos significativos no processo de digestão do presente estudo.

O contraste da interação (HF / mL * Temperatura / °C) de segunda ordem também apresentou o mesmo valor do contraste da interação ($[\text{HNO}_3] \text{ mol L}^{-1} * [\text{H}_2\text{O}_2] \% \text{ m m}^{-1} * \text{Tempo} / \text{min}$) de terceira ordem, tendo um confundimento para o efeito estimado, porém, como na situação anterior, as interações de maior ordem tem efeitos com baixos valores, dessa maneira, a interação (HF / mL * Temperatura / °C) de segunda ordem apresenta maior efeito. Apesar de existirem confundimentos, os efeitos foram avaliados levando em consideração uma resolução V, porém não apresentaram diferença significativa para o processo de digestão das amostras de pó para refresco.

Tabela 5. Confundimentos e contrastes do planejamento fatorial fracionário 2^{5-1} com função resposta múltipla para o procedimento de digestão de amostra usando a mistura HNO_3 , HF e H_2O_2 .

Parâmetro	Confundimento	Contrastes
(1)[HNO_3] mol L ⁻¹	2*3*4*5	0,121
(2)[H_2O_2] % m m ⁻¹	1*3*4*5	-0,133
(3)HF / mL	1*2*4*5	1,534
(4)Temperatura / °C	1*2*3*5	-0,244
(5)Tempo / min	1*2*3*4	0,004
[HNO_3] mol L ⁻¹ * [H_2O_2] % m m ⁻¹	3*4*5	-0,057
[HNO_3] mol L ⁻¹ * HF / mL	2*4*5	0,326
[HNO_3] mol L ⁻¹ * Temperatura / °C	2*3*5	-0,006
[HNO_3] mol L ⁻¹ * Tempo / min	2*3*4	0,221
[H_2O_2] % m m ⁻¹ * HF / mL	1*4*5	0,305
[H_2O_2] % m m ⁻¹ * Temperatura / °C	1*3*5	-0,195
[H_2O_2] % m m ⁻¹ * Tempo / min	1*3*4	0,217
HF / mL * Temperatura / °C	1*2*5	-0,968
HF / mL * Tempo / min	1*2*4	-0,019
Temperatura / °C * Tempo / min	1*2*3	-0,073
[HNO_3] mol L ⁻¹ * [H_2O_2] % m m ⁻¹ * HF		-0,073
[HNO_3] mol L ⁻¹ * [H_2O_2] % m m ⁻¹ * Temperatura / °C		-0,019
[HNO_3] mol L ⁻¹ * [H_2O_2] % m m ⁻¹ * Tempo / min		-0,968
[HNO_3] mol L ⁻¹ * HF / mL * Temperatura / °C		0,217
[HNO_3] mol L ⁻¹ * HF / mL * Tempo / min		-0,195
[HNO_3] mol L ⁻¹ * Temperatura / °C * Tempo / min		0,305
[H_2O_2] % m m ⁻¹ * HF / mL * Temperatura / °C		0,221
[H_2O_2] % m m ⁻¹ * HF / mL * Tempo / min		-0,006
[H_2O_2] % m m ⁻¹ * Temperatura / °C * Tempo / min		0,326
HF / mL * Temperatura / °C * Tempo / min		-0,057

*Em negrito, os valores de contraste que foram significativo para nível de confiança de 95%

A Figura 1 ilustra o gráfico de Pareto que avaliou os contrastes obtidos pelos fatores em relação a função resposta múltipla, onde as barras apresentam os valores dos efeitos padronizados de todas as variáveis e suas possíveis interações e a linha tracejada representa o valor de $p = 0,05$ estatisticamente significativo, para nível de 95% de confiança [FERREIRA, 2015].

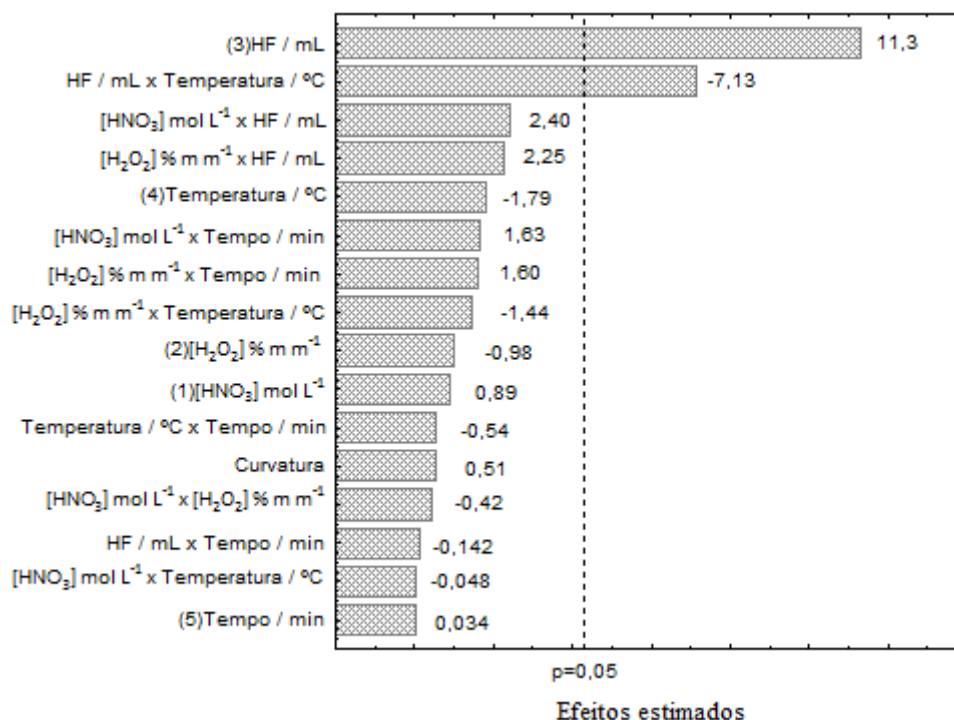


Figura 1. Gráfico de Pareto para o planejamento fatorial fracionário 2^{5-1} com função resposta múltipla do procedimento de digestão de amostra usando a mistura HNO₃, HF e H₂O₂.

No domínio experimental estudado, o gráfico de Pareto mostra que o fator (HF / mL) apresentou efeito significativo com valor positivo e a interação (HF / mL * temperatura / ° C) apresentou efeito significativo com valor negativo. É possível observar nos resultados obtidos mostrados na Tabela 4, que a utilização do nível máximo do HF e a menor temperatura favorecem a solubilização dos elementos da amostra durante o preparo, como mostrado nos experimentos 5, 6, 7 e 8 que apresentaram maiores RM, principalmente pela contribuição dos valores de concentrações para os elementos Al, Ca, Mg e Ti.

A curvatura foi avaliada, obtendo um valor de contraste não significativa para a RM, ou seja, o modelo matemático mostra uma linearidade entre a resposta, principalmente em relação ao fator do volume de HF e a interação entre volume de HF e a temperatura de digestão.

Pode observar também que a interação (HF / mL * temperatura / ° C), pode ser interpretada como uma combinação de maiores volumes de HF e menores temperaturas, dentro do domínio experimental estudado, devido ao efeito do volume HF ter se apresentado significativo, enquanto que a temperatura não apresentou efeito significativo, ao nível de 95% de confiança.

Neste sentido, como foi mínima a variação entre valores das RM entre os experimentos 5, 6, 7 e 8, foi observado a concentração residual nos digeridos, indicando que o experimento 7 obteve menor concentração no final do processo de digestão das amostras, sem perder eficiência na determinação dos elementos Al, Ba, Ca, Fe, K, Mg, Mn, Na, Sr, Ti e Zn em pó para refresco. Pode-se também observar que no experimento 7 foi utilizado menor nível de concentração de HNO₃ dentro do domínio experimental estudado no planejamento. Desta forma, o experimento 7 foi estabelecido como o método de preparo proposto.

Ficou visível também, que o uso do HF no nível máximo nesses experimentos, possibilitou um aumento no efeito das RM. O volume de HF presente na digestão misturado com outros ácidos solubilizou as formas de óxidos de Al, Ca, Mg e Ti, formando complexos solúveis [TORMEN et al., 2011]. Para determinação de Ti a utilização apenas de HNO₃ e H₂O₂ não seria suficiente para solubilizar esse elemento, como foi observado nos experimentos sem a sua adição (experimentos 1 - 4 e 9 - 12), onde a não adição do HF foi verificada uma concentração que foi assumida como zero para a determinação de Ti neste momento da otimização.

A Tabela 6 apresenta os valores encontrados para a análise da variância (ANOVA) para avaliação do modelo matemático por meio da falta de ajuste (valor-p \geq 0,05), relacionado aos dados obtidos do planejamento fatorial fracionário (2⁵⁻¹) com função resposta múltipla para o preparo de amostra na determinação multielementar por ICP OES. Os valores mostram que os efeitos dos contrastes foram significativos para o processo de digestão para o volume de HF e a interação entre volume de HF e a temperatura de digestão. O valor-p para falta de ajuste foi de 0,655, sendo maior do que

0,05; o que significa que o modelo não apresenta falta de ajuste para um nível de confiança de 95% [TEÓFILO & FERREIRA, 2006].

Tabela 6. Análise da variância (ANOVA) para o planejamento fatorial fracionário (2^{5-1}) com função resposta Múltipla da mistura HNO_3 , HF e H_2O_2 .

Fator	Soma dos Quadrados	Grau de Liberdade	Média dos Quadrados	Valor - F	Valor - p
$[\text{HNO}_3]$ mol L^{-1}	0,059	1	0,059	0,795	0,467
$[\text{H}_2\text{O}_2]$ % m m^{-1}	0,071	1	0,071	0,965	0,429
HF / mL	9,419	1	9,419	127,7	0,008
Temperatura / °C	0,239	1	0,239	3,237	0,214
Tempo / min	0,0001	1	0,0001	0,001	0,976
$[\text{HNO}_3]$ mol L^{-1} x $[\text{H}_2\text{O}_2]$ % m m^{-1}	0,013	1	0,013	0,178	0,714
$[\text{HNO}_3]$ mol L^{-1} x HF / mL	0,426	1	0,426	5,776	0,138
$[\text{HNO}_3]$ mol L^{-1} x Temperatura / °C	0,0002	1	0,0002	0,002	0,966
$[\text{HNO}_3]$ mol L^{-1} x Tempo / min	0,197	1	0,197	2,668	0,244
$[\text{H}_2\text{O}_2]$ % m m^{-1} x HF / mL	0,374	1	0,374	5,074	0,153
$[\text{H}_2\text{O}_2]$ % m m^{-1} x Temperatura / °C	0,153	1	0,153	2,074	0,286
$[\text{H}_2\text{O}_2]$ % m m^{-1} x Tempo / min	0,189	1	0,189	2,561	0,251
HF / mL x Temperatura / °C	3,751	1	3,751	50,85	0,019
HF / mL x Tempo / min	0,002	1	0,002	0,020	0,900
Temperatura / °C x Tempo / min	0,022	1	0,022	0,296	0,641
Falta de ajuste	0,020	1	0,020	0,270	0,655
Erro puro	0,148	2	0,074		
Total	15,08	18			

*Em negrito, os valores de contraste que foram significativo para nível de confiança de 95%

A qualidade do ajuste do modelo matemático pôde ser observada através do gráfico dos valores preditos versus valores observados mostrado através da Figura 2. O gráfico obtido mostra uma boa correlação entre os valores preditos em relação aos valores experimentais, evidenciando uma boa adequação do modelo matemático, que apresenta um coeficiente de correlação ($r \geq 0,99$).

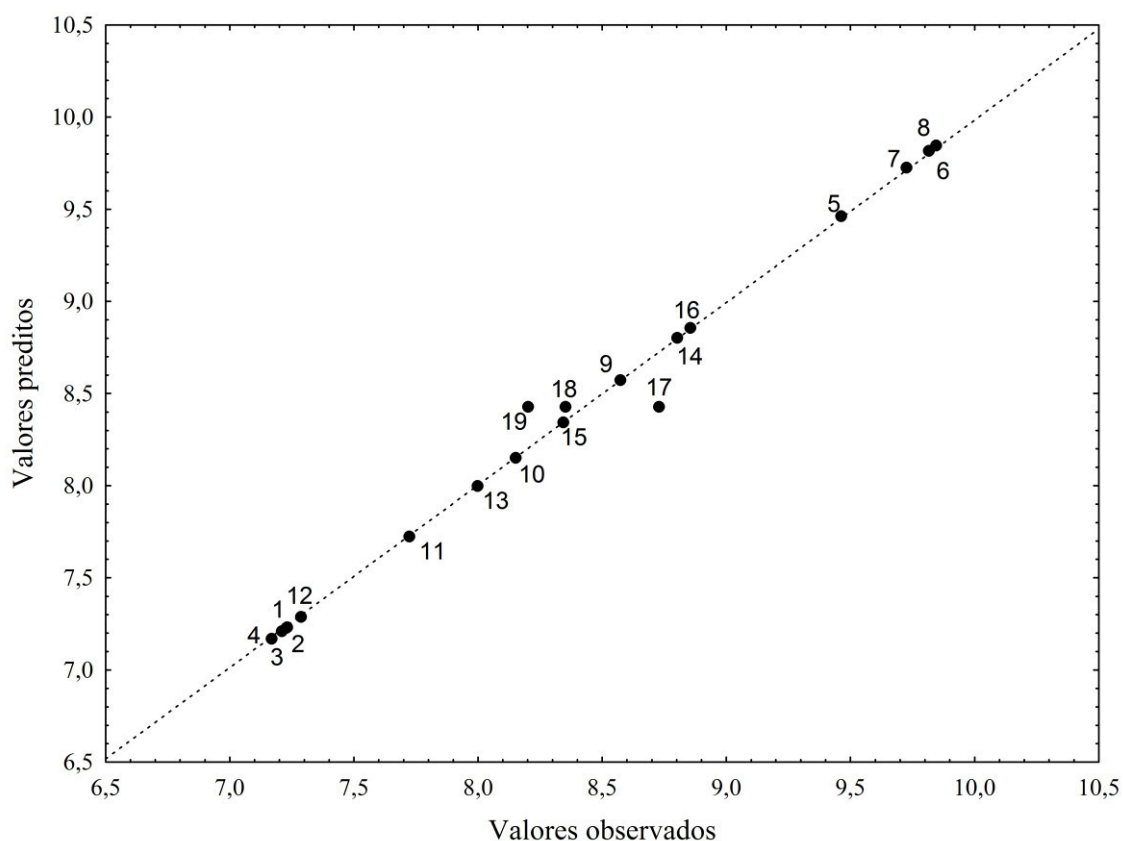


Figura 2. Gráfico dos valores preditos versus valores observados para a função resposta múltipla da mistura HNO₃, HF e H₂O₂ ($r \geq 0,99$).

5.2.1. Análise multivariada de dados para o procedimento de digestão com a mistura HNO₃, HF, e H₂O₂

A análise multivariada de dados foi utilizada para verificar as influências das variáveis sobre os 19 experimentos realizados. A matriz de dados 19 x 11 foi construída para a análise das componentes principais (PCA) e análise de agrupamento hierárquico (HCA) utilizando as concentrações obtidas do planejamento fatorial fracionário 2⁵⁻¹ para os 11 elementos (colunas) Al, Ba, Ca, Fe, K, Mg, Mn, Na, Sr, Ti, Zn e os 19 experimentos (linhas) realizados. Os dados foram normalizados por meio do autoescalamento da matriz de dados.

5.2.1.1. Análise de componente principal para o procedimento de digestão com a mistura $\text{HNO}_3+\text{HF}+\text{H}_2\text{O}_2$

As duas primeiras componentes principais (PC) foram usadas para avaliar o sistema apresentando autovalores maior do que 1,0. A Tabela 7 mostra que PC1 foi responsável por explicar 41,98 % da variância e a PC2 foi responsável por 28,78 % da variância explicada. As duas primeiras componentes PC1 e PC2 juntas foram responsáveis por 70,76 % da variância explicada, consequência constitui os valores de maior peso para os 11 elementos.

Tabela 7. Valores de pesos das variáveis para as duas primeiras componentes principais da mistura HNO_3 , HF e H_2O_2 .

Variáveis	PC1	PC2
Na	-0,421	0,569
Al	-0,072	-0,933
Ba	-0,692	0,523
K	-0,829	0,181
Ca	-0,859	-0,099
Zn	0,256	-0,745
Ti	0,304	-0,796
Sr	-0,839	-0,294
Mn	-0,701	-0,282
Mg	-0,879	-0,386
Fe	-0,638	-0,391
Autovalores	4,62	3,17
Variância total (%)	41,98	28,78
Variância acumulada (%)	41,98	70,76

As concentrações de Ba, Ca, Fe, K, Mg, Mn e Sr apresentaram valores de pesos negativos na PC1. Observando a PC2, as concentrações de Al, Ti e Zn apresentaram pesos com valores negativos e as concentrações de Ba e Na com valores de pesos positivos como mostrados na Tabela 7. A distribuição espacial das variáveis estão melhor representadas no gráfico de pesos da PC1 versus PC2 na Figura 3.

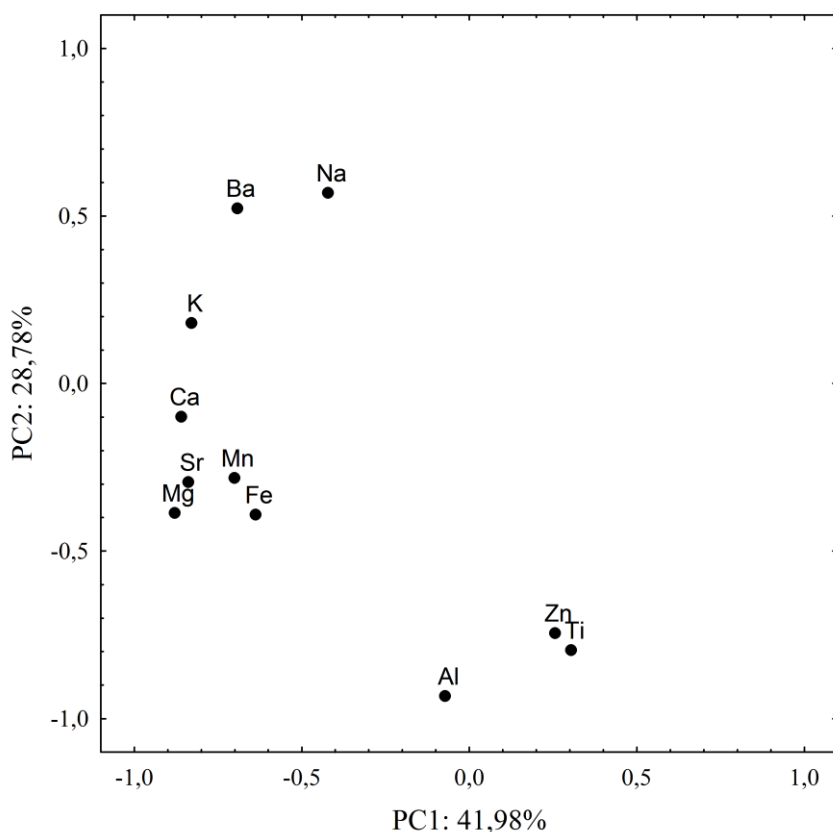


Figura 3. Gráfico de pesos para a PC1 versus PC2 para as concentrações dos elementos determinados em uma amostra de pó para refresco digerida usando a mistura HNO_3 , HF e H_2O_2 .

Na Figura 4, o gráfico de escores mostra que houve a tendência a formação de três grupos distintos de acordo com as concentrações determinadas dos 11 elementos para os 19 experimentos realizados no planejamento experimental.

O primeiro grupo foi formado pelos experimentos 1, 2, 3, 4, 10, 11, 12 e 13 e situam-se no eixo de valores positivos na PC2, mostrando que as maiores concentrações de Ba, K e Na foi a principal influência na separação deste grupo.

O segundo grupo foi formado pelos experimentos 5, 6, 7 e 8, situado nos eixos de valores negativos na PC1 e PC2, caracterizando os experimentos com maiores concentrações determinadas para os elementos Al, Ca, Fe, Mg, Mn, Zn e Ti, devido a utilização de maior volume de 1,00 mL de HF, fazendo com que aumente a concentração dos mesmos.

Os experimentos 14, 15, 16, 17, 18 e 19, juntos formaram o grupo 3 localizado no eixo de valores de escores positivos da PC1 e valores de escores negativos na PC2, sendo caracterizados por possibilitarem a determinação das maiores concentrações de

Al, Zn e principalmente o Ti, devido a utilização de 0,50 mL de HF, aumentando a solubilização destes elementos em solução ácida. A localização do experimento 13 no terceiro grupo formado pode ser associado pela influência das concentrações de Ba e Na mesmo sendo um dos experimentos que utilizam o nível máximo de HF, se distanciando dos grupos que o HF está presente. O experimento 9 se distanciou do grupo 1 mesmo sendo um experimento que não utiliza HF, provavelmente pelas contribuições dos pesos dos elementos Ba, Ca, K, Na e Sr com maiores concentrações neste experimento.

