



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

LAÍS DE NOVAES PIRES

DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS ANALÍTICOS
PARA A DETERMINAÇÃO MULTIELEMENTAR EM
AMOSTRAS DE CERVEJAS

Salvador
2021

LAÍS DE NOVAES PIRES

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS ANALÍTICOS
PARA A DETERMINAÇÃO MULTIELEMENTAR EM
AMOSTRAS DE CERVEJAS**

Tese submetida ao Colegiado dos Cursos de Pós-Graduação em Química como parte dos requisitos para obtenção do grau de doutora em química. Área de concentração: Química Analítica.

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Sena Gomes Teixeira
Coorientador: Prof. Dr. Fábio de Souza Dias

Salvador
2021



TERMO DE APROVAÇÃO

LAÍS DE NOVAES PIRES

“DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS ANALÍTICOS PARA A DETERMINAÇÃO MULTIELEMENTAR EM AMOSTRAS DE CERVEJAS”

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

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

Prof. Dr. Fabio de Souza Dias Fabio de Souza Dias
Doutorado em Química, Universidade Federal da Bahia (UFBA)
Universidade Federal da Bahia

Profª. Drª. Daniele Cristina Muniz Batista dos Santos D. Muniz
Doutorado em Química, Universidade Federal da Bahia (UFBA)
Universidade Federal da Bahia

Prof. Dr. Marcos de Almeida Bezerra Marcos de Almeida Bezerra
Doutorado em Química, Universidade Federal da Bahia (UFBA)
Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia

Prof. Dr. Fábio Alan Carqueija Amorim Fabio A. P. Amorim
Doutorado em Química, Universidade Federal da Bahia (UFBA)
Universidade Estadual de Santa Cruz

Prof. Dr. Joaquim de Araújo Nóbrega Joaquim A. Nóbrega
Doutorado em Ciências, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)
Universidade Federal de São Carlos

Salvador, 20 de dezembro de 2021.

P667 Pires, Laís de Novaes

Desenvolvimento de métodos analíticos para a determinação multielementar em amostras de cervejas/ Laís de Novaes Pires. – Salvador, 2021.

120 f.

Orientadora: Prof. Dr. Leonardo Sena Gomes Teixeira

Tese (Doutorado) – Universidade Federal da Bahia. Instituto de Química, 2021.

1. Cervejas. 2. Química Analítica. 3. Espectrometria de absorção atômica. I. Teixeira, Leonardo Sena Gomes. II. Universidade Federal da Bahia. III. Título.

CDU 543.4

DEDICATÓRIA

À minha família, pelo apoio e incentivo em todos os momentos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter sido o meu refúgio em todas as dificuldades e iluminado o meu caminho a cada dia.

A toda minha família por ter acreditado em meu potencial e abraçado esse sonho junto comigo. Em especial, ao meu pai Jocelito e à minha mãe Vera que foram meus maiores incentivadores e sempre apoiaram as minhas escolhas. Aos meus irmãos Luan e Marly. Obrigada por todo amor, compreensão e carinho.

Ao professor Leonardo por ter me acolhido e acreditado em meu potencial. Obrigada pela orientação, confiança e dedicação. Obrigada por partilhar de seus conhecimentos e contribuir de forma inestimável na minha formação acadêmica e na concretização deste trabalho. “Léo, eu sempre lembrarei com muito carinho de todos os momentos que compartilhamos”.

Ao professor Fábio que surgiu de forma tímida para me propor uma parceria. E que parceria que deu certo! “Fábio, sou muito grata por você ter aparecido em meu caminho e ter me dado a oportunidade de aprender tanto com você”.

Ao professor Alaíson pela confiança e pelos ensinamentos.

A todos os colegas do grupo IDEIA pelos bons momentos de convivência, em especial, Diego, Valéria, Taiana, Luana, Elane, Valdinei, Roberta, Sarah, Thiago, Paloma, Maiara, Lucas, Levi, Lesli, Jorge, Aldo e Vanessa.

Um agradecimento especial ao amigo Aldo, que acompanhou meus altos e baixos no laboratório e consolava meu choro cada vez que um experimento não dava certo. Ele conseguia arrancar um sorriso do meu rosto até nos meus piores momentos, e pela sintonia do meu assovio (eu era um “pássaro” no laboratório), ele previa como estava meu humor, a minha disposição, e até mesmo, como estava o desempenho do meu trabalho.

A minha amiga Vanessa, um grande presente que o doutorado trouxe para mim. Ela esteve comigo desde os momentos mais tristes e tensos até os momentos de farra e alegria, dentro e fora do laboratório. Obrigada por ter seguido com rigor o que disse o nosso pai científico: “juntas na alegria e na tristeza!”.

A duas amigas especiais que escutaram as minhas angústias durante esse período acadêmico e que também vibraram comigo em cada conquista, Elivana e Iva tenho muito orgulho da amizade que cultivamos.

A Candice e a Gisele que me acolheram em Cruz da Almas e na UFRB com muito entusiasmo e bondade.

A pesquisadora Sarah Rocha e ao Lepetro do Instituto de Geociências da UFBA, por terem viabilizado as análises realizadas com o ICP OES e com o cromatógrafo de íons.

A todos os professores que contribuíram para a minha formação pessoal e intelectual ao longo de toda minha trajetória acadêmica.

A todos os funcionários do Instituto de Química da UFBA.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química da UFBA.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa fornecida.

Aos órgãos de fomento: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB), e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo suporte financeiro aos projetos de pesquisa do grupo.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho...

Muito obrigada!

"A cerveja, se bebida com moderação, torna a pessoa mais dócil, alegria o espírito e promove a
saúde."

Thomas Jefferson, 1795

RESUMO

A cerveja é uma bebida alcoólica atraente por ser leve, refrescante e possuir características sensoriais peculiares. Devido a popularidade e consumo, o desenvolvimento de métodos para verificação de sua qualidade, o que inclui a determinação de espécies inorgânicas, é importante. Nesse sentido, no presente trabalho, foram desenvolvidas estratégias analíticas para a determinação de espécies inorgânicas em amostras de cervejas. Na primeira etapa, um método analítico foi desenvolvido para a determinação de Cl, Fe e Si em amostras de cervejas usando as estratégias de determinação sequencial e simultânea por espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua e forno de grafite (HR-CS GF AAS) em combinação com a espectrometria de absorção molecular de alta resolução com fonte contínua e forno de grafite (HR-CS GF MAS). Primeiro, Cl foi determinado usando 600 °C e 1700 °C como temperaturas de pirólise e vaporização, respectivamente, empregando In como agente formador da molécula de InCl. Em seguida, Si e Fe foram determinados simultaneamente, a partir da mesma alíquota da amostra, usando 2600 °C como temperatura de atomização. Uma solução de Pd/Mg foi utilizada como modificador químico. O efeito de matriz foi avaliado e os resultados indicaram a possibilidade da calibração externa usando soluções de padrões aquosos. Os limites de detecção e quantificação foram de 0,05 e 0,17 mg L⁻¹ para Cl, 0,08 e 0,26 mg L⁻¹ para Si, e 2,0 e 6,7 µg L⁻¹ para Fe. Teste de recuperação apresentaram resultados entre 85 e 120% para os três analitos. As faixas de concentração encontradas nas amostras analisadas variaram entre 106 - 277 mg L⁻¹ para Cl, 15 - 37 mg L⁻¹ para Si, e < 20 - 73 µg L⁻¹ para Fe. Na segunda etapa, foi feita uma avaliação de diferentes elementos (Be, Ga, In, Sc e Y) como candidatos a padrões internos (PI) para a determinação de Al, Ba, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Sr, Zn, Ca, Mg, Na, K em amostras de cervejas empregando a espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas (MIP OES). O desempenho analítico para cada PI foi estabelecido baseado em limites de detecção e quantificação, precisão, testes de adição e recuperação, e exatidão obtidos para cada analito. Na presença dos PI recomendados, os limites de detecção, em mg L⁻¹, variaram de 0,23 a 4,6 para os microelementos e de 10 a 620 para o macroelementos. Os limites de quantificação, em mg L⁻¹, foram entre 0,78 e 15,4 e entre 30 e 970 para micro e macroelementos, respectivamente. Os valores de precisão das medidas foram menores que 1,0% para todos os analitos. Os métodos desenvolvidos neste trabalho podem ser considerados de fácil aplicação, gerando mínima quantidade de resíduos, e apresentaram características analíticas adequadas, tais como: precisão, exatidão e sensibilidade para a determinação de espécies inorgânicas em cervejas empregando diferentes técnicas analíticas.

Palavras-chave: cervejas, determinação multielementar, padronização interna, HR-CS GF AAS, HR-CS GF MAS, MIP OES.

ABSTRACT

Beer is an attractive alcoholic beverage because it is light, refreshing and has peculiar sensory characteristics. Due to its popularity and consumption, the development of methods to verify its quality, which includes the determination of inorganic species, is important. In this sense, in the present work, analytical strategies were developed for the determination of inorganic species in beer samples. In the first step, an analytical method was developed for the determination of Cl, Fe and Si in beer samples using the strategies of sequential and simultaneous determination by high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry (HR-CS GF AAS) in combination with high-resolution continuum source graphite furnace molecular absorption spectrometry (HR-CS GF MAS). First, Cl was determined using 600 °C and 1700 °C as the pyrolysis and vaporization temperatures, respectively, using In as a forming agent of the InCl molecule. Then, Si and Fe were simultaneously determined from the same sample aliquot using 2600 °C as the atomization temperature. A solution of Pd/Mg was used as a chemical modifier. The matrix effect was evaluated, and the results indicated that external calibration was possible using aqueous standard solutions. The limit of detection and quantification were 0.05 and 0.17 mg L⁻¹ for Cl, 0.08 and 0.26 mg L⁻¹ for Si, and 2.0 and 6.7 µg L⁻¹ for Fe. Recovery tests presented interval between 85 and 120% for the three analytes. The concentration range found in the analyzed samples varied between 106 - 277 mg L⁻¹ for Cl, 15 - 37 mg L⁻¹ for Si, and < 20–73 µg L⁻¹ for Fe. In the second step, an evaluation of different elements (Be, Ga, In, Sc and Y) was performed as candidates for internal standards (IS) for the determination of Al, Ba, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Sr, Zn, Ca, Mg, Na, K in beer samples using microwave-induced plasma optical emission spectrometry (MIP OES). The analytical performance for each potential IS was established based on the limit of detection, limit of quantification, addition and recovery tests and accuracy obtained in the determination of each analyte. In the presence of the recommended IS, the limit of detection varied, in mg L⁻¹, from 0.23 to 4.6 for microelements and between 10 and 620 for the macroelements. The limit of quantification, in mg L⁻¹, was between 0.78 and 15.4 and between 30 and 970 for the microelements and macroelements, respectively. The precision values of the measurements were less than 1.0% for all analytes. The methods developed in this work can be considered easy to apply, generating the minimum amount of residues and presented adequate analytical characteristics, such as: precision, accuracy and sensitivity for the determination of inorganic species in beers using different analytical techniques.