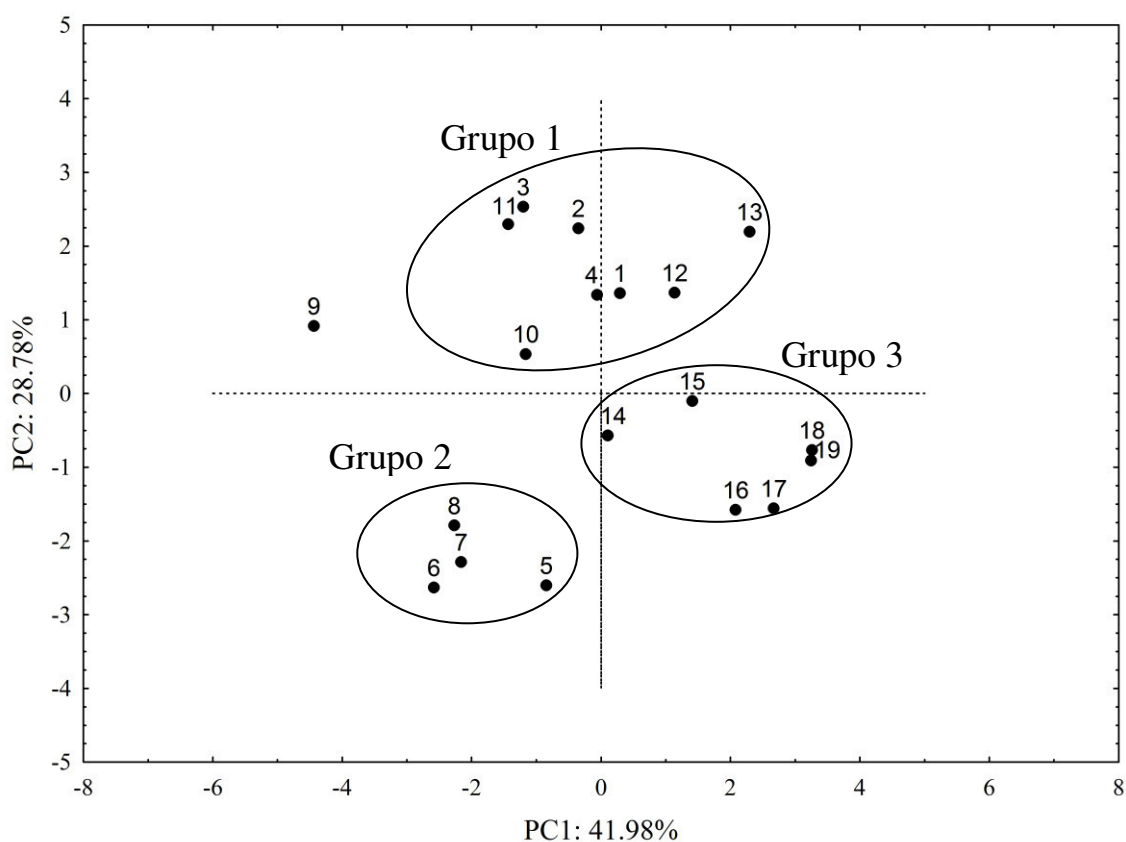


Figura 4. Gráfico de escores para a PC1 versus PC2 referente aos 19 experimentos utilizados no planejamento fatorial fracionário 2^{5-1} para a mistura HNO_3 , HF e H_2O_2 .

Sendo assim, pode-se observar que a PCA consegue distinguir os grupos de experimentos que foram diferentes em funções dos reagentes usados no planejamento em relação aos melhores resultados para cada conjunto de elemento químico presente na composição mineral do pó para refresco avaliado pelo planejamento proposto.

5.2.1.2. Análise de agrupamento hierárquico para o procedimento de digestão com a mistura $\text{HNO}_3+\text{HF}+\text{H}_2\text{O}_2$

A análise de agrupamento hierárquico foi também aplicada a matriz de dados construída com o objetivo de melhorar a visualização da tendência a formação dos grupos e confirmar o resultado obtido da PCA, formando grupos com distâncias das similaridades entre os experimentos. Os 19 experimentos foram agrupados hierarquicamente utilizando as concentrações autoescaladas. Foi utilizado o método de Ward para ligação interponto, a distância entre os experimentos foram calculados a partir das distâncias Euclidianas, e foi traçada a linha fenon que delimita a metade da distância Euclidiana total.

Na Figura 5 ilustra o dendograma que mostra a tendência a formação de três grupos distintos homogêneos de acordo com suas similaridades, confirmando os resultados obtidos pela PCA. Sendo que, o grupo 2 formado pelos experimentos 5, 6, 7 e 8 tem como fator o volume de HF no meio reacional. Para os experimentos 14, 15, 16, 17, 18 e 19 houve a adição do HF, porém teve uma temperatura mais alta que os experimentos 5-8, compondo o terceiro grupo. Por fim, o grupo 1 foi composto pelos experimentos sem adição do volume de HF, exceto o experimento 13, que foi inserido neste grupo, devido sua concentração de Na e Ba serem próximas as concentrações desse grupo de experimento.

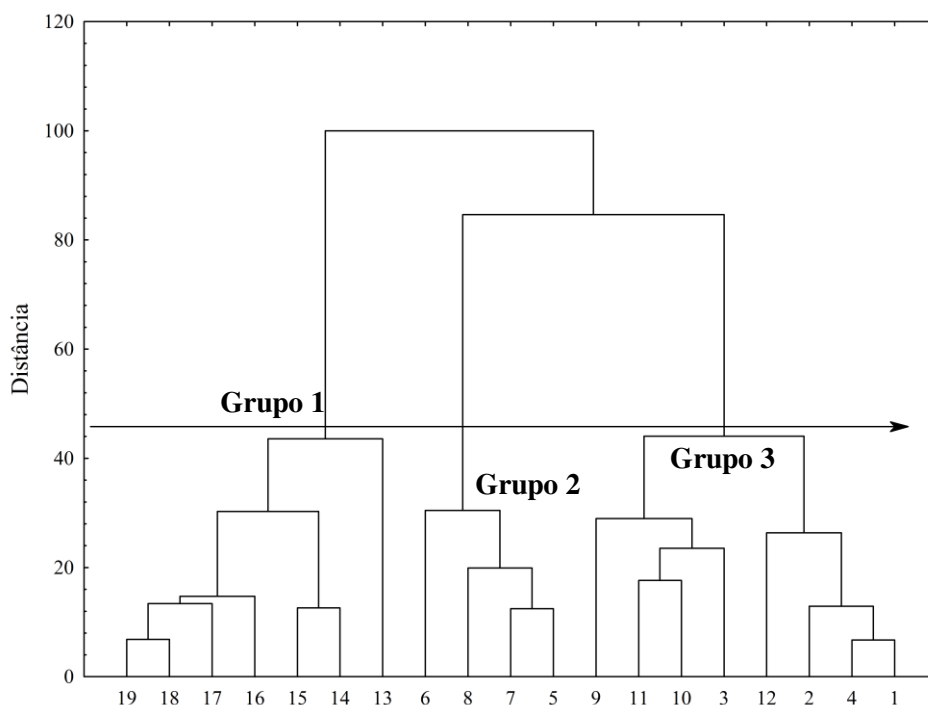


Figura 5. Dendrograma dos dados autoescalados das concentrações dos elementos nos 19 experimentos: cálculo da distância Euclidiana e método de ligação interpondo Ward's (HNO₃, HF e H₂O₂).

5.2.2. Otimização das condições operacionais do espectrômetro

A robustez do plasma é de grande importância nas análises por ICP OES, pois é interessante que as intensidades das linhas de emissão dos elementos não sofram alterações com as mudanças na composição da solução com as matrizes, seja pela concentração dos solventes, composição da amostra, aerossol, concentrações de soluções ácidas e outros interferentes [HIDALGO et al., 2016]. A eficiência da transferência da energia do plasma, melhora a atomização e ionização dos analitos presentes na amostra, o que proporciona um plasma robusto [MAKONNEN & BEAUCHEMIN, 2016; BRENNER & ZANDER, 2000]. A robustez do plasma pode ser avaliada por meio da razão das intensidades das linhas espectrais do magnésio iônico [Mg (II) 280,270 nm] e o magnésio atômico [Mg (I) 285, 213 nm], onde razões ≥ 8 indicam um plasma robusto em equipamentos de configurações axial, isso devido aos dois comprimentos de onda do magnésio apresentarem energias de excitações distintas afetando a magnitude das intensidades das linhas atômica e iônica, o que possibilita

uma melhor condição para ambas espécies no plasma [TREVIZAN et al., 2005; MERMET, 1991]. Os parâmetros operacionais podem ser otimizados simultaneamente utilizando planejamentos multivariados, a partir das variáveis instrumentais como a potência de radiofrequência e vazão de gás de nebulização para se obter melhor eficiência da determinação dos analitos baseado no plasma robusto [NOVAES et al., 2016].

Para garantir a eficiência das análises por ICP OES, foi aplicado um planejamento Doehlert, como mostrada na Tabela 8, utilizando uma amostra de refresco em pó usando o procedimento de preparo proposto, para obter uma condição operacional de maior robustez do plasma [NOVAES et al., 2016; GUIMARÃES-SILVA et al., 2012]. A otimização foi proposta utilizando como variáveis a vazão de gás de nebulização (VGN, L min⁻¹) e a potência de rádio frequência (PRF, W).

Os experimentos foram realizados de forma aleatória com quadruplicata do ponto central para estimar o erro experimental. A razão da intensidade das linhas espectrais do magnésio [Mg (II) 280, 270 nm e Mg (I) 285, 213 nm], foi usada como resposta na otimização das condições operacionais para determinação dos elementos em refrescos em pó [MERMET, 1991; SILVA et al., 2002]. Para uma condição de robustez do plasma, a razão Mg II/Mg I deve ser igual ou maior do que 8,0 [TREVIZAN et al., 2005].

Na Tabela 8 estão apresentados os valores codificados, valores reais e a razão Mg II/Mg I obtida usando uma solução da amostra digerida de pó para refresco.

Tabela 8. Matriz de Doehlert para otimização das condições operacionais do ICP OES.

Experimentos	Valores Codificados / Valores Reais		Razão Mg II/Mg I
	VGN (L min ⁻¹)	PRF (W)	
1	(+1,0) / 1,0	(0,0) / 1200	7,4
2	(+0,5) / 0,9	(+0,866) / 1400	8,6
3	(-1,0) / 0,6	(0,0) / 1200	6,3
4	(-0,5) / 0,7	(-0,866) / 1000	6,6
5	(+0,5) / 0,9	(-0,866) / 1000	6,8
6	(-0,5) / 0,7	(+0,866) / 1400	8,0
7	(0,0) / 0,8	(0,0) / 1200	8,0
8	(0,0) / 0,8	(0,0) / 1200	8,0
9	(0,0) / 0,8	(0,0) / 1200	7,7
10	(0,0) / 0,8	(0,0) / 1200	8,0

VGN: Vazão do gás nebulizador // PRF: Potencia de radiofrequência.

A Tabela 8 mostra que o experimento 2 obteve a maior razão Mg II/Mg I, no entanto, é uma condição de 1400 W de potência de rádio frequência, sendo o limite de potência RF do instrumento. Porém, os experimentos 7, 8 e 10 que representam os experimentos do ponto central, também apresentaram condições instrumentais adequadas para robustez do plasma, sendo a condição de operação escolhida para análise por ICP OES.

A partir da matriz de Doehlert foi gerado um gráfico de superfície de resposta, apresentado na Figura 6. Usando o critério de inspeção do gráfico de contorno gerado pelo planejamento proposto, pode-se observar que para um ajuste de 0,9 L min⁻¹ de vazão de gás de nebulização e uma potência de rádio frequência de 1400 W (experimento 2) foi obtida a melhor resposta em uma região de máximo.

Como pode ser observado também no gráfico, que os maiores valores de potência de rádio frequência combinados com valores maiores de vazão de gás de nebulização até 1,0 L min⁻¹, possibilita um aumento na robustez do plasma. No entanto, para um ajuste de 0,8 L min⁻¹ de vazão de gás de nebulização e 1200 W de potência de

rádio frequência também apresentam uma resposta em uma região de ótimo, visto que esta condição experimental evita que o sistema trabalhe em condições extremas.

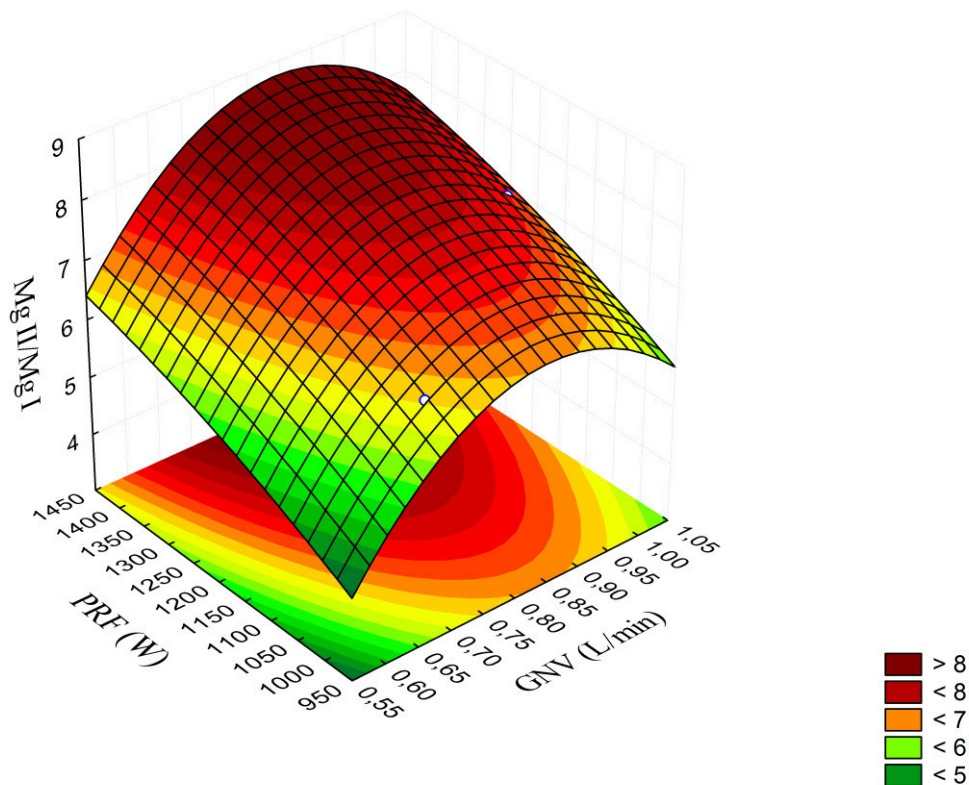


Figura 6. Superfície de resposta gerada à partir da matriz de Doehlert.

A Figura 7 mostra o gráfico de contorno gerado para visualização das condições experimentais de maior robustez do plasma. Como pode ser visto também no gráfico, valores maiores de potência de rádio frequência com valores maiores de vazão de gás de nebulização até $1,0 \text{ L min}^{-1}$, possibilita um aumento na robustez do plasma.

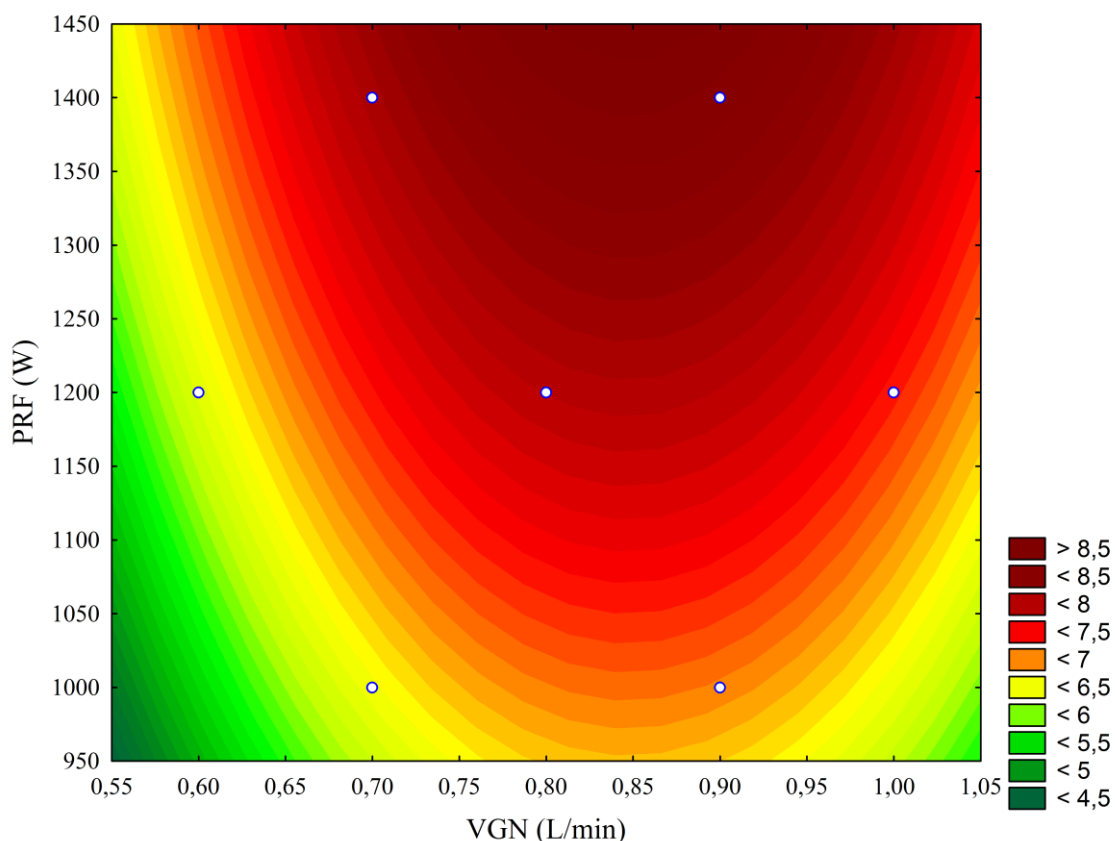


Figura 7. Gráfico de contorno para potência RF e VGN em função da razão Mg II/Mg I obtidas no planejamento Doehlert.

No entanto, como abordado anteriormente, em vazões de gás de nebulização $0,8 \text{ L min}^{-1}$ com Potência RF de 1200 W também se encontra na região de ótimo, e sendo assim, um ajuste aceitável. Tendo em vista que em valores máximos do fator potência de rádio frequência, assim como o seu valor crítico de 1844 W se encontra como descrito pelo modelo usando a razão Mg II/Mg I apresentado na Tabela 9, não podendo ser revisto em um novo planejamento, uma vez que o equipamento ajusta uma potência de radio frequência máxima de 1400 W , sendo inviável um novo estudo.

Tabela 9. Valores de mínimo, máximo e críticos das condições operacionais do ICP OES.

	Mínimos observados	Valores críticos	Máximos observados
VGN (L/min)	0,60	0,85	1,0
Potência RF (W)	1000	1844	1400

Diante disso, as condições operacionais do equipamento otimizadas para determinação de constituintes inorgânicos em refresco em pó, levou em conta a minimização do custo das análises e uma resposta adequada para introdução da solução da amostra de pó para refresco digerida. Desta forma, o presente trabalho estabeleceu a utilização da vazão do gás de nebulização de $0,8 \text{ L min}^{-1}$ e potência de rádio frequência de 1200 W como condições de trabalho, mantendo desta forma, uma robustez de plasma de aproximadamente um valor de razão $\text{MgII/MgI} \geq 8$, através da inspeção da supercífie de resposta [BEZERRA et al, 2008].

Na Tabela 10 mostra a análise de variância (ANOVA) utilizada para avaliar a qualidade do ajuste do modelo matemático. A falta de ajuste foi verificada por meio do p-valor, onde a falta de ajuste obteve o p-valor de 0,424, sendo maior do que $p = 0,05$, o que significa que o modelo não apresenta falta de ajuste significativa usando a razão Mg II/Mg I como resposta, para um nível de confiança de 95%.

Tabela 10. Análise da variância (ANOVA) na otimização das condições operacionais do ICP OES.

Fatores	Soma Quadrática	Grau de Liberdade	Média Quadrática	Valor - F	Valor - p
(1)VGN (L)	0,76	1	0,76	46,9	0,006
VGN (Q)	1,53	1	1,53	93,6	0,002
(2)PRF (L)	2,53	1	2,53	155	0,001
PRF (Q)	0,04	1	0,04	2,22	0,233
Falta de ajuste	0,04	2	0,02	1,16	0,424
Erro puro	0,05	3	0,02		
Total	4,91	9			

VGN = vazão do gás de nebulização; PRF = potência de radio frequência; L = linear e Q = quadrado

A análise da regressão linear foi aplicada para avaliar o ajuste entre os valores preditos e os valores observados para as razões das intensidades de emissões Mg II/Mg I como apresentado na Figura 8. O resultado confirma um bom ajuste do modelo entre os valores preditos e os valores experimentais encontrados com o valor de coeficiente de correlação (r) melhor do que 0,99. Desta forma, o modelo apresentado foi adequado ao ajuste matemático, que estabelece como condições de compromisso a vazão de gás de nebulização de $0,8 \text{ L min}^{-1}$ e potência de rádio frequência de 1200 W na determinação de constituintes inorgânicos em pó para refresco por ICP OES.

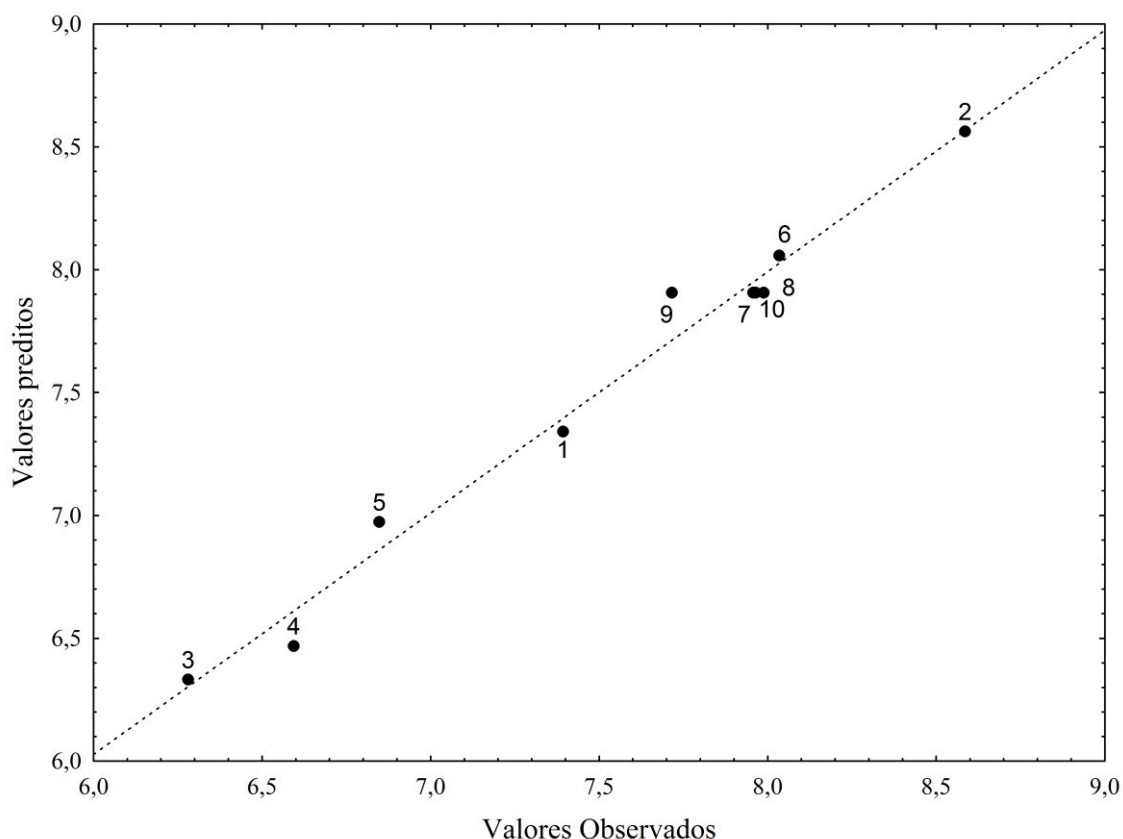


Figura 8. Análise de regressão linear para as razões Mg II/Mg I encontradas a partir da matriz de Doehlert.

5.2.3. Parâmetros de mérito

Para calcular os limites de detecção (LoD) e de quantificação (LoQ), inicialmente foi obtida a concentração equivalente de fundo (BEC) e a razão do sinal ruído (SBR) sendo calculados como definido pela União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC) [IUPAC, 1978], utilizando a seguinte Equação 2 e 3:

$$SBR = \frac{I_{pad} - I_{Branco}}{I_{Branco}} \quad (\text{Eq. 2})$$

$$BEC = \frac{C_{pad}}{SBR} \quad (\text{Eq. 3})$$

em que, o BEC é a concentração equivalente de fundo; C_{Pad} é a concentração do padrão; SBR é a razão sinal-ruído; I_{Prad} e I_{Branco} são as intensidades das soluções padrão e do branco, respectivamente.

O limite de detecção (LoD) é definido como a menor concentração medida pelo método analítico obtido através da razão sinal ruído igual a 1:3. Neste trabalho, o LoD foi calculado usando os valores de BEC, obtido através da Equação 4:

$$\text{LoD} = \frac{3 \times \text{BEC} \times \text{RSD}}{100} \quad (\text{Eq. 4})$$

tendo o valor do desvio padrão relativo (RSD) obtido a partir de dez medidas da intensidade de soluções do branco analítico.

O limite de quantificação (LoQ) é definido como a menor concentração medida pelo método analítico com precisão e exatidão, obtido através da razão sinal ruído igual a 1:10, sendo calculado através da Equação 5:

$$\text{LoQ} = \frac{10 \times \text{BEC} \times \text{RSD}}{100} \quad (\text{Eq. 5})$$

Neste trabalho, os valores de LoD variaram entre 0,01 (Ba) e 11 $\mu\text{g g}^{-1}$ (K). Para o LoQ, os valores obtidos para os microelementos variaram entre 0,02 (Ba) e 3,7 $\mu\text{g g}^{-1}$ (Al) e para os macroelementos entre 0,4 (Mg) e 36 $\mu\text{g g}^{-1}$ (K) como apresentados na Tabela 11.

Foram realizados testes de adição e recuperação para avaliar a exatidão e precisão do método proposto como mostrado na Tabela 11. As análises por via úmida utilizando HNO_3 , HF e H_2O_2 foram feitas com concentrações de padrões adicionados de 0,30; 0,50 e 1,00 mg L^{-1} para os microelementos, sendo Fe e Ti com adição de 2,00; 5,00 e 10,0 e para os macroelementos com adição de 5,00; 10,0 e 30,0 mg L^{-1} para Ca, Mg, P e adição de 10,0; 30,0, e 50,0 mg L^{-1} para K, Na e S, utilizando duas amostras de sabores e marcas diferentes de pós para refresco comercial. Foi utilizada a Equação 6 para o cálculo das recuperações [INMETRO, 2016; ANVISA, 2003]:

$$\text{Recuperação (\%)} = \left(\frac{C_1 - C_2}{C_2} \right) \times 100 \quad (\text{Eq. 6}),$$

em que, C_1 é a concentração do analito na amostra fortificada, C_2 é a concentração do analito na amostra não fortificada e C_3 é a concentração do analito adicionado na amostra fortificada. Os resultados apresentados na Tabela 11 mostram que os elementos apresentaram valores de recuperação entre $81,5 \pm 2,7$ (Ca) e $119 \pm 2,8$ % (Ti) na amostra A e para a amostra F variou entre $80,0 \pm 0,9$ (Al) e $118,8 \pm 1,2$ % (Ti), mostrando uma boa exatidão do método proposto.

Tabela 11. Parâmetros de mérito das análises por via úmida utilizando três níveis de concentrações adicionadas dos microelementos e macroelementos do procedimento com HNO_3 , HF e H_2O_2 .

Elementos	Adições / mg L^{-1}	Amostras / Recuperações				BEC (mg L^{-1})	LoD ($\mu\text{g g}^{-1}$)	LoQ ($\mu\text{g g}^{-1}$)
		A / Uva	RSD (%)	F / Morango	RSD (%)			
Al	0,3	-	-	$80,0 \pm 0,9$	1,2			
	0,5	-	-	$111,8 \pm 2,4$	2,2	0,04	3,7	12,0
	1,0	-	-	$99,3 \pm 6,4$	6,5			
As	0,3	$109,0 \pm 2,8$	2,6	$118,0 \pm 4,4$	3,7			
	0,5	$113,5 \pm 1,2$	1,1	$117 \pm 6,2$	5,3	0,02	0,9	3,0
	1,0	$110,4 \pm 0,7$	0,6	$105,5 \pm 1,0$	0,9			
Ba	0,3	$98,6 \pm 0,2$	0,2	$99,0 \pm 3,3$	3,3			
	0,5	$100,1 \pm 2,4$	2,4	$102,4 \pm 2,7$	2,6	0,001	0,01	0,02
	1,0	$95,3 \pm 0,9$	0,9	$92,5 \pm 2,2$	2,4			
Be	0,3	$104,0 \pm 0,7$	0,7	$107,7 \pm 0,8$	0,7			
	0,5	$103,8 \pm 1,6$	1,5	$107,3 \pm 0,5$	0,5	0,0002	0,01	0,02
	1,0	$101,4 \pm 1,1$	1,1	$99,8 \pm 2,1$	2,1			
Bi	0,3	$99,6 \pm 3,7$	3,7	$91,9 \pm 3,6$	3,9			
	0,5	$99,5 \pm 2,2$	2,2	$99,3 \pm 1,4$	1,4	0,02	0,5	1,7
	1,0	$98,8 \pm 0,3$	0,3	$93,9 \pm 2,3$	2,4			
Ca	5,0	$94,2 \pm 0,7$	0,8	108 ± 11	10			
	10,0	$87,6 \pm 4,5$	5,1	$108,5 \pm 3,5$	3,3	0,1	1,6	5,2
	30,0	$81,5 \pm 2,7$	3,3	$81,7 \pm 8,5$	10			
Cd	0,3	$112,5 \pm 0,5$	0,5	$116,5 \pm 1,0$	0,9			
	0,5	$111,6 \pm 1,2$	1,0	$116,3 \pm 0,9$	0,8	0,003	0,1	0,2
	1,0	$110,6 \pm 0,5$	0,4	$106,3 \pm 1,6$	1,5			
Co	0,3	$91,8 \pm 0,4$	0,4	$93,3 \pm 0,5$	0,5			
	0,5	$93,8 \pm 1,6$	1,7	$95,0 \pm 0,7$	0,7	0,003	0,05	0,2
	1,0	$91,9 \pm 0,5$	0,5	$88,7 \pm 1,9$	2,1			
Cr	0,3	$103,9 \pm 0,5$	0,5	$108,3 \pm 1,9$	1,8			
	0,5	$103,2 \pm 0,7$	0,6	$106,3 \pm 1,0$	0,9	0,003	0,1	0,2
	1,0	$100,8 \pm 0,6$	0,6	$97,6 \pm 2,0$	2,0			
Cu	0,3	$105,2 \pm 0,9$	0,9	$104,9 \pm 2,1$	2,0			
	0,5	$103,8 \pm 1,2$	1,1	$106,2 \pm 1,0$	0,9	0,005	0,2	0,6
	1,0	$100,8 \pm 0,9$	0,9	$97,2 \pm 1,5$	1,5			
Fe	2,0	$95,3 \pm 7,7$	8,0	$101 \pm 6,3$	6,2			
	5,0	$104 \pm 2,6$	2,5	$105,8 \pm 4,1$	3,8	0,009	0,46	1,5
	10,0	$103,5 \pm 3,3$	3,2	$108,7 \pm 5,0$	4,6			
K	10,0	$96,4 \pm 4,0$	4,1	$105 \pm 4,3$	4,1			
	30,0	$85,0 \pm 1,3$	1,6	$97,4 \pm 4,6$	4,7	0,4	11	36
	50,0	$84,6 \pm 1,3$	1,5	$99,3 \pm 1,5$	1,5			

Aplicação de planejamentos simultâneos para otimização de métodos analíticos para determinação de constituintes inorgânicos em pó para refresco por ICP OES

Continuação: Tabela 11. Tabela dos parâmetros de mérito das análises por via úmida utilizando três níveis de concentrações adicionadas dos microelementos e macroelementos do procedimento com HNO₃, HF e H₂O₂.

Mg	5,0	102,4 ± 2,1	2,1	104,1 ± 2,0	2,0			
	10,0	103,5 ± 1,5	1,5	105,3 ± 1,1	1,0	0,01	0,4	1,2
	30,0	101,5 ± 1,1	1,1	100,1 ± 3,4	3,4			
Mn	0,3	99,0 ± 0,4	0,4	102,8 ± 1,9	1,8			
	0,5	97,0 ± 1,2	1,2	100,6 ± 1,4	1,3	0,001	0,03	0,1
	1,0	94,7 ± 0,4	0,5	92,4 ± 2,0	2,1			
Na	10,0	-	-	101 ± 8,6	8,5			
	30,0	104,9 ± 9,4	9,0	-	-	0,04	1,1	3,8
	50,0	108,6 ± 3,9	3,6	85,1 ± 4,7	5,5			
Ni	0,3	101,6 ± 0,02	0,02	105,4 ± 0,6	0,6			
	0,5	100,5 ± 1,7	1,7	104,6 ± 0,6	0,6	0,01	0,1	0,3
	1,0	99,5 ± 0,2	0,2	96,5 ± 2,1	2,2			
P	5,0	113,8 ± 2,1	1,9	92,5 ± 6,3	6,8			
	10,0	113,0 ± 3,0	2,7	97,8 ± 7,5	7,7	0,02	0,8	2,7
	30,0	110,4 ± 0,4	0,3	103,7 ± 3,0	2,9			
Pb	0,3	101,4 ± 1,8	1,7	99,9 ± 1,3	1,3			
	0,5	102,2 ± 0,2	0,2	104,6 ± 0,3	0,3	0,01	0,7	2,2
	1,0	96,7 ± 0,8	0,9	93,9 ± 0,8	0,8			
S	10,0	109 ± 5,3	4,8	115 ± 3,6	3,1			
	30,0	101 ± 6,6	6,6	104,6 ± 5,6	5,3	0,1	2,8	9,4
	50,0	98 ± 3,3	3,3	108,1 ± 6,0	5,5			
Sn	0,3	95,9 ± 1,9	2,0	100,6 ± 1,4	1,4			
	0,5	100,6 ± 2,4	2,4	100,9 ± 1,0	1,0	0,02	0,7	2,4
	1,0	100,2 ± 1,8	1,8	94,5 ± 2,3	2,4			
Sr	0,3	111,2 ± 0,4	0,4	109,0 ± 1,7	1,6			
	0,5	109,6 ± 0,8	0,7	109,0 ± 2,4	2,2	0,003	0,1	0,4
	1,0	104,6 ± 1,3	1,2	100,3 ± 1,9	1,9			
Ti	2,0	115 ± 3,3	2,8	106 ± 11	9,9			
	5,0	119 ± 2,8	2,4	108 ± 6,9	6,4	0,001	0,1	0,3
	10,0	116,5 ± 1,7	1,4	118,8 ± 1,2	1,0			
V	0,3	101,0 ± 1,0	1,0	104,4 ± 0,8	0,7			
	0,5	100,3 ± 1,2	1,2	103,7 ± 1,2	1,1	0,001	0,03	0,1
	1,0	99,0 ± 0,2	0,2	96,2 ± 2,2	2,2			
Zn	0,3	112,6 ± 1,2	1,1	112,9 ± 1,4	1,2			
	0,5	107,8 ± 1,5	1,4	111,5 ± 1,4	1,2	0,005	0,2	0,8
	1,0	106,9 ± 0,9	0,8	102,3 ± 2,5	2,5			

Cabe ressaltar que para a determinação de Ti em pó para refresco, obteve boa precisão e exatidão, sendo que a quantificação deste elemento nesse tipo de amostra é importante devido a sua presença em grandes quantidades, sendo necessário a sua avaliação, devido o fácil consumo do pó para refresco. Assim, a adição do HF presente na digestão ácida, misturado ao HNO₃ e H₂O₂ solubilizaram as formas de óxidos do Ti, formando complexos solúveis possibilitando a determinação quantitativa deste elemento na amostra de pó para refresco [TORMEN et al., 2011].

A precisão do método pode ser avaliada através da repetibilidade em triplicata da medida das amostras sobre as mesmas condições de medição como, a utilização do

mesmo sistema de medição, o mesmo analista, as mesmas condições de operação, o mesmo método e mesmo local, sendo expressa pelo desvio padrão relativo (RSD) e tem como definição a avaliação da proximidade das medidas repetidas de uma mesma amostra [ANVISA, 2003]. A precisão do método proposto foi avaliada através do desvio padrão relativo (RSD) sendo calculado utilizando a Equação 7 [INMETRO, 2016; ANVISA, 2003]:

$$\% \text{ RSD} = \frac{s}{m} \times 100 \quad (\text{Eq. 7})$$

em que, s é o desvio padrão e m é a média das concentrações obtidas. A precisão foi expressa como desvio padrão relativo (RSD, $n=3$), variando entre 0,02 (Ni) e 9,0 % (Na) na amostra A e para a amostra F variou entre 0,3 (Pb) e 10 % (Ca), apresentando boa precisão para os resultados.

A exatidão do método proposto também foi avaliada por meio da determinação de materiais de referência certificados de folhas de maçã (Apple leaves - NIST 1515), folhas de pêssgo (Peach leaves - NIST 1547), folhas de tomate (material de referência de laboratório de folhas de tomate - CRM-Agro C1003a) e Chá (Tea - NCS DC 73351). A Equação 8 foi utilizada para calcular as concordâncias entre as concentrações encontrados e os valores certificados do material de referência certificado e de laboratório usando o método analítico proposto [INMETRO, 2016].

$$\text{Concordância} = \frac{\text{Valor encontrado}}{\text{Valor certificado}} \times 100 \quad (\text{Eq. 8})$$

A Tabela 12 mostra que os resultados tiveram boas concordâncias variando entre $80,5 \pm 0,2$ a 117 ± 24 %, mostrando que o método proposto foi eficiente para determinação multielementar em CRMs de folhas vegetais, uma vez que esse tipo de matriz complexa, com quantidades maiores de matéria orgânica e constituintes inorgânicos do que em pós para refrescos. Diante destes resultados foi possível observar uma boa eficiência no processo de digestão ácida utilizando a mistura HF+HNO₃+H₂O₂ diluídos empregando um bloco digestor com sistema fechado. Logo, neste trabalho foi verificado boa precisão e exatidão para determinação de 24 elementos em amostras de pó para refresco por ICP OES. Sendo assim, mostra que o método analítico proposto

apresentou uma excelente varredura de constituintes inorgânicos na análise de pó para refresco.

Tabela 12. Resultados obtidos para análises de CRM de materiais de folhas de vegetais utilizando o método analítico proposto da mistura HNO₃, HF e H₂O₂ e determinação por ICP OES.

CRM	Elemento	Valor certificado (µg g ⁻¹)	Valor encontrado (µg g ⁻¹)	Condordância (%)	Elemento	Valor certificado (µg g ⁻¹)	Valor encontrado (µg g ⁻¹)	Condordância (%)
NIST 1515	Al	284,5 ± 5,8	239 ± 25	84,0 ± 8,8	Mn	54,1 ± 1,1	44,4 ± 1,3	82,1 ± 2,4
	Ba	48,8 ± 2,3	46,9 ± 2,9	96,1 ± 5,9	Ni	0,936 ± 0,094	0,95 ± 0,02	101,5 ± 2,1
	Ca	15250 ± 100	14682 ± 300	96,3 ± 2,0	P	1593 ± 68	1423 ± 38,4	89,3 ± 2,4
	Fe	82,7 ± 2,6	95 ± 1,5	115 ± 1,8	S	(1800)	1883 ± 145	104,6 ± 8,0
	K	16080 ± 210	16676 ± 451	103,7 ± 2,8	Zn	12,45 ± 0,43	12,2 ± 0,7	98,0 ± 5,6
	Mg	2710 ± 120	2437 ± 53	89,9 ± 2,0				
NIST 1547	Al	248,9 ± 6,5	292 ± 60	117 ± 24	K	24330 ± 380	20120 ± 67	82,7 ± 0,3
	Ba	123,7 ± 5,5	107 ± 11	86,5 ± 8,9	Mg	4320 ± 150	4016 ± 287	93,0 ± 6,6
	Ca	15590 ± 160	13354 ± 38	85,6 ± 0,2	Mn	97,8 ± 1,8	84,8 ± 5,5	86,7 ± 5,6
	Cd	0,0261 ± 0,0022	< 0,2	-	Ni	0,689 ± 0,095	0,64 ± 0,03	92,8 ± 4,3
	Cr	(1,00)	1,1 ± 0,01	110 ± 1,0	P	1371 ± 82	1304 ± 37	95,1 ± 2,7
	Cu	3,75 ± 0,37	3,18 ± 0,05	84,8 ± 1,3	S	(2000)	1830 ± 153	91,5 ± 7,6
	Fe	219,8 ± 6,8	204 ± 7,3	92,8 ± 3,3	Zn	17,97 ± 0,53	16,5 ± 0,7	91,8 ± 3,9
CRM-Agro C100-3a	As	19,0 ± 2,8	15,3 ± 0,04	80,5 ± 0,2	Mn	470 ± 69	408 ± 8,4	86,8 ± 1,8
	Cd	26,6 ± 2,1	28,2 ± 0,86	106,0 ± 3,2	Na	2710 ± 840	3071 ± 226	113 ± 8,3
	Cr	6,7 ± 1,5	6,25 ± 0,1	93,3 ± 1,5	Ni	3,16 ± 0,87	3,16 ± 0,18	100 ± 5,7
	Cu	1130 ± 140	1003 ± 32	88,8 ± 2,8	P	4370 ± 740	4779 ± 134	109,4 ± 3,0
	Fe	1120 ± 190	1041 ± 16	92,9 ± 1,4	Zn	37,5 ± 5,0	36,2 ± 1,5	96,5 ± 4,0
	Mg	4110 ± 360	3769 ± 120	91,7 ± 2,9				
NCS DC 73351	Al	(0,3)*	(0,22 ± 0,001)	-	K	(1,66 ± 0,12)	(1,62 ± 0,02)	97,6 ± 1,2
	Ba	58 ± 6	54,6 ± 1,3	94,1 ± 2,2	Mg	(0,17 ± 0,02)	(0,16 ± 0,002)	94,1 ± 1,2
	Ca	0,43 ± 0,04*	0,400 ± 0,005*	93,0 ± 1,2	Mn	1240 ± 70	1096 ± 26	88,4 ± 2,1
	Cd	0,057 ± 0,010	< 0,2	-	Ni	4,6 ± 0,5	4,10 ± 0,1	89,1 ± 2,2
	Cr	0,80 ± 0,03	0,78 ± 0,02	97,5 ± 2,5	P	2840 ± 90	2760 ± 77	97,2 ± 2,7
	Cu	17,3 ± 1,8	14,0 ± 0,1	81,0 ± 0,6	S	(0,245 ± 0,022)	(0,254 ± 0,002)	103,7 ± 0,8
	Fe	264 ± 15	238 ± 5,4	90,2 ± 2,0	Zn	26,3 ± 2,0	26,6 ± 0,6	101,1 ± 2,3

() Resultados expressos em % // *Valores informados. // Resultados expressos como média ± desvio padrão (n=3).

5.2.4. Aplicação do procedimento de digestão utilizando HNO₃, HF e H₂O₂ diluídos para análise de pó para refresco

O método analítico proposto foi aplicado em seis amostras de pós para refresco para determinação de constituintes inorgânicos por ICP OES. Os resultados das concentrações encontradas nas amostras estão apresentados na Tabela 13.

Os elementos Al, As, Ba, Be, Bi, Cd, Co, Cr, Ni, Pb, Sn e Zn apresentaram concentrações abaixo dos seus limites de quantificação (LQ) nas amostras de refresco em pó. As concentrações dos demais elementos variaram entre $0,240 \pm 0,004 \mu\text{g g}^{-1}$ (V) e $1,42 \pm 0,02 \%$ (K). Os macrossubstâncias Ca, K, Na, P e S apresentaram maiores concentrações, nas amostras. Para os elementos As, Pb, Cd e Sn foi obtido concentrações abaixo dos limites máximos de contaminantes inorgânicos em alimentos $0,10$, $0,05$, $0,05$ e 150 mg kg^{-1} , respectivamente (Resolução - RDC N° 42, de 29 de Agosto de 2013, ANVISA).

As concentrações de Fe variaram entre $< 1,5$ e $440 \pm 21,2 \mu\text{g g}^{-1}$, sendo que os fabricantes fortificam os pós para refrescos com esse elemento, como informado nas embalagens das amostras, para repor a quantidade de ferro no organismo humano. A quantidade de Fe por porção de $6,0 \text{ g}$ como informada nas embalagens das marcas (A/Uva) e (B/Morango), estava de acordo com as quantidades encontradas neste estudo ($2,1 \text{ mg}$ de Fe). Nas amostras (E/Tangerina) e (F/Morango), as quantidades de Fe encontradas de $2,5$ e $2,6 \text{ mg}$ por porção de $6,0 \text{ g}$ respectivamente, apresentando valores próximos de $2,1 \text{ mg}$ de Fe informado pelo fabricante nas embalagens das amostras utilizadas, estando também em conformidade com a embalagem. No entanto, as marcas (C) e (D) apresentaram concentrações de Fe abaixo do LQ, estando de acordo com o fabricante por não enriquecer as amostras com Fe.

As concentrações de Ti também foram elevadas, variando entre $< 0,3 \mu\text{g g}^{-1}$ e $0,400 \pm 0,008\%$, devido a presença do TiO₂ como pigmento base em corantes presente em pó para refresco. Como pode observar, a utilização do HF na digestão das amostras possibilitou a solubilização deste óxido, uma vez que na Tabela 4 da matriz de dados, os níveis inferiores dos experimentos que não utilizavam o HF, as concentrações de Ti não foram determinadas, mostrando que a utilização somente de HNO₃ e H₂O₂ não é

suficiente para solubilizar as formas de TiO_2 , mostrando que o método proposto foi eficaz na determinação multielementar para amostras de pós para refresco por ICP OES.

Tabela 13. Resultados das concentrações dos constituintes inorgânicos em pó para refresco por ICP OES utilizando um procedimento de digestão ácida obtida pela mistura HNO₃+HF+H₂O₂ em bloco digestor com sistema fechado.

Amostras	Ca (%)	Cu µg g ⁻¹	Fe µg g ⁻¹	K (%)	Mg µg g ⁻¹	Mn µg g ⁻¹	Na (%)	P (%)	S (%)	Sr µg g ⁻¹	Ti (%)	V µg g ⁻¹
A / uva	0,372 ± 0,003	0,63 ± 0,06	350 ± 6	0,053 ± 0,001	32,7 ± 1,8	2,76 ± 0,01	0,45 ± 0,02	0,170 ± 0,001	0,31 ± 0,002	1,87 ± 0,1	< 0, 3*	< 0,1
B / morango	0,415 ± 0,011	0,65 ± 0,06	361 ± 19	0,042 ± 0,003	86,3 ± 1,0	1,50 ± 0,02	0,94 ± 0,05	0,230 ± 0,007	0,11 ± 0,004	7,80 ± 0,2	0,0410 ± 0,001	0,331 ± 0,030
C / maracujá	0,098 ± 0,002	< 0,6	< 1,5	0,015 ± 0,001	170 ± 1,0	0,39 ± 0,01	0,39 ± 0,01	0,054 ± 0,001	0,05 ± 0,001	3,21 ± 0,10	0,400 ± 0,008	3,610 ± 0,020
D / uva	0,876 ± 0,007	2,86 ± 0,18	< 1,5	1,42 ± 0,02	91,9 ± 1,2	1,28 ± 0,02	0,27 ± 0,01	0,700 ± 0,007	0,41 ± 0,003	5,88 ± 0,40	0,0330 ± 0,0003	0,240 ± 0,004
E / tangerina	0,734 ± 0,004	1,52 ± 0,09	440 ± 21	0,068 ± 0,001	445 ± 3,4	1,92 ± 0,04	0,49 ± 0,01	0,380 ± 0,001	0,10 ± 0,001	14,0 ± 0,10	0,0641 ± 0,0003	0,502 ± 0,004
F / morango	0,721 ± 0,003	1,88 ± 0,21	428 ± 21	0,049 ± 0,001	176 ± 1,2	1,68 ± 0,06	0,89 ± 0,03	0,420 ± 0,004	0,11 ± 0,0004	23,4 ± 0,40	0,0913 ± 0,0021	0,770 ± 0,050

* Resultado de concentração em µg g⁻¹. // Resultados expressos como média ± desvio padrão (n=3)

5.3. Otimização do método de digestão ácida das amostras de pó para refresco para a mistura $\text{HNO}_3 + \text{HCl} + \text{H}_2\text{O}_2$

A otimização do processo de digestão utilizando a mistura $\text{HNO}_3 + \text{HCl} + \text{H}_2\text{O}_2$ para amostras de pós para refresco foi realizada também utilizando um planejamento fatorial fracionário 2^{5-1} , sendo avaliado usando a análise multivariada dos dados, através da PCA e HCA. Para a análise simultânea do planejamento fatorial (Equação 1) foi aplicado também o conceito da função da resposta múltipla. O software *Statistica 6.0*[®] foi utilizado para tratamento dos dados obtidos do planejamento experimental.

Os fatores independentes escolhidos para digestão da amostra empregando bloco digestor em sistema fechado foram: a concentração do ácido nítrico ($[\text{HNO}_3]$ mol L^{-1}), concentração do peróxido de hidrogênio ($[\text{H}_2\text{O}_2]$ % m m^{-1}), volume de ácido clorídrico (HCl / mL), temperatura de aquecimento do bloco digestor ($^{\circ}\text{C}$) e tempo de digestão (min). O ponto central foi realizado em triplicata para estimar o erro experimental. Os experimentos foram realizados de forma aleatória. Os fatores e níveis estabelecidos se encontram na Tabela 14.

Tabela 14. Fatores e níveis estabelecidos para o planejamento fatorial fracionário 2^{5-1} para preparação das amostras de pós para refrescos utilizando HCl.

Variáveis	Valor mínimo	Ponto central	Valor máximo
	(-)	(0)	(+)
$[\text{HNO}_3]$ mol L^{-1}	1,0	2,0	3,0
$[\text{H}_2\text{O}_2]$ % m m^{-1}	0,0	1,0	2,0
$[\text{HCl}]$ mol L^{-1}	1,0	1,5	2,0
Temperatura de aquecimento / $^{\circ}\text{C}$	150	170	190
Tempo de digestão / min	60	90	120

A avaliação dos 19 experimentos foi realizada em função da resposta múltipla. A Tabela 15 mostra a matriz de dados do planejamento fatorial fracionário 2^{5-1} com a utilização da função resposta múltipla em função das concentrações dos elementos Ba, Fe, Mg, Mn, Sr, Ti, V e Zn. Esses elementos foram escolhidos para otimização do método de digestão por apresentarem as maiores concentrações determinadas nas análises de pós para refrescos. A otimização simultânea das 5 variáveis escolhidas foi

realizada levando em consideração não somente o experimento que obteve a maior resposta múltipla, mas que envolvesse as maiores concentrações dos elementos.

Tabela 15. Matriz do planejamento fatorial fracionário 2⁵⁻¹ para o procedimento de digestão de pó para refresco usando a mistura HNO₃, HCl e H₂O₂.

Experimentos	Valores codificados / Valores reais					Valores encontrados								RM
	[HNO ₃] (mol L ⁻¹)	[H ₂ O ₂] (% m m ⁻¹)	HCl (mol L ⁻¹)	Temperatura (° C)	Tempo (min)	Ba (µg g ⁻¹)	V (µg g ⁻¹)	Zn (µg g ⁻¹)	Ti (µg g ⁻¹)	Sr (µg g ⁻¹)	Mn (µg g ⁻¹)	Mg (µg g ⁻¹)	Fe (µg g ⁻¹)	
1	-1 / (1,0)	-1 / (0,0)	-1 / (1,0)	-1 / (150)	+1 / (120)	20,4	0,501	1,89	5,53	7,90	6,29	3169	346	6,61
2	+1 / (3,0)	-1 / (0,0)	-1 / (1,0)	-1 / (150)	-1 / (60)	19,1	0,479	2,00	5,38	8,00	6,14	3364	345	6,59
3	-1 / (1,0)	+1 / (2,0)	-1 / (1,0)	-1 / (150)	-1 / (60)	20,2	0,442	1,93	5,18	7,87	6,14	3149	341	6,46
4	+1 / (3,0)	+1 / (2,0)	-1 / (1,0)	-1 / (150)	+1 / (120)	18,2	0,479	1,51	6,10	7,66	5,99	3334	333	6,36
5	-1 / (1,0)	-1 / (0,0)	+1 / (2,0)	-1 / (150)	-1 / (60)	20,8	0,390	1,90	5,86	8,71	6,74	3732	377	6,92
6	+1 / (3,0)	-1 / (0,0)	+1 / (2,0)	-1 / (150)	+1 / (120)	19,4	0,367	2,33	6,33	8,43	6,41	3615	363	6,95
7	-1 / (1,0)	+1 / (2,0)	+1 / (2,0)	-1 / (150)	+1 / (120)	20,2	0,270	1,70	5,27	8,01	6,29	3375	354	6,29
8	+1 / (3,0)	+1 / (2,0)	+1 / (2,0)	-1 / (150)	-1 / (60)	18,6	0,247	2,12	5,38	8,10	6,07	3895	343	6,47
9	-1 / (1,0)	-1 / (0,0)	-1 / (1,0)	+1 / (190)	-1 / (60)	22,7	0,390	1,52	6,49	9,06	6,99	3762	387	7,05
10	+1 / (3,0)	-1 / (0,0)	-1 / (1,0)	+1 / (190)	+1 / (120)	21,6	0,472	1,75	6,22	8,65	6,78	4063	385	7,15
11	-1 / (1,0)	+1 / (2,0)	-1 / (1,0)	+1 / (190)	+1 / (120)	21,2	0,314	1,52	5,91	8,69	6,78	3717	381	6,71
12	+1 / (3,0)	+1 / (2,0)	-1 / (1,0)	+1 / (190)	-1 / (60)	19,7	0,329	1,33	5,23	7,82	5,97	3239	341	6,04
13	-1 / (1,0)	-1 / (0,0)	+1 / (2,0)	+1 / (190)	+1 / (120)	21,3	0,293	1,81	5,92	8,40	6,44	3761	370	6,71
14	+1 / (3,0)	-1 / (0,0)	+1 / (2,0)	+1 / (190)	-1 / (60)	20,3	0,352	1,77	5,64	8,03	5,97	3657	345	6,48
15	-1 / (1,0)	+1 / (2,0)	+1 / (2,0)	+1 / (190)	-1 / (60)	21,2	0,322	1,56	5,77	8,57	6,52	3632	365	6,60
16	+1 / (3,0)	+1 / (2,0)	+1 / (2,0)	+1 / (190)	+1 / (120)	20,7	0,825	2,23	6,15	8,70	6,68	3313	355	7,46
17	0 / (2,0)	0 / (1,0)	0 / (1,5)	0 / (170)	0 / (90)	19,7	0,412	1,68	5,63	8,41	6,57	3654	370	6,68
18	0 / (2,0)	0 / (1,0)	0 / (1,5)	0 / (170)	0 / (90)	20,0	0,465	1,77	5,96	8,28	6,52	3655	373	6,83
19	0 / (2,0)	0 / (1,0)	0 / (1,5)	0 / (170)	0 / (90)	19,9	0,480	1,48	5,98	8,27	6,41	3408	367	6,63

RM: Resposta múltipla.

O gráfico de Pareto construído através dos dados da função resposta múltipla apresentado na Figura 9 mostra uma melhor visualização dos efeitos dos fatores e suas interações estudadas. Neste gráfico as barras representam os valores dos efeitos padronizados e a linha tracejada representa o valor de $p = 0,05$ que é estatisticamente significativo, para um nível de 95% de confiança.

As interações entre ($[\text{HNO}_3]$ mol L^{-1} * Tempo / min) e (Temperatura / $^{\circ}\text{C}$ * Tempo / min) obtiveram efeitos significativos com sinal positivo, sugerindo que seus maiores níveis dentro do domínio experimental estudado sejam mais convenientes no processo de digestão, enquanto que o fator ($[\text{H}_2\text{O}_2]$ % m m^{-1}) obteve efeito significativo com sinal negativo, sugerindo que seu menor nível dentro do domínio experimental estudado seja mais conveniente no processo de digestão.

Diante disto, o maior nível de concentração de HNO_3 dentro do domínio experimental estudado, ainda assim, um meio ácido diluído, promove com maior eficiência a digestão das amostras de pós para refrescos, junto ao nível máximo de temperatura e tempo estudados no presente trabalho, pois a utilização de maiores concentrações de HNO_3 , maior temperatura e tempo em recipiente fechado sobre alta pressão podem promover as energias de ativação das reações químicas necessárias para obter processos oxidativos na digestão [NÓBREGA et al., 2012].

O gráfico de Pareto também mostra que a concentração de H_2O_2 teve efeito significativo para um nível negativo, no entanto foi feita a escolha do maior nível, já que a presença de H_2O_2 regenera o HNO_3 aumentando a eficiência no processo de digestão [NÓBREGA et al., 2012; COSTA et al., 2013]. A matriz de pó para refresco é constituída na sua maior parte de elementos inorgânicos, sendo caracterizada como um alimento artificial, porém, na sua composição ainda existe uma quantidade de matéria orgânica presente nos açúcares, sendo necessário a escolha do maior nível de H_2O_2 para evitar a perda da eficiência no processo de digestão das amostras.

Por último, foi escolhido o maior nível de concentração de HCl já que o mesmo não apresentou efeitos significativos e o HCl presente no processo de digestão das amostras garante a solubilização por complexação pelo íon cloreto de alguns elementos presentes nas amostras aumentando as concentrações determinadas de Zn, Ti, Mg e Fe, como pode ser observado na Tabela 15. O gráfico de Pareto também mostrou que a

curvatura não mostrou efeito significativo, não havendo região de máximo ou mínimo perto das condições experimentais do ponto central.

O experimento 16 se encaixa perfeitamente nessas condições avaliadas, e como consequência, a resposta global do mesmo foi a maior obtida com valor de 7,46, sendo o escolhido como condição de compromisso priorizando a maior eficiência no processo de digestão das amostras de pós para refrescos empregando bloco digestor em sistema fechado.

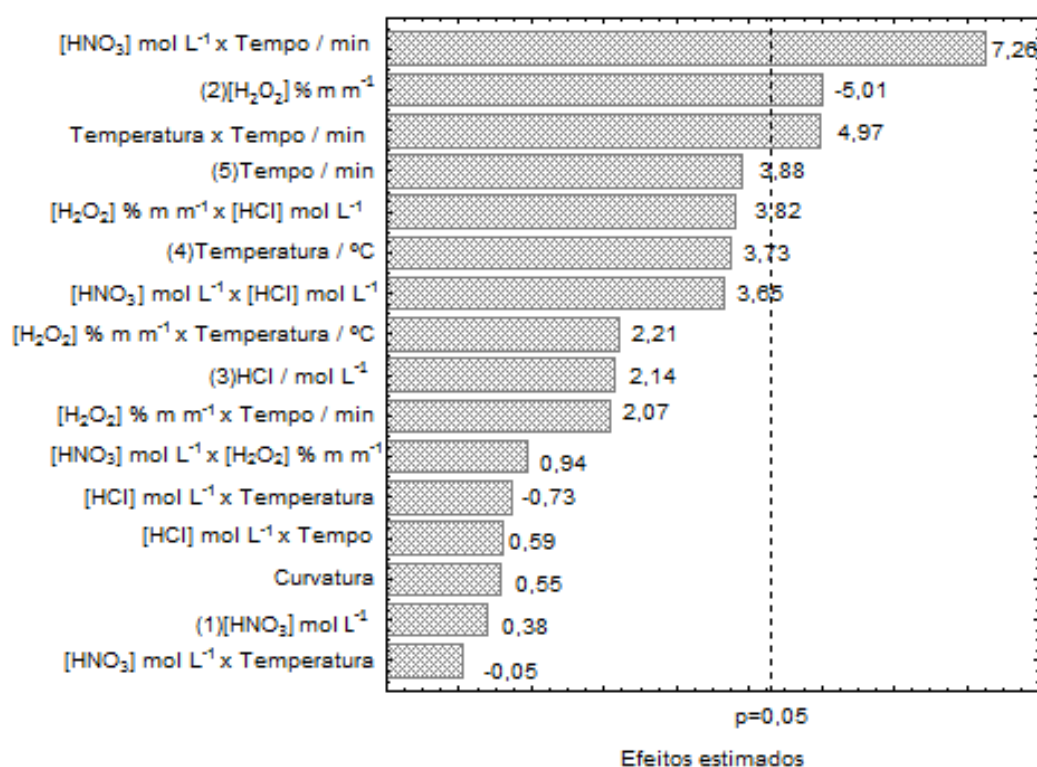


Figura 9. Gráfico de Pareto para o planejamento fatorial fracionário 2^{5-1} com função resposta múltipla do procedimento de digestão de amostra usando a mistura HNO₃, HCl e H₂O₂.

A Tabela 16 mostra os prováveis confundimentos e contrastes encontrados no planejamento fatorial fracionário 2^{5-1} utilizando a mistura HNO₃+HCl+H₂O₂. A análise simultânea dos dados foi avaliada usando uma resolução V. Os maiores valores de contraste em negrito obtiveram efeitos significativos, o fator ([H₂O₂] % m m⁻¹) com efeito negativo de -0,263 e as interações dos fatores ([HNO₃] mol L⁻¹ * Tempo / min) e (Temperatura / °C * Tempo / min) com efeitos positivos de 0,380 e 0,261,

respectivamente. A interação 1*3*4*5 poderia causar confundimento com o fator principal ($[\text{H}_2\text{O}_2]$ % m m⁻¹) possuindo o mesmo valor de efeito de -0,263. No entanto, o efeito dos fatores principais são de primeira ordem, sendo maiores do que os efeitos de maior ordem como a interação 1*3*4*5 de quarta ordem.

Da mesma forma, o efeito da interação ($[\text{HNO}_3]$ mol L⁻¹ * Tempo / min) de segunda ordem poderia causar confundimento com os contrastes das iterações 2*3*4 com efeito de terceira ordem, possuindo mesmo valor de contraste de 0,380. Porém, os efeitos das interações de segunda ordem são maiores do que os de terceira ordem e dessa mesma forma acontece com as interações (Temperatura / °C * Tempo / min) com as interações 1*2*3 possuindo mesmo valor de efeito de 0,261. Diante disso, os efeitos das interações de maior ordem possuem valores de efeitos mais baixos não tendo efeito estatístico significativo no processo de digestão estudado [FERREIRA, 2015].

O ajuste do modelo obtido também foi avaliado pela ANOVA como mostrado na Tabela 17. Sendo que, o valor-p obtido de 0,632 para a falta de ajuste, foi maior do que 0,05 indicando que o modelo experimental observado não apresenta falta de ajuste significativa para um nível de confiança de 95% para as respostas do planejamento fatorial fracionário 2⁵⁻¹ [TRINDADE et al. 2015].

A qualidade do modelo pôde ser observada através do gráfico de correlação dos valores preditos versus valores observados mostrado na Figura 10. O gráfico obtido mostra também uma boa concordância com os valores preditos em relação aos valores experimentais obtidos do planejamento fatorial fracionário 2⁵⁻¹ proposto com função resposta múltipla, evidenciando uma boa adequação do modelo, que apresenta um $r \geq 0,99$.

Tabela 16. Contrastes e confundimentos do planejamento fatorial fracionário 2^{5-1} com função resposta múltipla para a mistura HNO_3 , HCl e H_2O_2 .

Parâmetro	Confundimento	Contrastes
(1)[HNO_3] mol L ⁻¹	2*3*4*5	0,020
(2)[H_2O_2] % m m ⁻¹	1*3*4*5	-0,263
(3)[HCl] mol L ⁻¹	1*2*4*5	0,112
(4)Temperatura / °C	1*2*3*5	0,195
(5)Tempo / min	1*2*3*4	0,204
[HNO_3] mol L ⁻¹ * [H_2O_2] % m m ⁻¹	3*4*5	0,049
[HNO_3] mol L ⁻¹ * [HCl] mol L ⁻¹	2*4*5	0,191
[HNO_3] mol L ⁻¹ * Temperatura / °C	2*3*5	-0,002
[HNO_3] mol L ⁻¹ * Tempo / min	2*3*4	0,380
[H_2O_2] % m m ⁻¹ * [HCl] mol L ⁻¹	1*4*5	0,200
[H_2O_2] % m m ⁻¹ * Temperatura / °C	1*3*5	0,116
[H_2O_2] % m m ⁻¹ * Tempo / min	1*3*4	0,109
[HCl] mol L ⁻¹ * Temperatura / °C	1*2*5	-0,038
[HCl] mol L ⁻¹ * Tempo / min	1*2*4	0,031
Temperatura / °C * Tempo / min	1*2*3	0,261
[HNO_3] mol L ⁻¹ * [H_2O_2] % m m ⁻¹ * [HCl] mol L ⁻¹		0,261
[HNO_3] mol L ⁻¹ * [H_2O_2] % m m ⁻¹ * Temperatura / °C		0,031
[HNO_3] mol L ⁻¹ * [H_2O_2] % m m ⁻¹ * Tempo / min		-0,038
[HNO_3] mol L ⁻¹ * [HCl] mol L ⁻¹ * Temperatura / °C		0,109
[HNO_3] mol L ⁻¹ * [HCl] mol L ⁻¹ * Tempo / min		0,116
[HNO_3] mol L ⁻¹ * Temperatura / °C * Tempo / min		0,200
[H_2O_2] % m m ⁻¹ * [HCl] mol L ⁻¹ * Temperatura / °C		0,380
[H_2O_2] % m m ⁻¹ * [HCl] mol L ⁻¹ * Tempo / min		-0,002
[H_2O_2] % m m ⁻¹ * Temperatura / °C * Tempo / min		0,191
[HCl] mol L ⁻¹ * Temperatura / °C * Tempo / min		0,049

*Em negrito, os valores de contraste que foram significativo para nível de confiança de 95%

Tabela 17. ANOVA da resposta múltipla para a mistura HNO₃, HCl e H₂O₂.

Fator	Soma dos Quadrados	Grau de Liberdade	Média dos Quadrados	Valor - F	Valor - p
(1)[HNO ₃] mol L ⁻¹	0,002	1	0,002	0,145	0,740
(2)[H ₂ O ₂] % m m ⁻¹	0,276	1	0,276	25,13	0,038
(3)[HCl] mol L ⁻¹	0,050	1	0,050	4,600	0,165
(4)Temperatura / °C	0,153	1	0,153	13,92	0,065
(5)Tempo / min	0,166	1	0,166	15,12	0,060
[HNO ₃] mol L ⁻¹ x [H ₂ O ₂] % m m ⁻¹	0,010	1	0,010	0,892	0,445
[HNO ₃] mol L ⁻¹ x [HCl] mol L ⁻¹	0,146	1	0,146	13,32	0,068
[HNO ₃] mol L ⁻¹ x Temperatura / °C	0,00002	1	0,00002	0,002	0,966
[HNO ₃] mol L ⁻¹ x Tempo / min	0,578	1	0,578	52,73	0,018
[H ₂ O ₂] % m m ⁻¹ x [HCl] mol L ⁻¹	0,160	1	0,160	14,61	0,062
[H ₂ O ₂] % m m ⁻¹ x Temperatura / °C	0,054	1	0,054	4,908	0,157
[H ₂ O ₂] % m m ⁻¹ x Tempo / min	0,047	1	0,047	4,295	0,174
[HCl] mol L ⁻¹ x Temperatura / °C	0,006	1	0,006	0,536	0,540
[HCl] mol L ⁻¹ x Tempo / min	0,004	1	0,004	0,358	0,610
Temperatura / °C x Tempo / min	0,272	1	0,272	24,76	0,038
Falta de ajuste	0,003	1	0,003	0,312	0,632
Erro puro	0,022	2	0,011		
Total SS	1,948	18			

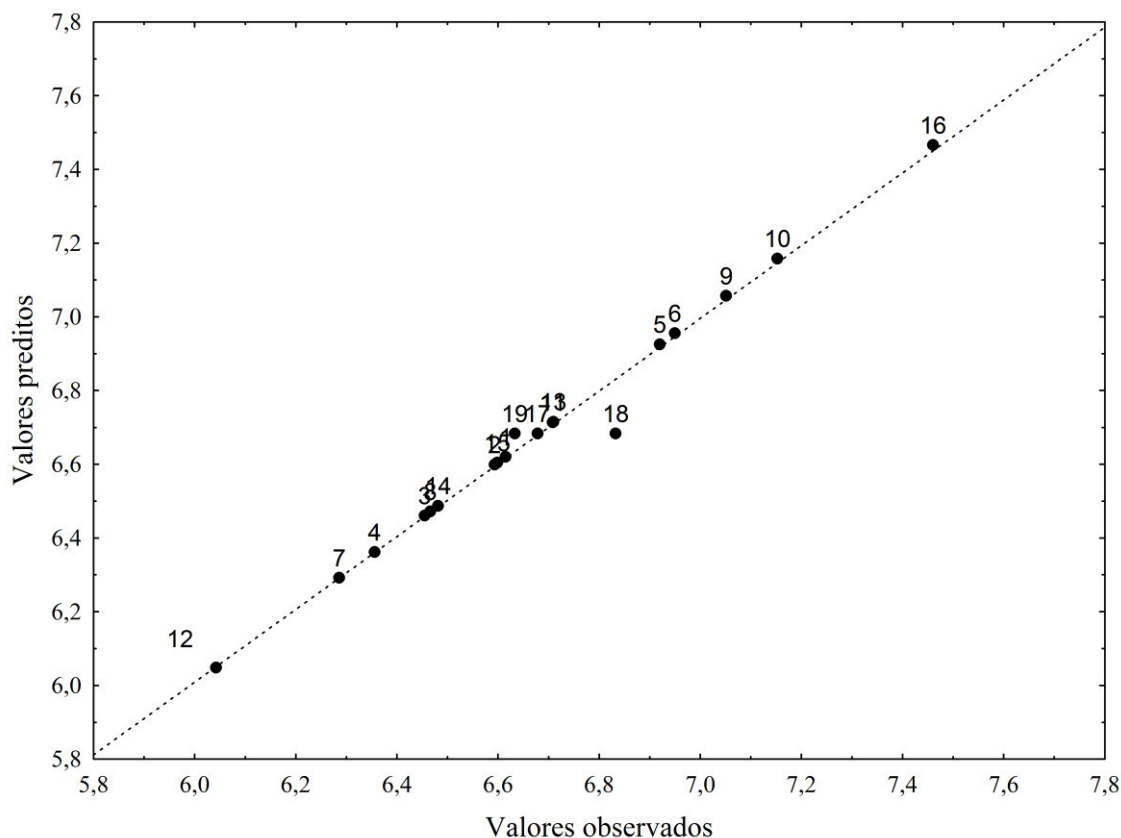


Figura 10. Gráfico de correlação dos valores preditos vs valores observados com usando a função da resposta múltipla das concentrações dos elementos obtidas para a mistura $\text{HNO}_3+\text{HCl}+\text{H}_2\text{O}_2$.

5.3.1. Análise multivariada de dados para avaliação do procedimento de digestão com a mistura $\text{HNO}_3+\text{HCl}+\text{H}_2\text{O}_2$

A análise multivariada de dados também foi utilizada com o objetivo de verificar as influências das respostas das concentrações (variáveis) de Ba, Fe, Mg, Mn, Sr, Ti, V e Zn para os 19 experimentos realizados na otimização simultânea. A matriz de dados 19×8 para a PCA e HCA foi construída utilizando as respostas das concentrações obtidas do planejamento fatorial fracionário 2^{5-1} da otimização do método de digestão ácida das amostras de refresco em pó utilizando a mistura HNO_3 , HCl e H_2O_2 , onde os 8 elementos representam as colunas e os 19 experimentos as linhas. Os dados foram normalizados por meio do autoescalamento e construído a matriz de dados.

5.3.1.1. Análise de componente principal para o procedimento de digestão com a mistura $\text{HNO}_3+\text{HCl}+\text{H}_2\text{O}_2$

A Tabela 18 mostra os pesos das variáveis das componentes principais PC1 e PC2. As duas primeiras componentes principais foram responsáveis por explicar 73,95 % da variância total dos 8 dados das concentrações dos elementos, onde a primeira componente principal PC1 explicou 54,93 % da variância total e a PC2 explicou 19,02 % da variância total dos dados, com autovalores de 4,394 e 1,522 respectivamente, constituindo os valores de maior peso para as 8 variáveis. Sendo assim, as PC1 e PC2 foram escolhidas por acumularem 73,95 % da informação total dos dados.

Tabela 18. Valores de pesos das variáveis para as duas primeiras componentes principais para $\text{HNO}_3+\text{HCl}+\text{H}_2\text{O}_2$.

Variáveis	PC1	PC2
V	-0,054	0,909
Zn	0,075	0,636
Ti	-0,742	0,325
Sr	-0,959	0,103
Mn	-0,950	0,138
Mg	-0,683	-0,342
Fe	-0,954	-0,142
Ba	-0,799	-0,129
Autovalores	4,394	1,522
Variância total (%)	54,93	19,02
Variância acumulada (%)	54,93	73,95

As variáveis Ti, Sr, Mn, Mg, Fe e Ba apresentaram altos valores de pesos negativos na PC1. As concentrações de Zn e V resultaram em altos valores positivos na PC2, como mostrado na Tabela 18, apresentando maiores contribuições na determinação dos seus escores. A distribuição espacial das variáveis estão melhor representadas no gráfico de pesos da PC1 versus PC2 na Figura 11, mostrando que as variáveis Ti, Sr, Mn, Mg, Fe e Ba foram agrupadas, indicando que provavelmente elas possuem semelhantes características na otimização do método de digestão. Entretanto, as variáveis Zn e V apresentam valores de pesos mais positivos em ambas as PCs, indicando condições diferentes das outras variáveis.

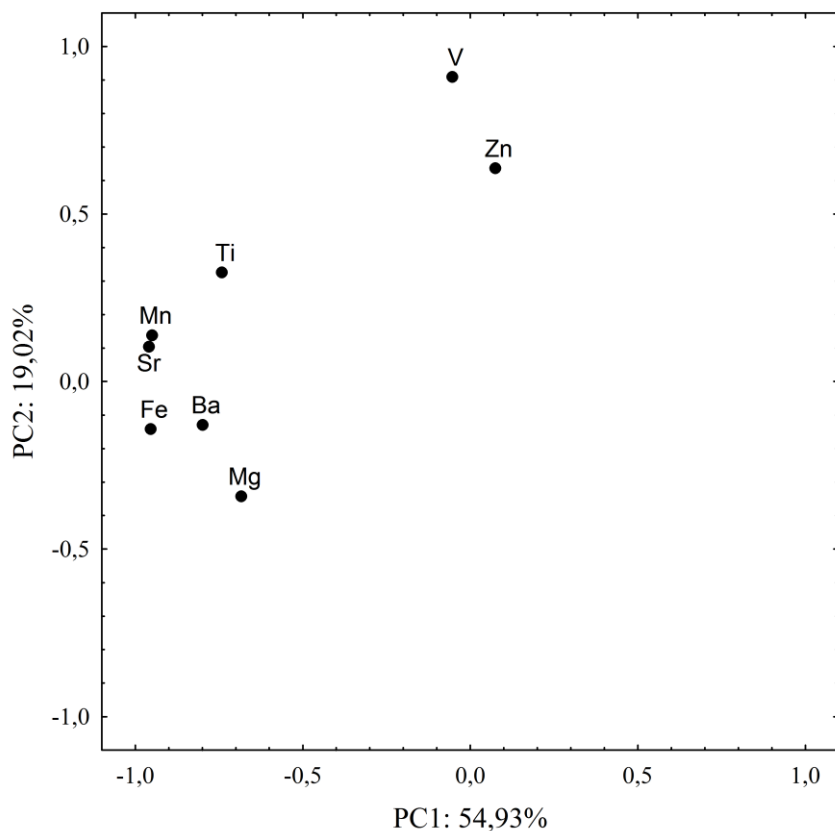


Figura 11. Gráfico de pesos para a PC1 versus PC2 para a mistura HNO₃, HCl e H₂O₂.

A Figura 12 apresenta o gráfico de escores que mostra a tendência a formação de dois grupos 1 e 2. O grupo 1 representa os experimentos 5, 6, 9, 10, 11, 13, 15, 17, 18 e 19 localizados no eixo de valores de escores negativos na PC1 e no eixo de valores negativos e positivos na PC2, podendo caracterizar uma máxima concentração de Ti, Sr, Mn, Mg, Fe e Ba através das suas condições experimentais como pode ser visto na Tabela 15. Foi possível observar também que os experimentos 6 e 16 apresentaram as maiores concentrações de Zn e V, respectivamente, uma vez que os dois experimentos estão localizados na região de escores positivos na PC2, onde o Zn e V possuem altos pesos na PC2 e faz com que o experimento 16 se distancie dos demais experimentos do grupo 1.

O grupo 2 foi formado pelos experimentos 1, 2, 3, 4, 7, 8, 12 e 14 apresentando valores de escores positivos na PC1 e no eixo de valores negativos e positivos na PC2 e suas condições experimentais devem aumentar as concentrações de Zn e V como pode ser visto na Tabela 15.

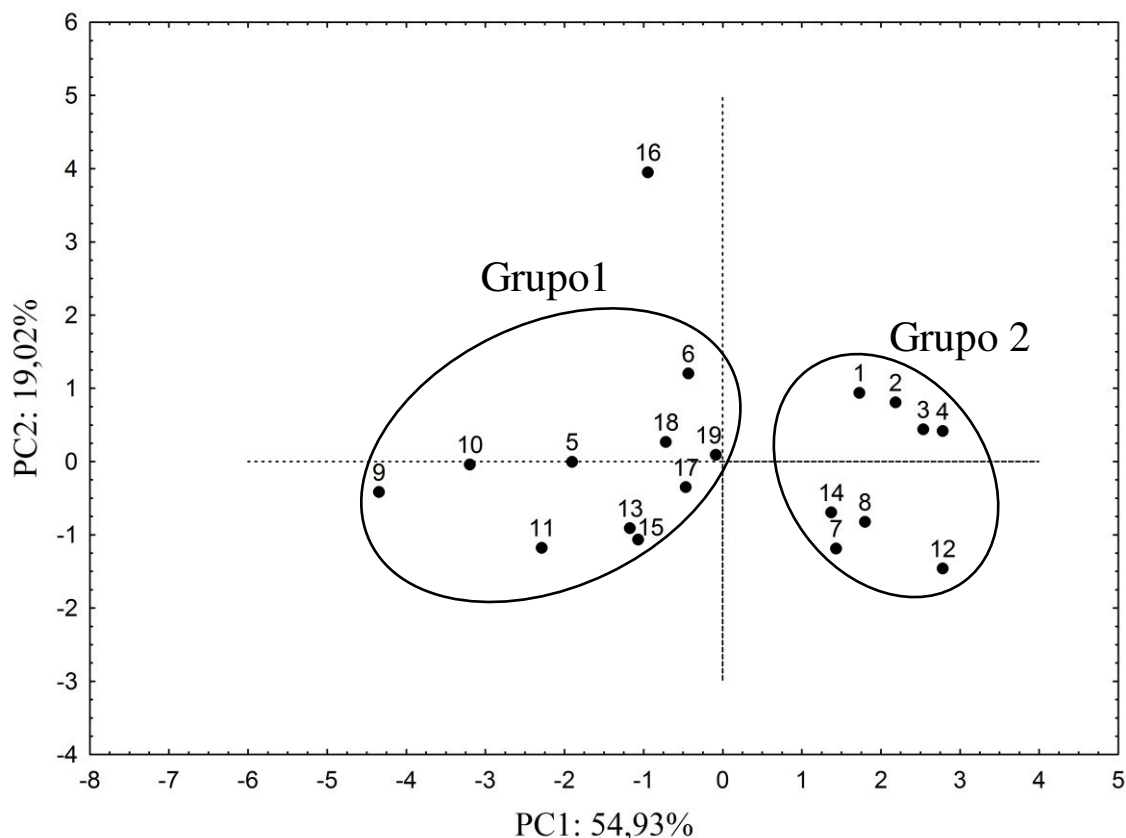


Figura 12. Gráfico de escores para a PC1 versus PC2 referente aos 19 experimentos do planejamento fatorial fracionário 2^{5-1} da mistura HNO_3 , HCl e H_2O_2 .

5.3.1.2. Análise de agrupamento hierárquico para o procedimento de digestão com a mistura $\text{HNO}_3+\text{HCl}+\text{H}_2\text{O}_2$

A análise de agrupamento hierárquico (HCA) foi aplicada com o objetivo de melhorar a visualização da formação dos grupos e confirmar os resultados obtidos da análise de componentes principais, formando grupos com distâncias das similaridades entre os experimentos. Os 19 experimentos foram agrupados hierarquicamente utilizando as concentrações com dados autoescalados. Foi utilizado o método de Ward, a similaridade entre os experimentos foram calculados a partir das distâncias Euclidianas e foi traçada a linha fenon que delimita a metade da distância Euclidiana total.

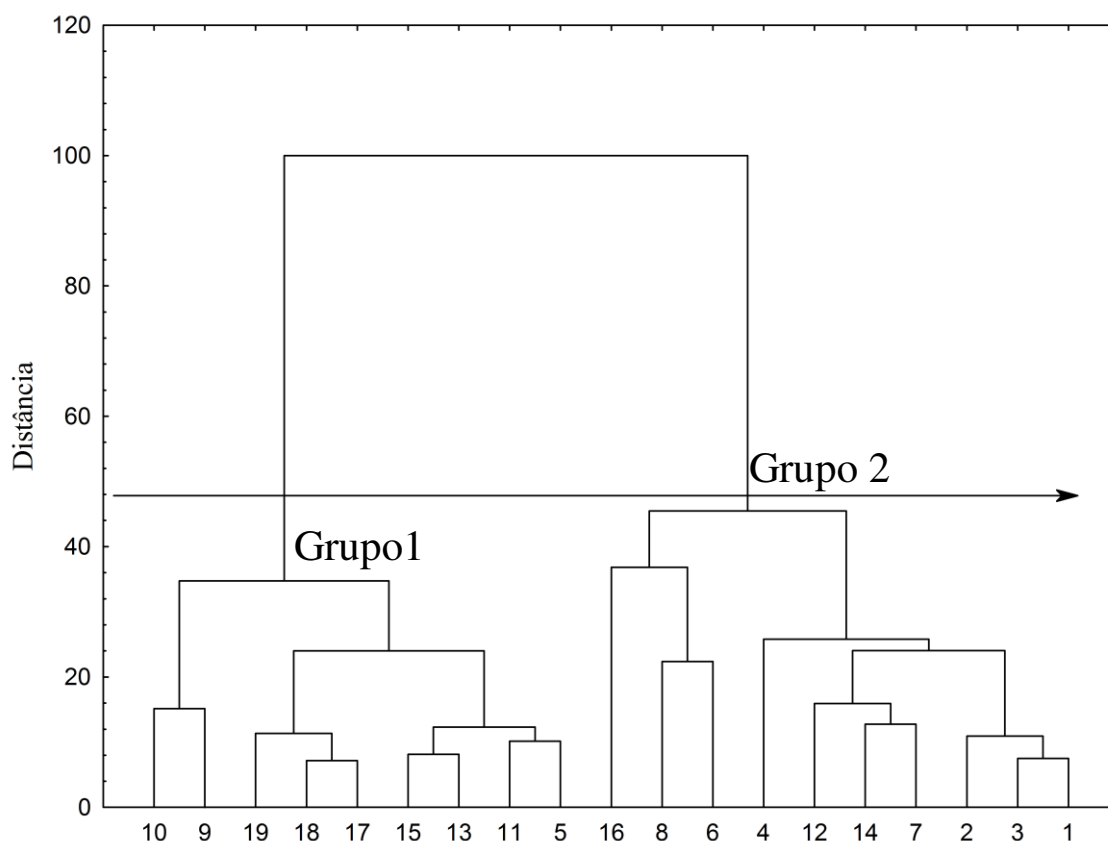


Figura 13. Dendrograma dos dados autoescalados das concentrações dos elementos nos 19 experimentos: Cálculo da distância Euclidiana e método de ligação Ward's da mistura HNO_3 , HCl e H_2O_2 .

O dendrograma apresentado na Figura 13 mostra a formação de dois grupos distintos homogêneos formados de acordo com suas similaridades, confirmando os resultados obtidos pela análise de componentes principais. Porém, os experimentos 6 e 16 no dendrograma, apresentaram similaridades com os experimentos do grupo 2. Esse comportamento pode ser explicado pelas contribuições das concentrações dos elementos V e Zn nesses experimentos, onde as características dos experimentos 6 e 16 contribuem mais na determinação de V e Zn como observado na Tabela 15, principalmente o experimento 16 com praticamente o dobro da concentração de V em comparação com os demais experimentos, fazendo com que seja o experimento com a maior resposta múltipla. Os experimentos 6 e 16 apresentam contribuições semelhantes aos experimentos 1, 2, 3, 4, 7, 8, 12 e 14 na determinação da concentração de V e Zn.

5.3.2. Parâmetros de mérito usando um procedimento de digestão empregando a mistura $\text{HNO}_3+\text{HCl}+\text{H}_2\text{O}_2$

Para o cálculo do LoD e LoQ foram utilizadas também as equações 2, 3, 4 e 5 mencionadas no tópico 5.3.3. Os valores obtidos de BEC, LoD e LoQ estão apresentados na Tabela 19 para os elementos Al, As, B, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, P, Pb, Sr, Ti, V e Zn em amostras de pó para refrescos.

Para o procedimento de preparo de amostra usando a mistura $\text{HNO}_3+\text{HCl}+\text{H}_2\text{O}_2$, os LoD variaram entre 0,03 (V) e 2,6 $\mu\text{g g}^{-1}$ (B) para os microelementos e entre 0,5 (Mg) e 59 $\mu\text{g g}^{-1}$ (Na) para os macroelementos. Sendo que, os LoQ variaram entre 0,08 (V) e 8,7 $\mu\text{g g}^{-1}$ (B) para os microelementos e entre 1,6 (Mg) e 196 $\mu\text{g g}^{-1}$ (Na) para os macroelementos.

Tabela 19. Parâmetros de mérito para análise de pó para refresco empregando um procedimento de preparo de amostra de uma mistura $\text{HNO}_3+\text{HCl}+\text{H}_2\text{O}_2$ e detecção por ICP OES.

Elementos	Adições / mg L^{-1}	Amostras / Recuperações				BEC (mg L^{-1})	LoD ($\mu\text{g g}^{-1}$)	LoQ ($\mu\text{g g}^{-1}$)
		A / Uva	RSD (%)	F / Tangerina	RSD (%)			
Al	0,3	n.d	n.d.	87,0 ± 3,2	3,6	0,04	1,3	4,3
	0,5	81,5 ± 0,27	0,27	85,4 ± 0,5	0,5			
	1,0	82,5 ± 2,4	2,9	90,1 ± 3,0	3,3			
As	0,3	88,8 ± 3,2	3,6	90,4 ± 5,0	5,6	0,02	1,2	3,9
	0,5	89,6 ± 1,1	1,2	93,0 ± 3,0	3,2			
	1,0	93,3 ± 1,5	1,6	96,9 ± 7,2	7,4			
B	0,3	101,4 ± 3,5	3,5	103,4 ± 2,4	2,3	0,05	2,6	8,7
	0,5	100,9 ± 0,9	0,9	94,0 ± 2,9	3,1			
	1,0	94,3 ± 4,0	4,2	97,5 ± 7,0	7,2			
Ba	0,3	84,3 ± 4,4	5,2	83,3 ± 2,9	3,5	0,003	0,2	0,6
	0,5	90,2 ± 1,4	1,5	88,3 ± 1,8	2,1			
	1,0	88,6 ± 0,9	1,0	92,7 ± 7,5	8,1			
Cd	0,3	96,2 ± 4,1	4,3	93,1 ± 3,7	3,9	0,0029	0,14	0,48
	0,5	101,6 ± 1,3	1,3	99,4 ± 2,5	2,5			
	1,0	99,7 ± 0,7	0,7	98,4 ± 4,8	4,9			
Co	0,3	90,8 ± 4,2	4,6	85,1 ± 3,4	4,0	0,003	0,2	0,5
	0,5	92,7 ± 0,9	0,9	88,5 ± 2,0	2,3			
	1,0	88,3 ± 0,7	0,8	90,6 ± 6,9	7,6			
Cr	0,3	90,2 ± 4,2	4,7	84,6 ± 2,4	2,9	0,0026	0,1	0,3
	0,5	90,9 ± 1,3	1,4	85,3 ± 1,7	2,0			
	1,0	85,5 ± 0,7	0,8	87,2 ± 7,2	8,2			
Cu	0,3	83,8 ± 4,2	5,0	80,8 ± 1,7	2,1	0,005	0,1	0,4
	0,5	87,7 ± 1,9	2,2	84,4 ± 1,3	1,6			
	1,0	85,2 ± 1,1	1,3	83,4 ± 3,6	4,4			
Fe	2,0	93,1 ± 3,8	4,1	102 ± 9,8	9,6	0,016	0,5	1,8
	5,0	99,1 ± 3,0	3,0	95,5 ± 4,5	4,7			

Aplicação de planejamentos simultâneos para otimização de métodos analíticos para determinação de constituintes inorgânicos em pó para refresco por ICP OES

Continuação: Tabela 18. Parâmetros de mérito para análise de pó para refresco empregando um procedimento de preparo de amostra de uma mistura HNO₃+HCl+H₂O₂ e detecção por ICP OES.

Fe	10,0	97,1 ± 6,6	6,8	98,3 ± 6,2	6,3	0,016	0,5	1,8
K	10,0	108,4 ± 9,7	8,9	100 ± 4,8	4,7			
	30,0	106,6 ± 0,1	0,1	103 ± 0,05	0,05	0,24	3,4	11,5
	50,0	101 ± 0,3	0,3	96,0 ± 0,5	0,5			
Mn	0,3	92,8 ± 4,3	4,6	88,7 ± 2,7	3,0			
	0,5	92,0 ± 1,9	2,0	88,1 ± 1,4	1,6	0,002	0,08	0,3
	1,0	85,7 ± 0,4	0,5	88,0 ± 6,7	7,6			
Na	10,0	n.d	n.d	120 ± 1,5	1,2			
	30,0	94,9 ± 3,9	4,1	100 ± 6,0	6,0	1,3	59	196
	50,0	103 ± 4,8	4,7	82,9 ± 0,3	0,3			
Ni	0,3	97,1 ± 1,4	1,4	96,7 ± 2,5	2,6			
	0,5	96,7 ± 1,5	1,5	96,1 ± 1,7	1,8	0,004	0,3	0,8
	1,0	92,4 ± 0,5	0,5	90,3 ± 4,4	4,9			
Pb	0,3	97,8 ± 2,0	2,1	90,4 ± 2,1	2,4			
	0,5	96,9 ± 1,9	2,0	92,6 ± 2,5	2,7	0,0006	0,2	0,6
	1,0	89,5 ± 1,8	2,0	87,0 ± 3,6	4,2			
S	10,0	105 ± 9,8	9,4	98,9 ± 7,2	7,2			
	30,0	97,0 ± 3,3	3,4	94,3 ± 3,8	4,1	0,11	3,9	13
	50,0	96,0 ± 1,8	1,9	94,6 ± 5,3	5,6			
Sn	2,0	91,8 ± 2,3	2,5	84,8 ± 4,1	4,8			
	5,0	97,1 ± 1,5	1,5	83,8 ± 1,4	1,6	0,017	1,2	3,9
	10,0	92,7 ± 5,0	5,4	83,2 ± 1,9	2,3			
Sr	0,3	94,4 ± 0,6	0,6	94,0 ± 5,2	5,6			
	0,5	96,1 ± 1,0	1,0	92,8 ± 2,3	2,5	0,0026	0,1	0,4
	1,0	90,0 ± 0,6	0,6	87,6 ± 4,9	5,6			
Ti	2,0	107,0 ± 1,4	1,3	90,6 ± 5,3	5,8			
	5,0	106,9 ± 1,4	1,3	104,3 ± 0,3	0,3	0,001	0,07	0,2
	10,0	99,3 ± 1,6	1,6	94,7 ± 1,6	1,6			
V	0,3	95,1 ± 3,7	3,9	91,3 ± 3,1	3,4			
	0,5	95,3 ± 1,6	1,7	90,8 ± 1,4	1,5	0,0009	0,03	0,08
	1,0	89,4 ± 0,8	0,9	87,1 ± 3,9	4,5			
Zn	0,3	99,3 ± 4,5	4,5	97,1 ± 1,8	1,8			
	0,5	101,4 ± 1,0	1,0	100,8 ± 2,0	2,0	0,001	0,2	0,5
	1,0	98,7 ± 0,5	0,5	97,2 ± 4,5	4,6			
Ca	5,0	113,0 ± 6,4	5,7	n.d.	n.d.			
	10,0	109,2 ± 10,1	9,3	82,8 ± 6,0	7,3	0,13	6,4	22
	30,0	103,3 ± 3,3	3,2	81,8 ± 7,0	8,5			
Mg	5,0	117,0 ± 3,0	2,6	113,1 ± 1,6	1,4			
	10,0	119,6 ± 2,0	1,7	113,9 ± 3,9	3,5	0,008	0,5	1,6
	30,0	115,6 ± 1,2	1,0	116,5 ± 4,7	4,0			
P	5,0	102 ± 4,3	4,2	82,9 ± 9,9	12,0			
	10,0	106,9 ± 3,1	2,9	110,1 ± 7,4	6,8	0,02	1,6	5,4
	30,0	99,9 ± 1,2	1,2	93,1 ± 5,4	5,8			

Resultados expressos como média ± desvio padrão (n=3) // n.d. = não determinado.

A exatidão e precisão do método proposto foi avaliado através do teste de adição e recuperação em duas amostras de pó para refresco (A / Uva e F / Tangerina). As concentrações conhecidas em amostras fortificadas com os analitos é utilizada para medir a recuperação dos mesmos, onde três níveis diferentes (baixo, médio e alto) de concentrações foram utilizado para avaliar a exatidão do método proposto [INMETRO,

2016]. Foram adicionados três níveis de concentração do analito nas amostras, sendo que 0,30; 0,50 e 1,00 mg L⁻¹ para os microelementos, sendo 2,0; 5,0 e 10,0 mg L⁻¹ de Fe, Sn e Ti e para os macroelementos usou-se as concentrações de 5,00; 10,0 e 30,0 mg L⁻¹, sendo 10,0; 30,0 e 50,0 de Ca, K, Na e S. Os percentuais de recuperações foram obtidos conforme a Equação 6.

A Tabela 19 mostra que as recuperações variaram entre 81,5 ± 0,27 (Al) e 119,6 ± 2,0 % (Mg) para a amostra A, e com recuperações entre 80,8 ± 1,7 (Cu) e 120 ± 1,5 % (Na) para a amostra F, apresentando boas recuperações entre 80 e 120 %. Sendo assim, foi verificado que o método proposto mostrou boa exatidão nas análises de refresco em pó empregando uma mistura de HNO₃+HCl+H₂O₂ utilizando um bloco digestor em sistema fechado e detecção por ICP OES.

A precisão do método proposto foi avaliada através do desvio padrão relativo utilizando a Equação 7. O desvio padrão relativo apresentado na Tabela 19, variou entre 0,1 (K) e 9,4 % (S) para a amostra A e a amostra F entre 0,05 (K) e 12 % (P), mostrando que as análises do método proposto apresentam boa precisão com valores abaixo do que 12 % para uma análise quantitativa.

A exatidão do método analítico proposto nesta secção não foi somente avaliada pelo teste de adição e recuperação de analitos, mas também foi avaliado pelas análises de materiais de referência certificado (CRM). Foram analisados os materiais de referência certificados de folha de pessegueiro (peach leaves - NIST 1547), folha de tomate (material de referência de laboratório de folhas de tomate - CRM-Agro C1003a) e Chá (Tea - NCS DC 73351).

A Tabela 20 mostra que os valores encontrados são aceitáveis quando comparados com os valores certificados, variando entre 80,8 ± 3,7 (K) e 115 ± 5,7 % (Pb), mostrando que o método proposto foi eficiente para análise de CRMs de folhas vegetais e detecção por ICP OES, usando uma mistura HNO₃+HCl+H₂O₂ empregando um bloco digestor com sistema fechado como procedimento de preparo de amostra.

Tabela 20. Resultados das concentrações dos elementos obtidos pela análise dos materiais de referência certificados por ICP OES após preparo de amostra usando uma mistura $\text{HNO}_3+\text{HCl}+\text{H}_2\text{O}_2$ empregando um bloco digestor com sistema fechado.

CRM	Elementos	Valor certificado ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Valor encontrado ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Concordância (%)	Elementos	Valor certificado ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Valor encontrado ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Concordância (%)
CRM-Agro C100-3a	As	19,0 ± 2,8	17,1 ± 1,0	90,0 ± 5,2	Mg	4110 ± 360	4358 ± 48	106 ± 1,2
	Ca	27400 ± 4400	26579 ± 202	97,0 ± 0,7	Mn	470 ± 69	431 ± 5,0	91,7 ± 1,1
	Cd	26,6 ± 2,1	24,1 ± 0,17	90,6 ± 0,6	Na	2710 ± 840	2483 ± 155	91,6 ± 5,7
	Cu	1130 ± 140	1027 ± 9,7	90,9 ± 0,8	Ni	3,16 ± 0,87	2,75 ± 0,04	87,0 ± 1,3
	Fe	1120 ± 190	1075 ± 7,0	96,0 ± 0,6	P	4370 ± 740	4599 ± 47	105 ± 1,1
	K	43300 ± 3800	34983 ± 1595	80,8 ± 3,7	Zn	37,5 ± 5,0	33,1 ± 0,28	88,3 ± 0,7
NIST 1547	Al	248,9 ± 6,5	203 ± 1,0	81,6 ± 0,4	Mn	97,8 ± 1,8	91,3 ± 2,1	93,4 ± 2,1
	Ba	123,7 ± 5,5	109 ± 1,9	88,1 ± 1,5	Ni	0,689 ± 0,095	0,75 ± 0,02	109 ± 3,0
	Ca	15590 ± 160	15568 ± 293	99,9 ± 1,9	P	1371 ± 82	1393 ± 21	101 ± 1,5
	Cu	3,75 ± 0,37	3,52 ± 0,29	93,9 ± 7,7	Pb	0,869 ± 0,018	1,00 ± 0,05	115 ± 5,7
	Fe	219,8 ± 6,8	192 ± 3,7	87,4 ± 1,7	S	2000*	1694 ± 50	84,7 ± 2,5
	K	24330 ± 380	22174 ± 539	91,1 ± 2,2	Zn	17,97 ± 0,53	15,1 ± 0,18	84,0 ± 1,0
NCS DC 73351	Mg	4320 ± 150	4361 ± 143	101 ± 3,3				
	Ba	58 ± 6	52,6 ± 1,0	90,7 ± 1,7	Mn	1240 ± 70	1231 ± 19	99,3 ± 1,5
	Ca	(0,43 ± 0,04)	(0,46 ± 0,0045)	107 ± 1,0	Ni	4,6 ± 0,5	4,33 ± 0,37	94,1 ± 8,0
	Cu	17,3 ± 1,8	16,9 ± 0,35	97,7 ± 2,0	P	2840 ± 90	2838 ± 48	99,9 ± 1,7
	Fe	264 ± 15	232 ± 6,3	87,9 ± 2,4	Pb	4,4 ± 0,3	4,03 ± 0,3	91,6 ± 6,8
	K	(1,66 ± 0,12)	(1,66 ± 0,01)	100 ± 0,6	S	(0,245 ± 0,022)	(0,229 ± 0,0007)	93,5 ± 0,3
	Mg	(0,17 ± 0,02)	(0,16 ± 0,001)	94,1 ± 0,6	Zn	26,3 ± 2,0	22,6 ± 0,5	85,9 ± 1,9

Resultados expressos como média ± desvio padrão (n = 3) // () Resultados expressos em %.

5.3.3. Aplicação do procedimento de digestão de pó para refresco usando a mistura $\text{HNO}_3+\text{HCl}+\text{H}_2\text{O}_2$

O procedimento de digestão otimizado foi aplicado também em 6 amostras de pós para refrescos (A / Uva), (B / Morango), (C / Maracujá), (D / Uva), (E / Tangerina) e (F / Morango) adquiridas em supermercados da cidade de Aracaju / Sergipe, Brasil. As análises foram realizadas por ICP OES.

Os resultados das análises das amostras de pós para refrescos estão apresentados na Tabela 21. Neste trabalho, os elementos As, Ba, Cd, Co, Cr, Ni, Pb, Sn e V obtiveram concentrações abaixo dos seus LQ. As concentrações dos demais elementos variaram entre $0,53 \pm 0,03$ (Mn) e $448 \pm 8,3 \mu\text{g g}^{-1}$ (Fe) para os microelementos e entre $31,3 \pm 0,7$ (Mg) e $12125 \pm 71,9 \mu\text{g g}^{-1}$ (K) para as concentrações dos macroelementos.

Os resultados se mostraram semelhantes aos resultados das análises utilizando o procedimento de digestão ácida da mistura $\text{HNO}_3+\text{HF}+\text{H}_2\text{O}_2$, visualizando também que os macroelementos Ca, K, Na, P e S obtiveram maiores concentrações.

O Al, Fe e Ti foram os microelementos com maiores concentrações determinadas nas amostras. As concentrações de Al estiveram entre $< 4,30$ (A/Uva e D/Uva) e $32,7 \pm 0,23 \mu\text{g g}^{-1}$ (F/Morango) presente nas amostras pode estar relacionado com a composição das embalagens utilizadas para armazenamento do alimento. O Fe foi o elemento com maior concentração entre os microelementos nas amostras, variando entre $4,14 \pm 0,12$ (C / Maracujá) e $448 \pm 8,3 \mu\text{g g}^{-1}$ (F/Morango). As amostras (C/Maracujá) e (D/Uva) obtiveram menores concentrações $4,14 \pm 0,12$ e $11,6 \pm 0,1 \mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente, pois são as marcas que não fortificaram com ferro os refrescos.

Como no caso anterior do procedimento usando a mistura $\text{HNO}_3+\text{HF}+\text{H}_2\text{O}_2$, esses resultados podem ser explicados devido as marcas, fortificarem os pós para refrescos com ferro, para repor a quantidade de ferro no organismo humano. As concentrações de Fe nas embalagens estavam de acordo com as concentrações determinadas pelo método proposto. As concentrações de Ti entre $< 0,20$ (A/Uva) e $209 \pm 8,2 \mu\text{g g}^{-1}$ (C/Maracujá) podem ser explicadas como no método proposto anteriormente com a mistura $\text{HNO}_3+\text{HCl}+\text{H}_2\text{O}_2$, devido a presença do TiO_2 como pigmento base em corantes presentes nos refrescos em pó informado nas embalagens das amostras, sendo extraído pela mistura aplicada nesta seção. Quando comparada com

as concentrações obtidas pela mistura $\text{HNO}_3+\text{HF}+\text{H}_2\text{O}_2$, foram menos quantificados, mostrando que a determinação é parcial para o titânio usando a mistura $\text{HNO}_3+\text{HCl}+\text{H}_2\text{O}_2$.

Tabela 21. Resultado das concentrações dos elementos em pó para refrescos por ICP OES usando a mistura HNO₃+HCl+H₂O₂.

Amostras	Al µg g ⁻¹	Ca (%)	Cu µg g ⁻¹	Fe µg g ⁻¹	K µg g ⁻¹	Mg µg g ⁻¹	Mn µg g ⁻¹	Na (%)	P (%)	S (%)	Sr µg g ⁻¹	Ti µg g ⁻¹	Zn µg g ⁻¹
A / Uva	< 4,3	0,376 ± 0,002	0,85 ± 0,026	350 ± 2,6	502 ± 2,0	31,3 ± 0,7	2,51 ± 0,037	0,517 ± 0,0016	0,169 ± 0,0016	0,301 ± 0,0008	2,14 ± 0,069	< 0,2	< 0,5
B / Morango	13,3 ± 0,55	0,392 ± 0,002	0,94 ± 0,05	343 ± 8,4	344 ± 10,1	86,5 ± 2,0	0,94 ± 0,016	0,783 ± 0,0031	0,209 ± 0,0027	0,113 ± 0,0008	7,21 ± 0,09	26,7 ± 3,7	0,64 ± 0,03
C / Maracujá	5,94 ± 0,18	0,088 ± 0,001	< 0,4	4,14 ± 0,12	91,2 ± 3,0	127 ± 3,0	< 0,3	0,340 ± 0,0028	0,046 ± 0,0004	0,044 ± 0,0007	2,72 ± 0,03	209 ± 8,2	0,58 ± 0,01
D / Uva	< 4,3	1,191 ± 0,006	2,95 ± 0,11	11,6 ± 0,1	12125 ± 71,9	98,4 ± 0,6	1,24 ± 0,0004	0,293 ± 0,0012	0,668 ± 0,005	0,407 ± 0,001	7,60 ± 0,11	41,2 ± 3,7	1,40 ± 0,03
E / Tangirina	14,4 ± 0,49	0,709 ± 0,006	1,81 ± 0,07	421 ± 6,3	668 ± 5,7	440 ± 2,8	1,30 ± 0,001	0,494 ± 0,0018	0,363 ± 0,0013	0,109 ± 0,0002	13,6 ± 0,12	42,4 ± 3,0	2,01 ± 0,08
F / Morango	32,7 ± 0,23	0,714 ± 0,006	< 0,4	448 ± 8,3	< 6,7	162 ± 7,5	0,53 ± 0,03	0,848 ± 0,0037	0,315 ± 0,0013	0,107 ± 0,002	< 0,4	63,2 ± 1,9	< 0,5

Resultados expressos como média ± desvio padrão (n = 3).

5.4. Comparação entre os dois procedimentos de digestão de amostra usando as misturas $\text{HNO}_3 + \text{HF} + \text{H}_2\text{O}_2$ e $\text{HNO}_3 + \text{HCl} + \text{H}_2\text{O}_2$

Na Tabela 22, está apresentado o resumo estatístico das concentrações de 14 elementos quantificados obtidos pela aplicação dos dois procedimentos de digestão propostos desenvolvidos neste trabalho usando as misturas $\text{HNO}_3 + \text{HF} + \text{H}_2\text{O}_2$ e $\text{HNO}_3 + \text{HCl} + \text{H}_2\text{O}_2$, em seis amostras de pós para refresco. Os elementos As, Ba, Be, Bi, Cd, Co, Cr, Ni, Pb e Sn obtiveram concentrações abaixo dos seus respectivos LQ's e por tanto não estão presentes no resumo estatístico.

É possível observar na Tabela 22 que houve semelhanças nos resultados das concentrações médias dos elementos Ca, Cu, K, Mg, Mn, Na, P e S para os dois procedimentos de digestão propostos usando HF ou HCl. Os elementos Fe e Sr nos dois métodos propostos obtiveram concentrações médias divergentes mostrando que as condições de digestão no procedimento da mistura $\text{HNO}_3 + \text{HF} + \text{H}_2\text{O}_2$ contribue com a determinação de Fe e Sr. Não foi possível o cálculo das concentrações médias de Al e Zn pelo procedimento da mistura $\text{HNO}_3 + \text{HF} + \text{H}_2\text{O}_2$ e V da mistura $\text{HNO}_3 + \text{HCl} + \text{H}_2\text{O}_2$, uma vez que apresentaram concentrações abaixo do limite de quantificação do método proposto. As concentrações de Ti determinadas pelo procedimento da mistura $\text{HNO}_3 + \text{HF} + \text{H}_2\text{O}_2$ se mostra mais eficiente do que da mistura $\text{HNO}_3 + \text{HCl} + \text{H}_2\text{O}_2$, já que se faz uso do HF na digestão das amostras.

A análise da regressão linear foi aplicada para avaliar estatisticamente a comparação entre os dois métodos propostos, utilizando as concentrações médias dos elementos Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P, S e Sr. A Figura 14 mostra o gráfico construído através da análise da regressão linear pelo logaritmo das concentrações médias dos elementos utilizando o método proposto da mistura $\text{HNO}_3 + \text{HCl} + \text{H}_2\text{O}_2$ *versus* o logaritmo das concentrações médias do método da mistura $\text{HNO}_3 + \text{HF} + \text{H}_2\text{O}_2$. O gráfico de regressão linear e a equação da reta estão expressos com intervalo de 95% de confiança. Para a regressão linear dos dois métodos analíticos produzirem resultados idênticos, em uma situação ideal, os valores de intercepto devem ser iguais a zero ($b = 0$) e a inclinação da curva (a) e o coeficiente de correlação (r) devem ser iguais a 1, ($a = r = 1$) [Miller & Miller, 2010].

Tabela 22. Resumo estatístico das concentrações dos elementos quantificados nas seis amostras de pós para refresco pelos dois procedimentos propostos.

	Al $\mu\text{g g}^{-1}$	Ca (%)	Cu $\mu\text{g g}^{-1}$	Fe $\mu\text{g g}^{-1}$	K (%)	Mg $\mu\text{g g}^{-1}$	Mn $\mu\text{g g}^{-1}$	Na (%)	P (%)	S (%)	Sr $\mu\text{g g}^{-1}$	Ti (%)	V $\mu\text{g g}^{-1}$	Zn $\mu\text{g g}^{-1}$
Procedimento HNO₃+HF+H₂O₂														
n	N.D.	6	5	4	6	6	6	6	6	6	6	5	5	N.D.
Média	N.D.	0,536	1,51	395	0,275	167	1,59	0,57	0,33	0,18	9,36	0,126	1,091	N.D.
Mediana	N.D.	0,568	1,52	395	0,051	131	1,59	0,47	0,31	0,11	6,84	0,064	0,502	N.D.
Máximo	N.D.	0,876	2,86	440	1,420	445	2,76	0,94	0,70	0,41	23,4	0,400	3,610	N.D.
Mínimo	N.D.	0,098	0,63	350	0,015	32,7	0,39	0,27	0,05	0,05	1,87	0,033	0,240	N.D.
Desvio padrão	N.D.	0,291	0,93	45,8	0,561	147	0,78	0,28	0,23	0,14	8,09	0,155	1,423	N.D.
Procedimento HNO₃+HCl+H₂O₂														
n	4	6	4	6	5	6	5	6	6	6	5	5	N.D.	4
Média	16,6	0,578	1,64	263	0,275	158	1,30	0,55	0,30	0,18	6,65	0,008	N.D.	1,16
Mediana	13,9	0,551	1,38	347	0,050	113	1,24	0,51	0,26	0,11	7,21	0,004	N.D.	1,02
Máximo	32,7	1,191	2,95	448	1,213	440	2,51	0,85	0,67	0,41	13,6	0,021	N.D.	2,01
Mínimo	5,94	0,088	0,85	4,14	0,009	31,3	0,53	0,29	0,05	0,04	2,14	0,003	N.D.	0,58
Desvio padrão	11,4	0,381	0,98	202	0,525	145	0,74	0,23	0,21	0,14	4,62	0,008	N.D.	0,68

N.D.: Não determinado // n = número de amostras.

O coeficiente de correlação (r) apresentou valor de 0,9987 e o intercepto da reta (b) apresentou valor 0,031, com limites de confiança superior e inferior de +0,0789 e -0,0169 respectivamente. Esse intervalo contempla o valor ideal zero ($b=0$). A inclinação da curva (a) apresentou valor 1,0379, com limites de confiança superior e inferior de 1,0804 e +0,9954 respectivamente, incluindo no intervalo o valor ideal unitário ($a=1$). Desta forma, é possível observar na Figura 14 a partir da regressão linear que houve uma boa correlação ($r = 0,9987$) entre os valores dos logaritmos das concentrações médias dos elementos Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P, S e Sr entre os dois procedimentos de digestão, mostrando que é possível obter resultados de concentrações sem diferença significativa empregando os dois métodos propostos.

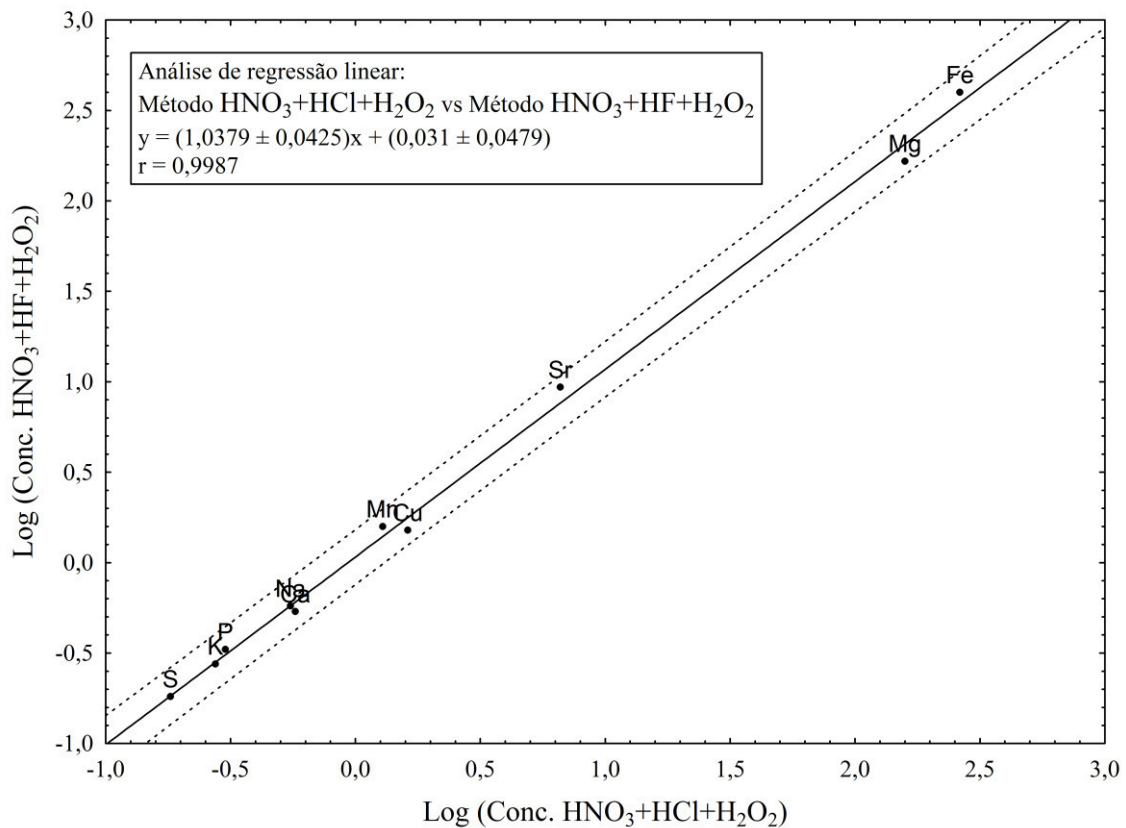


Figura 14. Gráfico de análise de regressão linear para Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P, S e Sr.

5.5. Contribuição dos minerais através do consumo de pó para refresco

Considerando as amostras analisadas de pó para refresco, os resultados demonstraram que a concentração média para os macroelementos foi de 0,578% para Ca; 0,275% para K; 167 $\mu\text{g g}^{-1}$ para Mg; 0,57% para Na; 0,33% para P; 0,18% para S. Já para os microelementos e elementos traço a concentração média foi de 16,6 $\mu\text{g g}^{-1}$ para Al; 1,64 $\mu\text{g g}^{-1}$ para Cu; 395 $\mu\text{g g}^{-1}$ para Fe; 1,59 $\mu\text{g g}^{-1}$ para Mn; 9,36 $\mu\text{g g}^{-1}$ para Sr; 1,09 $\mu\text{g g}^{-1}$ para V e 1,16 $\mu\text{g g}^{-1}$ para Zn e 0,126% para Ti. Os concentrações para As, Ba, Be, Bi, Cd, Co, Cr, Ni, Pb e Sn estiveram abaixo do LoQ dos métodos analíticos propostos para análise por ICP OES.

A Tabela 23 mostra as concentrações dos elementos por porções de 6 g de pó para refresco analisados no presente trabalho e suas contribuições para o índice diário recomendado (IDR), comparando com estes valores para indivíduos adultos, gestantes, crianças e lactantes estabelecidos pela ANVISA (resolução RDC N° 269, de 22 de setembro de 2005). No entanto, a ANVISA não estabelece valores de IDR para os elementos Al, K, Na, S, Sr, Ti e V. As concentrações por porções de 6 g foram calculadas através das maiores concentrações médias apresentadas pela Tabela 22, sendo a quantidade necessária para preparar 200 mL de refresco em pó, quantidade indicada nas embalagens dos produtos e adotada neste trabalho como consumo médio diário.

Tabela 23. Resultados das concentrações médias e das massas dos elementos em porções de 6 g de pó para refresco, com porcentagens de contribuição ao IDR.

	Al μg g ⁻¹	Ca (%)	Cu μg g ⁻¹	Fe μg g ⁻¹	K (%)	Mg μg g ⁻¹	Mn μg g ⁻¹	Na (%)	P (%)	S (%)	Sr μg g ⁻¹	Ti (%)	V μg g ⁻¹	Zn μg g ⁻¹
Concentração média	16,6	0,578	1,64	395	0,275	167	1,59	0,57	0,33	0,18	9,36	0,126	1,09	1,16
	Al (μg)	Ca (mg)	Cu (μg)	Fe (mg)	K (mg)	Mg (mg)	Mn (μg)	Na (mg)	P (mg)	S (mg)	Sr (μg)	Ti (mg)	V (μg)	Zn (μg)
Pó para refresco*	99,6	34,7	9,84	2,37	16,5	1,00	9,5	34,2	19,8	10,8	56,1	7,56	6,5	7,0
Adultos**	N.I.	1000	900	14,0	N.I.	260	2300	N.I.	700	N.I.	N.I.	N.I.	N.I.	7000
Contribuição %	-	3,50	1,10	17,0	-	0,38	0,41	-	2,83	-	-	-	-	0,1
Gestante**	N.I.	1200	1000	27,0	N.I.	220	2000	N.I.	1250	N.I.	N.I.	N.I.	N.I.	11000
Contribuição %	-	2,90	0,98	8,80	-	0,45	0,47	-	1,60	-	-	-	-	0,06
Crianças** 7 – 10 anos	N.I.	700	440	9,0	N.I.	100	1500	N.I.	1250	N.I.	N.I.	N.I.	N.I.	5600
Contribuição %	-	4,96	2,24	26,3	-	1,00	0,63	-	1,60	-	-	-	-	0,12
Lactantes**	N.I.	1000	1300	15,0	N.I.	270	2600	N.I.	1250	N.I.	N.I.	N.I.	N.I.	9500
Contribuição %	-	3,50	0,76	15,8	-	0,37	0,36	-	1,60	-	-	-	-	0,07

*Valores obtidos baseados nas concentrações médias obtidas na Tabela 22 para uma porção de 6 gramas de pó para refresco // **Valores de ingestão diária recomendada (IDR) (ANVISA - resolução RDC N° 269, de 22 de setembro de 2005). // N.I. = Não informado.

Os macroelementos apresentaram maior quantidade nos pós para refrescos, como pode ser observado pela porção de consumo diário conforme a Tabela 23. Os maiores valores de consumo médio diário foram encontrados para Ca (34,7 mg) e Na (34,2 mg), onde o Na não apresenta valor estabelecido de IDR e sua porcentagem de contribuição não pode ser determinada. O consumo médio diário de Ca através de pó para refresco, representa variação de 2,90 a 4,96 % do IDR entre os indivíduos adultos, gestantes, crianças e lactantes, com a segunda maior porcentagem de contribuição desse mineral entre os elementos estudados.

Em seguida, o P e K apresentaram consumo médio diário de 16,5 e 19,8 mg, sendo que o K não apresenta valor de IDR pela ANVISA. A contribuição de P através do pó para refrescos representa quantidades de 1,60 e 2,83 % do IDR entre os indivíduos. Dentre os microelementos, o Fe e Ti foram os que apresentaram maior consumo médio diário através dos pós para refrescos, com valores de 2,37 e 7,56 mg respectivamente. A porcentagem do Fe representa entre 8,80 e 26,3 % do IDR estabelecido entre indivíduos adultos, gestantes, crianças e lactantes, sendo o elemento com maior porcentagem de contribuição ao IDR através dos refrescos.

O elemento Ti não contém valor de massa de IDR pela ANVISA, porém, apresenta maior consumo médio diário entre os microelementos nesse tipo de alimento. Como mencionado ao longo do presente estudo, o Ti faz parte da composição dos pós para refrescos, como pigmento base dos corantes utilizados nesse alimento. Entretanto, todos os elementos avaliados apresentaram consumo médio diário bem abaixo do IDR, com exceção do Fe que apresentou porcentagens de contribuição ao IDR relevantes já que os pós para refrescos são fortificados com ferro. Logo, estes alimentos não podem ser usados diretamente como alimentação completa, pois não atingem o IDR para adultos, gestantes, crianças entre 7-10 anos e lactantes.

6. CONCLUSÃO

Os dois métodos analíticos propostos foram eficientes, exatos e precisos para determinação simultânea de Al, As, Ba, Be, Bi, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, P, Pb, S, Sn, Sr, Ti, V e Zn em amostras de pós para refrescos por ICP OES.

Os elementos Al, As, Ba, Be, Bi, Cd, Co, Cr, Ni, Pb, Sn e Zn apresentaram concentrações abaixo dos seus limites de quantificação (LQ) nas amostras de pó para refresco aplicando o método de digestão usando a mistura $\text{HNO}_3+\text{HF}+\text{H}_2\text{O}_2$. Os elementos As, Ba, Be, Bi, Cd, Co, Cr, Ni, Pb, Sn e V apresentaram concentrações abaixo dos seus limites de quantificação (LQ) nas amostras usando a mistura $\text{HNO}_3+\text{HCl}+\text{H}_2\text{O}_2$, ambos usando um bloco digestor com sistema fechado.

Os elementos As, Pb, Cd e Sn apresentaram concentrações abaixo dos limites máximos de contaminantes inorgânicos em alimentos estabelecido pela Resolução - RDC N° 42, de 29 de agosto de 2013. Os pós para refrescos apresentaram concentrações médias diárias e porcentagem de contribuição dos elementos bem abaixo da ingestão diária recomendada para um consumo diário de 200 mL da bebida, no entanto, o ferro apresentou relevante contribuição.

A utilização do planejamento fatorial fracionário 2^{5-1} mostrou ser uma eficiente ferramenta na otimização das variáveis no processo de preparação das amostras de pós para refrescos. O estudo possibilitou observar que a utilização somente de HNO_3 e H_2O_2 não é suficiente para solubilizar as formas de óxidos do elemento Ti presente nas amostras, sendo assim, necessário a utilização do HF ou HCl no processo de digestão das amostras, proporcionando uma maior eficiência, principalmente com a utilização de HF na determinação total do Ti.

A otimização dos parâmetros operacionais vazão do gás de nebulização (VGN) e potência de rádio frequência (PRF) do equipamento de ICP OES, foi possível com a aplicação do planejamento Doehlert, ajustando a melhor condição de robustez do plasma na determinação multielementar de constituintes inorgânicos em pó para refresco. A análise multivariada de dados, empregando a PCA e HCA, se mostrou também uma ferramenta quimiométrica na avaliação dos procedimentos analíticos mostrando a tendência e as similaridades entre os experimentos propostos pelo planejamento fatorial fracionário 2^{5-1} .

Com a aplicação da análise de regressão linear, foi possível avaliar estatisticamente a comparação entre os dois métodos propostos, mostrando uma boa correlação, não apresentando diferença significativa para nível de 95%.

Neste trabalho, os valores de concentrações médias obtidas foram avaliados em relação aos índices diários recomendados (IDR) para indivíduos adultos, gestantes, crianças (7-10 anos) e lactantes estabelecidos pela Agência de Nacional Vigilância Sanitária (ANVISA), mostrando que o pó para refresco contribuindo com IDR entre 0,07% (Zn) para lactantes e 26,3% (Fe) para crianças (7-10 anos).

REFERÊNCIAS

ALTUNDAG, H. & TUZEN, M. Comparison of dry, wet and microwave digestion methods for the multi element determination in some dried fruit samples by ICP OES. *Food and Chemical Toxicology*, v. 49, p. 2800–2807, 2011.

ALZHRANI, H. R.; KUMAKLI, H.; AMPIAH, E.; MEHARI, T.; THORNTON, A. J.; BABYAK, C. M.; FAKAYODE, S. O. Determination of macro, essential trace elements, toxic heavy metal concentrations, crude oil extracts and ash composition from Saudi Arabian fruits and vegetables having medicinal values. *Arabian Journal of Chemistry*, v. 10, Issue 7, p. 906-913, 2017.

AMORELLO, D.; BARRECA, S.; BRUNO, M.; MILIA, A.; ORECCHIO, S.; PETTIGNANO, A. Chemical characterization of ancient liturgical vestment (chasuble) by Inductively Coupled Plasma–Optical Emission Spectrometry (ICP OES). *Microchemical Journal*, v. 129, p. 305–309, 2016.

AMORIM, F. A. C.; COSTA, V. C.; DA SILVA, E. G. P.; LIMA, D. C.; JESUS, R. M.; BEZERRA, M. A. Multivariate optimization of simple procedure for determination of Fe and Mg in cassava starch employing slurry sampling and FAAS. *Food Chemistry*, v. 227, p. 41–47, 2017.

ANDRADE, C. K.; BRITO, P. M. K.; DOS ANJOS, V. E.; QUINÁIA, S. P. Determination of Cu, Cd, Pb and Cr in Yogurt by Slurry Sampling Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry: A Case Study for Brazilian Yogurt. *Food Chemistry*, v. 240, p. 268-274, 2018.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. Resolução – RE Nº 899, de 29 de maio de 2003.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC Nº 42, de 29 de Agosto de 2013, Dispõe sobre o Regulamento Técnico MERCOSUL sobre Limites Máximos de Contaminantes Inorgânicos em Alimentos, 2013.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC Nº 269, de 22 de setembro de 2005. Aprova o regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteínas, vitaminas e minerais. Publicado no Diário Oficial da União, Brasília, DF, 2005.

AUGUSTO, A. S.; BARSANELLI, P. L.; PEREIRA, F. M. V.; PEREIRA-FILHO, E. R. Calibration strategies for the direct determination of Ca, K, and Mg in commercial samples of powdered milk and solid dietary supplements using laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS). *Food Research International*, v. 94, p. 72–78, 2017.

BEZERRA, M. A.; BRUNS, R. E.; FERREIRA, S. L. C. Statistical design principal component analysis optimization of a multiple response procedure using cloud point extraction and simultaneous determination of metals by ICP OES. *Analytica Chimica Acta*, v. 580, p. 251–257, 2006.

BEZERRA, M. A.; SANTELLI, R. E.; OLIVEIRA, E. P.; VILLAR, L. S.; ESCALEIRA, L. A. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta*, v. 76, p. 965–977, 2008.

BIATA, N. R.; NYABA, L.; RAMONTJA, J.; MKETO, N.; NOMNGONGO, P. N. Determination of antimony and tin in beverages using inductively coupled plasma-optical emission spectrometry after ultrasound-assisted ionic liquid dispersive liquid-liquid phase microextraction. *Food Chemistry*, v. 237, p. 904–911, 2017.

BILANDŽIĆ, N.; SEDAK, M.; ĐOKIĆ, M.; VARENINA, I.; KOLANOVIĆ, B. S.; BOŽIĆ, Đ.; BRSTILO, M.; SIMIĆ, B. Determination of zinc concentrations in foods of animal origin, fish and shellfish from Croatia and assessment of their contribution to dietary intake. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 35, p. 61–66, 2014.

BODNAR, M. & KONIECZKA, P. Evaluation of candidate reference material obtained from selenium-enriched sprouts for the purpose of selenium speciation analysis. *LWT - Food Science and Technology*, v. 70, p. 286-295, 2016.

BORGES, L.; BILO, F.; DALIPI, R.; BONTEMPI, E.; DEPERO, L. E. Total reflection X-ray fluorescence as a tool for food screening. *Spectrochimica Acta Part B*, v. 113, p. 1–15, 2015.

BRASIL. Decreto-lei nº 986, de 21 de outubro de 1969. Institue normas básicas sobre alimentos.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA. Portaria Nº 544, 16 de novembro de 1998.

BRENNER, I. B. & ZANDER, A. T. Axially and radially viewed inductively coupled plasmas: a critical review. *Spectrochimica Acta Part B*, v. 55, p. 1195-1240, 2000.

BRESSY, F. C.; BRITO, G. B.; BARBOSA, I. S.; TEIXEIRA, L. S. G.; KORN, M. G. A. Determination of trace element concentrations in tomato samples at different stages of maturation by ICP OES and ICP-MS following microwave-assisted digestion. *Microchemical Journal*, v. 109, p. 145–149, 2013.

BRITO, A. L. B.; OLIVEIRA, A. F.; NOGUEIRA, A. R. A.; PESSOA, A. G. G.; PONTES, L. F. B. L. Determination of inorganic constituents and physicochemical characterization of functional flour samples. *Microchemical Journal*, v. 132, p. 112–118, 2017.

CACCIOLA, F.; DUGO, P.; MONDELLO, L. Multidimensional liquid chromatography in food analysis. *Trends in Analytical Chemistry*, v. 96, p. 116-123, 2017.

CALEGUER, V. F. & BENASSI, M. T. Efeito da adição de polpa, carboximetilcelulose e goma arábica nas características sensoriais e aceitação de preparados em pó para refresco sabor laranja. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 27, p. 270-277, 2007.

CALEGUER, V. F.; TOFFOLI, E. C.; BENASSI, M. T. Avaliação da aceitação de preparados sólidos comerciais para refresco sabor laranja e correlação com parâmetros físico-químicos. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 27, p. 587-598, 2006.

CANDIOTI, L. V.; DE ZAN, M. M., CÁMARA, M. S.; GOICOECHEA, H. C. Experimental design and multiple response optimization. Using the desirability function in analytical methods development. *Talanta*, v. 124, p. 123–138, 2014.

CATARINO, S.; TRANCOSO, I. M.; SOUSA, R. B.; CURVELO-GARCIA, A. S. Grape must mineralization by high pressure microwave digestion for trace element analysis: development of a procedure. *Ciência Técnica Vitivinícola*, v. 25, p. 87-93, 2010.

CHANUKYA, B. S. & RASTOGI, N. K. Ultrasound assisted forward osmosis concentration of fruit juice and natural colorant. *Ultrasonics Sonochemistry*, v. 34, p. 426–435, 2017.

CINDRIĆ, I. J.; ZEINER, M.; KRÖPPL, M.; STINGEDER, G. Comparison of sample preparation methods for the ICP AES determination of minor and major elements in clarified apple juices. *Microchemical Journal*, v. 99, p. 364–369, 2011.

COSTA, S. S. L.; PEREIRA, A. C. L.; PASSOS, E. A.; ALVES, J. P. H.; GARCIA, C. A. B.; ARAUJO, R. G. O. Multivariate optimization of analytical method for the analysis of dog and cat foods by ICPOES. *Talanta*, v. 108, p. 157–164, 2013.

CATÃO, M. H. C. V.; DA SILVA, A. D. L.; OLIVEIRA, R. M. Propriedades físico-químicas de preparados sólidos para refrescos e sucos industrializados. *RFO - Revista da Faculdade de Odontologia – UPF*, Passo Fundo, v. 18, p. 12-17, 2013.

DENG, Y.; WU, X.; TIAN, Y.; ZOU, Z.; HOUA, X.; JIANG, X. Sharing one ICP source for simultaneous elemental analysis by ICP-MS/OES: Some unique instrumental capabilities. *Microchemical Journal*, v. 132, p. 401–405, 2017.

DESIDERI, D.; MELI, M. A.; ROSELLI, C. Determination of essential and non-essential elements in some medicinal plants by polarised X ray fluorescence spectrometer (EDPXRF). *Microchemical Journal*, v. 95, p. 174–180, 2010.

DJINOVIC-STOJANOVICA, J. M.; NIKOLIC, D. M.; VRANIC, D. V.; BABIC, J. A.; MILIJASEVIC, M. P.; PEZO, L. L.; JANKOVIC, S. D. Zinc and magnesium in different types of meat and meat products from the Serbian market. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 59, p. 50–54, 2017.

DOS SANTOS, I. F.; DOS SANTOS, A. M. P.; BARBOSA, U. A.; LIMA, J. S.; DOS SANTOS, D. C.; MATOS, G. D. Multivariate analysis of the mineral content of raw and cooked okra (*Abelmoschus esculentus* L.). *Microchemical Journal*, v. 110 p. 439–443, 2013.

FARIÑAS, J. C.; RUCANDIO, I.; POMARES-ALFONSO, M. S.; VILLANUEVA-TAGLE, M. E.; LARREA, M. T. Determination of rare earth and concomitant elements in magnesium alloys by inductively coupled plasma optical emission spectrometry. *Talanta*, v. 154, p. 53–62, 2016.

FAZAEI, M.; EMAM-DJOMEH, Z.; ASHTARI, A. K.; OMID, M. Effect of spray drying conditions and feed composition on the physical properties of black mulberry juice powder. *Food and Bioproducts Processing*, v. 90, p. 667–675 2012.

FERREIRA, S. L. C. Introdução às Técnicas de Planejamento de Experimentos. Editora Vento Leste, 1ª ed. Salvador-Ba, 2015.

FEIST, B. & MIKULA, B. Preconcentration of heavy metals on activated carbon and their determination in fruits by inductively coupled plasma optical emission spectrometry. *Food Chemistry*, v. 147, p. 302–306, 2014.

FLORES, É. M. M.; BARIN, J. S.; MESKO, M. F.; KNAPP, G. Sample preparation techniques based on combustion reactions in closed vessels — A brief overview and recent applications. *Spectrochimica Acta Part B*, v. 62, p. 1051–1064, 2007.

FREELAND-GRAVES, J. H.; MOUSA, T. Y.; KIM, S. International variability in diet and requirements of manganese: Causes and consequences. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, v. 38, p. 24–32, 2016.

FROES, R. E. S.; NETO, BORGES, W.; SILVA, N. O. C.; NAVEIRA, R. L. P.; NASCENTES, C. C.; DA SILVA, J. B. B. Multivariate optimization by exploratory analysis applied to the determination of microelements in fruit juice by inductively

coupled plasma optical emission spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, v. 64, p. 619–622, 2009.

FUNDACENTRO. Ministério do trabalho e previdência social. Dióxido de Titânio. <<http://www.fundacentro.gov.br/nanotecnologia/dioxido-de-titanio>>, Acessado em 08 de julho de 2017.

GHARIBZAHEDI, S. M. T. & JAFARI, S. M. The importance of minerals in human nutrition: Bioavailability, food fortification, processing effects and nanoencapsulation. *Trends in Food Science & Technology*, v. 62, p. 119–132, 2017.

GÓMEZ-NIETO, B.; GISMERA, M^a J.; SEVILLA, M^a T.; PROCOPIO, J. R. Determination of essential elements in beverages, herbal infusions and dietary supplements using a new straightforward sequential approach based on flame atomic absorption spectrometry. *Food Chemistry*, v. 219, p. 69–75, 2017.

GUIMARÃES-SILVA, A. K.; DE LENA, J. C.; FROES, R. E. S.; COSTAC, L. M.; NASCENTES, C. C. Evaluation of Signal-to-Background and Mg II/Mg I Ratios as Response for the Optimization of Rare Earth Elements Determination by Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry. *J. Braz. Chem. Soc.*, v. 23, p. 753-762, 2012.

GÜRKAN, R. & ALTUNAY, N. Determination of total Sn in some canned beverages by FAAS after separation and preconcentration. *Food Chemistry*, v. 177, p. 102–110, 2015.

HEIDARIZADI, E. & TABARAKI, R. Simultaneous spectrophotometric determination of synthetic dyes in food samples after cloud point extraction using multiple response optimizations. *Talanta*, v. 148, p. 237–246, 2016.

HE, M.; HUANG, L.; ZHAO, B.; CHEN, B.; HU, B. Advanced functional materials in solid phase extraction for ICP-MS determination of trace elements and their species - A review. *Analytica Chimica Acta*, v. 973, p. 1-24, 2017.

HIDALGO, M. J.; FECHNER, D. C.; MARCHEVSKY, E. J.; PELLERANO, R. G. Determining the geographical origin of *Sechium edule* fruits by multielement analysis and advanced chemometric techniques. *Food Chemistry*, v. 210, p. 228–234, 2016.

HWANG, J.; KIM, J.; MOON, H.; YANG, J.; KIM, M. Determination of sodium contents in traditional fermented foods in Korea. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 56, p. 110–114, 2017.

INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia. Orientação sobre a validação de métodos analíticos. DOQ-CGCRE-008, Revisão 05, Agosto, 2016.

INMETRO. Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia. Preparado sólido artificial para refresco (pó para refresco). Disponível em: <http://www.inmetro.gov.br/consumidor/produtos/refresco.asp>, acessado em julho de 2017.

IUPAC. Analytical Chemistry Division, Commission on Spectrochemical and Optical Procedures for Analysis, Nomenclature, symbols, units and their usage in spectrochemical analysis-II. Data interpretation, *Spectrochim. Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, v. 33 p. 241–245, 1978.

JUNIOR, J. B. P. & DANTAS, K. G. F. Evaluation of inorganic elements in cat's claw teas using ICP OES and GF AAS. *Food Chemistry*, v. 196, p. 331–337, 2016.

KHAN, N., JEONG, I. S.; HWANG, I. M.; KIM, J. S.; CHOI, S. H.; NHO, E. Y.; CHOI, J. Y.; PARK, K. S.; KIM, K. S. Analysis of minor and trace elements in milk and yogurts by inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS). *Food Chemistry*, v. 147, p. 220–224, 2014.

KORN, M. G. A.; MORTE, E. S. B.; DOS SANTOS, D. C. M. B.; CASTRO, J. T.; BARBOSA, J. T. P.; TEIXEIRA, A. P.; FERNANDES, A. P.; WELZ, B.; DOS SANTOS, W. P. C.; DOS SANTOS, E. B. G. N.; KORN, M. Sample Preparation for the Determination of Metals in Food Samples Using Spectroanalytical Methods - A Review. *Applied Spectroscopy Reviews*, v. 43, p. 67-92, 2008.

KRUG, F. J. Métodos de preparo de amostra. Em: VI Workshop sobre preparo de amostras. Santa Maria, 2006.

KUMAR, N.; BANSAL, A.; SARMA, G. S.; RAWAL, R. K. Chemometrics tools used in analytical chemistry: An overview. *Talanta*, v. 123, p. 186–199, 2014.

KUULIALA, L.; ABATIH, E.; IOANNIDIS, A.-G.; VANDERROOST, M.; DE MEULENAER, B.; RAGAERT, P.; DEVLIEGHERE, F. Multivariate statistical analysis for the identification of potential seafood spoilage indicators. *Food Control*, v. 84, p. 49-60, 2018.

LAI, G.; CHEN, G.; CHEN, T. Speciation of As^{III} and As^V in fruit juices by dispersive liquid-liquid microextraction and hydride generation-atomic fluorescence spectrometry. *Food Chemistry*, v. 190, p. 158–163, 2016.

LO COCO, F.; MONOTTI, P.; COZZI, F.; ADAMI, G. Determination of cadmium and lead in fruit juices by stripping chronopotentiometry and comparison of two sample pretreatment procedures. *Food Control*, v. 17, p. 966–970, 2006.

LUIS, G.; RUBIO, C.; REVERT, C.; ESPINOSA, A.; GONZÁLEZ-WELLER, D.; GUTIÉRREZ, A. J., HARDISSON, A. Dietary intake of metals from yogurts analyzed by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES). *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 39, p. 48–54, 2015.

LUNDBERG-HALLÉN, N. & OHRVIK, V. Key foods in Sweden: Identifying high priority foods for future food composition analysis. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 37, p. 51–57, 2015.

MAKONNEN, Y. & BEAUCHEMIN, D. Investigation of a measure of robustness in inductively coupled plasma mass spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, v. 103–104, p. 57–62, 2015.

MENDONÇA, A. J. G.; VAZ, M. I. P. M.; DE MENDONÇA, D. I. M. D. Activity coefficients in the evaluation of food preservatives. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, v. 2, p. 175-179, 2001.

MERMET, J. M. Is it still possible, necessary and beneficial to perform research in ICP-atomic emission spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, v. 20, p. 11–16, 2005.

MERMET, J. M. Use of Magnesium as a Test Element for Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry Diagnostics, *Analytica Chimica Acta*, v. 250, p. 85-94, 1991.

MILLER, J. N. & MILLER, J. C. *Statistic and Chemometrics for Analytical Chemistry*. 6^a ed. London, *Pearson Education Limited*, 2010.

MIR-MARQUÉS, A.; CERVERA, M. L.; LA GUARDIA, M. Mineral analysis of human diets by spectrometry methods. *Trends in Analytical Chemistry*, v. 82, p. 457–467, 2016.

MONTASER, A. & GOLIGHTLY, D. W. *Inductively coupled plasma in analytical atomic spectroscopy*. 2ed. New York, VHC Publisher, 1992.

MULLER, E. I.; MULLER, C. C.; SOUZA, J. P.; MULLER, A. L. H.; ENDERS, M. S. P., DONEDA, M., FROHLICH, A. C.; IOP, G. D.; ANSCHAU, K. F. Green microwave-assisted wet digestion method of carbohydrate-rich foods with hydrogen peroxide using single reaction chamber and further elemental determination using ICP OES and ICP-MS. *Microchemical Journal*, v. 134, p. 257–261, 2017.

NAKADI, F. V.; ROSA, L. R.; DA VEIGA, M. A. M. S. Determination of sulfur in coal and ash slurry by high-resolution continuum source electrothermal molecular absorption spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B*, v. 88, p. 80–84, 2013.

NAVARRO-PASCUAL-AHUIR, M.; LERMA-GARCÍA, M. J.; SIMÓ-ALFONSO, E. F.; HERRERO-MARTÍNEZ, J. M. Quality control of fruit juices by using organic acids determined by capillary zone electrophoresis with poly(vinyl alcohol)-coated bubble cell capillaries. *Food Chemistry*, v. 188, p. 596–603, 2015.

NETO, B. B., SCARMINIO, I. S. e BRUNS, R. E., 2010. *Como fazer experimentos: Pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria*. 4^a ed., Porto Alegre, Ed. Bookman, 2010.

NÓBREGA, J. A.; PIROLA, C.; FIALHO, L. L.; ROTA, G.; JORDÃO, C. E. K. M. A. C.; POLLO, F. Microwave-assisted digestion of organic samples: How simple can it become. *Talanta*, v. 98, p. 272–276, 2012.

NOVAES, C. G., BEZERRA, M. A.; DA SILVA, E. G. P.; DOS SANTOS, A. M. P.; ROMÃO, I. L. S.; NETO, J. H. S. A review of multivariate designs applied to the optimization of methods based on inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES). *Microchemical Journal*, v. 128, p. 331–346, 2016.

NUALKAEKUL, S.; DEEPIKA, G.; CHARALAMPOPOULOS, D. Survival of freeze dried *Lactobacillus plantarum* in instant fruit powders and reconstituted fruit juices. *Food Research International*, v. 48, p. 627–633, 2012.

OHKI, A.; NAKAJIMA, T.; HIRAKAWA, S.; HAYASHI, K.; TAKANASHI, H. A simple method of the recovery of selenium from food samples for the determination by ICP-MS. *Microchemical Journal*, v. 124, p. 693–698, 2016.

OJEDA, C. B. & ROJAS, F. S. Determination of rhodium: Since the origins until today ICP OES and ICP-MS. *Talanta*, v. 71, p. 1–12, 2007.

OLIVEIRA, E. Sample Preparation for Atomic Spectroscopy: Evolution and Future Trends. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 14, p. 174–182, 2003.

OLIVEIRA, R. M.; ANTUNES, A. C. N.; VIEIRA, M. A.; MEDINA, A. L.; RIBEIRO, A. S. Evaluation of sample preparation methods for the determination of As, Cd, Pb, and Se in rice samples by GF AAS. *Microchemical Journal*, v. 124, p. 402–409, 2016.

OLIVEIRA, T. M.; PERES, J. A.; FELSNER, M. L.; JUSTI, K. C. Direct determination of Pb in raw milk by graphite furnace atomic absorption spectrometry (GF AAS) with electrothermal atomization sampling from slurries. *Food Chemistry*, v. 229, p. 721–725, 2017.

ORECCHIO, S.; AMORELLO, D.; RASO, M.; BARRECA, S.; LINO, C., DI GAUDIO, F. Determination of trace elements in gluten-free food for celiac people by ICP-MS. *Microchemical Journal*, v. 116, p. 163–172, 2014.

OZBEK, N. & BAYSAL, A. Determination of sulfur by high-resolution continuum source atomic absorption spectrometry: Review of studies over the last 10 years. *Trends in Analytical Chemistry*, v. 88, p. 62-76, 2017.

PEDRON, T.; SEGURA, F. R.; DA SILVA, F. F.; DE SOUZA, A. L.; MALTEZ, H. F.; BATISTA, B. L. Essential and non-essential elements in Brazilian infant food and other rice-based products frequently consumed by children and celiac population. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 49, p. 78-86, 2016.

PEREIRA, C. C.; SOUZA, A. O.; ORESTE, E. Q.; VIEIRA, M. A.; RIBEIRO, A. S. Evaluation of the use of a reflux system for sample preparation of processed fruit juices and subsequent determination of Cr, Cu, K, Mg, Na, Pb and Zn by atomic spectrometry techniques. *Food Chemistry*, v. 240, p. 959-964, 2018.

PLOEGAERTS, G.; DESMET, C.; KRIEKEN, M. V. Assay of sodium in food: Comparison of different preparation methods and assay techniques. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 45, p. 66–72, 2016.

POZZATTI, M.; NAKADI, F. V.; VALE, M. G. R.; WELZ, B. Simultaneous determination of nickel and iron in vegetables of Solanaceae family using high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry and direct solid sample analysis. *Microchemical Journal*, v. 133, p. 162–167, 2017.

PRIEGO-CAPOTE, F. & DE CASTRO, M. D. L. Ultrasound-assisted digestion: A useful alternative in sample preparation. *J. Biochem. Biophys. Methods*, v. 70, p. 299–310, 2007.

REINHOLDS, I.; BARTKEVICS, V.; SILVIS, I. C. J.; VAN RUTH, S. M.; ESSLINGER, S. Analytical techniques combined with chemometrics for authentication and determination of contaminants in condiments: A review. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 44, p. 56–72, 2015.

RUZIK, L. Speciation of challenging elements in food by atomic spectrometry. *Talanta*, v. 93, p. 18–31, 2012.

RYBICKA, I. & GLISZCZYNSKA-SWIGŁO, A. Minerals in grain gluten-free products. The content of calcium, potassium, magnesium, sodium, copper, iron, manganese, and zinc. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 59, p. 61–67, 2017.

SAIFULLAH, M.; YUSOF, Y. A.; CHIN, N. L.; AZIZ, M. G. Physicochemical and flow properties of fruit powder and their effect on the dissolution of fast dissolving fruit powder tablets. *Powder Technology*. v. 301, p. 396–404, 2016.

SANTOS, J. S.; TEIXEIRA, L. S. G.; DOS SANTOS, W. N. L.; LEMOS, V. A.; GODOY, J. M.; FERREIRA, S. L. C. Uranium determination using atomic

spectrometric techniques: An overview. *Analytica Chimica Acta*, v. 674, p. 143–156, 2010.

SERESHTI, H.; KHOJEH, V.; SAMADI, S. Optimization of dispersive liquid–liquid microextraction coupled with inductively coupled plasma–optical emission spectrometry with the aid of experimental design for simultaneous determination of heavy metals in natural waters. *Talanta*, v. 83, p. 885–890, 2011.

SHISHIR, M. R. I. & CHEN, W. Trends of spray drying: A critical review on drying of fruit and vegetable juices. *Trends in Food Science & Technology*, v. 65, p. 49–67, 2017.

SHRIVAS, K. & JAISWAL, N. K. Dispersive liquid–liquid microextraction for the determination of copper in cereals and vegetable food samples using flame atomic absorption spectrometry. *Food Chemistry*, v. 141, p. 2263–2268, 2013.

SIENER, R.; SEIDLER, A.; VOSS, S.; HESSE, A. The oxalate content of fruit and vegetable juices, nectars and drinks. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 45, p. 108–112, 2016.

SILVA, F. L. F.; DUARTE, T. A. O.; MELO, L. S., RIBEIRO, L. P. D.; GOUVEIA, S. T.; LOPES, G. S.; MATOS, W. O. Development of a wet digestion method for paints for the determination of metals and metalloids using inductively coupled plasma optical emission spectrometry. *Talanta*, v. 146, 188–194, 2016.

SILVA, F. V.; TREVIZAN, L. C.; SILVA, C. S.; NOGUEIRA, A. R. A.; NÓBREGA, J. A. Evaluation of inductively coupled plasma optical emission spectrometers with axially and radially viewed configurations. *Spectrochimica Acta Part B*, v. 57 p, 1905–1913, 2002.

SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. Fundamentos de Química Analítica, Editora Thomson, tradução da 8ª edição, 2006.

SOUZA, A. L.; COTRIM, M. E. B.; PIRES, M. A. F. An overview of spectrometric techniques and sample preparation for the determination of impurities in uranium nuclear fuel grade. *Microchemical Journal*, v. 106 p. 194–201, 2013.

SOUZA-SILVA, É. A.; GIONFRIDDO, E.; PAWL, J. A critical review of the state of the art of solid-phase microextraction of complex matrices II. Food analysis. *Trends in Analytical Chemistry*, v. 71, p. 236–248, 2015.

SMOLINSKI, A.; DROBEK, L.; DOMBEK, V.; BAK, A. Modeling of experimental data on trace elements and organic compounds content in industrial waste dumps. *Chemosphere*, v. 162, p. 189-198, 2016.

SZYMANSKA, E.; GERRETZEN, J.; ENGEL, J.; GEURTS, B.; BLANCHET, L.; BUYDENS, L. M. C. Chemometrics and qualitative analysis have a vibrant relationship. *Trends in Analytical Chemistry*, v. 69, p.34–51, 2015.

SZYMCZYCHA-MADEJA, A. & WELNA, M. Evaluation of a simple and fast method for the multi-elemental analysis in commercial fruit juice samples using atomic emission spectrometry. *Food Chemistry*, v. 141, p. 3466–3472, 2013.

SZYMCZYCHA-MADEJA, A.; POHL, P.; WELNA, M.; STELMACH, E.; JEDRYCZKO, D. The evaluation of the suitability of different alternative sample preparation procedures prior to the multi-elemental analysis of brews of ground roasted and instant coffees by FAAS and ICP OES. *Food Research International*, v. 89, p. 958–966, 2016.

SZYMCZYCHA-MADEJA, A.; WELNA, M.; JEDRYCZKO, D.; POHL, P. Developments and strategies in the spectrochemical elemental analysis of fruit juices. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, v. 55, p. 68–80, 2014.

TEÓFILO, R. F. & FERREIRA, M. M. C. Quimiometria II: Planilhas Eletrônicas para Cálculos de Planejamentos Experimentais, um Tutorial. *Química Nova*, v. 29, p. 338-350, 2006.

TORMEN, L., TORRES, D. P., DITTERT, I. M.; ARAÚJO, R. G. O.; FRESCURA, V. L. A.; CURTIUS, A. J. Rapid assessment of metal contamination in commercial fruit juices by inductively coupled mass spectrometry after a simple dilution. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 24, p. 95–102, 2011.

TREVIZAN, L. C.; VIEIRA, E. C.; NOGUEIRA, A. R. A.; NÓBREGA, J. A. Use of factorial design for evaluation of plasma conditions and comparison of two liquid

sample introduction systems for an axially viewed inductively coupled plasma optical emission spectrometer. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, v. 60, p. 575–581, 2005.

TRINDADE, A. S. N.; DANTAS, A. F.; LIMA, D. C.; FERREIRA, S. L. C.; TEIXEIRA, L. S. G. Multivariate optimization of ultrasound-assisted extraction for determination of Cu, Fe, Ni and Zn in vegetable oils by high-resolution continuum source atomic absorption spectrometry. *Food Chemistry*, v. 185, p. 145–150, 2015.

TURRA, C.; DE LIMA, M. D.; FERNANDES, E. A. N.; BACCHI, M. A.; JR, F. B.; BARBOSA, R. Multielement determination in orange juice by ICP-MS associated with data mining for the classification of organic samples. *Information Processing in Agriculture*, v. 4, p. 199-205, 2017.

VERMA, C.; TAPADIA, K.; SONI, A. B. Determination of iron (III) in food, biological and environmental samples. *Food Chemistry*, v. 221, p. 1415–1420, 2017.

WANG, B.; JIN, X.; CHEN, X. D. Investigation on the relationship between the integrity of food matrix and nutrient extraction yield of broccoli. *LWT - Food Science and Technology*, v. 85, p. 170-174, 2017.

WASEEM, A. & ARSHAD, J. A review of Human Biomonitoring studies of trace elements in Pakistan. *Chemosphere*, v. 163, p. 153–176, 2016.

WELNA, M. & SZYMCZYCHA-MADEJA, A. Effect of sample preparation procedure for the determination of As, Sb and Se in fruit juices by HG-ICP-OES. *Food Chemistry*, v. 159, p. 414–419, 2014.

XU, C.; CHEN, G.; XIONG, Z.; FAN, Y.; WANG, X. C.; LIU, Y. Applications of solid-phase microextraction in food analysis. *Trends in Analytical Chemistry*, v. 80, p. 12–29, 2016.

YÜCEL, Y. & SULTANOGLU, P. Characterization of Hatay honeys according to their multi-element analysis using ICP OES combined with chemometrics. *Food Chemistry*, v. 140, p. 231–237, 2013.

ZAMBRZYCKA, E. & GODLEWSKA-ŻYŁKIEWICZ, B. Determination of sulfur in food by high resolution continuum source flame molecular absorption spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B*, v. 101, p. 234–239, 2014.

ZBAKH, H. & ABBASSI, A. E. Potential use of olive mill wastewater in the preparation of functional beverages: A review. *Journal of Functional Foods*, v. 4, p. 53-65, 2012.

ZHOU, S.; LIU, S.; JIANG, X.; CHEN, G.; CAO, C.; LIU, F.; CHEN, X. Determination of four additives in aluminum electrolyte by ICP OES with wet digestion. *Microchemical Journal*, v. 96, p. 412–414, 2010.