Keywords: beer, multi-element determination, internal standardization, HR-CS GF AAS, HR-CS GF MAS, MIP OES.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1	Resumo do processo de fabricação de cerveja.....	23
Figura 2.1	Sistema de radiação UV utilizado para decomposição das amostras de cervejas.....	52
Figura 2.2	Avaliação da massa de In sobre a intensidade do sinal de absorção molecular do InCl na presença de 0,10 µg de Cl em uma solução aquosa de NaCl (●) e em uma amostra de cerveja dopada com 0,10 µg de Cl (▲).....	55
Figura 2.3	Avaliação da influência de diferentes soluções de cloreto (contendo 0,10 µg de Cl) na formação da molécula de InCl.....	57
Figura 2.4	(a) Curvas de pirólise e (b) vaporização para Cl (□), avaliando possíveis perda de Si (Δ) e de Fe (○); (c) curvas de atomização para Si (Δ) e Fe (○), para os experimentos realizados sem modificador.....	57
Figura 2.5	(a) Curvas de pirólise e (b) vaporização para Cl (■), avaliando possíveis perda de Si (▲) e de Fe (●); (c) curvas de atomização para Si (▲) e Fe (●), para os experimentos realizados na presença do modificador Pd/Mg.....	58
Figura 2.6	a) Espectro de absorção da molécula diatômica InCl (absorvância de 0,10 µg de Cl e 15 µg de In); b) espectro de absorção de Fe e Si (1,0 ng e 10 ng, respectivamente) na presença de Pd/Mg como modificador químico.....	60
Figura 3.1	Avaliação de diferentes porcentagens de diluição das amostras de cervejas observando os sinais analíticos de cada elemento para a determinação multielementar em amostras de cervejas por MIP OES.....	73

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1	Determinação de espécies inorgânicas em cervejas por espectrometria de absorção atômica.....	35
Tabela 1.2	Determinação de espécies inorgânicas em cervejas empregando técnicas espectrométricas com fonte de plasma.....	42
Tabela 2.1	Programa de temperatura para a determinação de Cl (via InCl), Fe e Si em amostras de cervejas por HR-CS-GF AAS/MAS.....	52
Tabela 2.2	Parâmetros analíticos obtidos para a determinação de Cl (via InCl), Si, e Fe por HR-CS GF AAS/MAS.....	61
Tabela 2.3	Resultados de recuperação (%) obtidos pelos testes de adição e recuperação para a determinação de Cl, Si e Fe em amostras de cervejas por HR-CS GF AAS/MAS.....	61
Tabela 2.4	Determinação de Cl, Si e Fe em amostras de cervejas pelo método proposto (HR-CS GF AAS/MAS) e pelos métodos comparativos (IC e ICP OES) (n = 3).....	63
Tabela 3.1	Condições instrumentais do MIP OES para a determinação multielementar em amostras de cervejas.....	69
Tabela 3.2	Parâmetros instrumentais otimizados para a determinação multielementar em amostras de cervejas por MIP OES.....	70
Tabela 3.3	Condições operacionais para determinação multielementar por ICP OES em amostras de cerveja.....	71
Tabela 3.4	Razão entre os coeficientes angulares das curvas obtidas pela adição de analito (20% de cerveja) e pelas curvas de calibração externa em meio ácido.....	75
Tabela 3.5	Valores de precisão, expressados em porcentagem de RSD (n=10), para a determinação multielementar direta em amostras de cervejas.....	77
Tabela 3.6	Resultados dos testes de adição e recuperação com diferentes candidatos a PI para a determinação multielementar em amostras de cervejas por MIP OES.....	79
Tabela 3.7	Faixas de erros encontrados comparando os resultados obtidos por ICP OES e MIP OES.....	82
Tabela 3.8	Parâmetros analíticos para a determinação multielementar direta em amostras de cervejas usando MIP OES após a diluição das amostras em meio ácido.....	84

Tabela 3.9	Determinação multielementar em amostras de cervejas por MIP OES na presença do PI, e por ICP OES após digestão ácida (n=3).....	85
Tabela 3.10	Concentração de espécies inorgânicas em amostras de cervejas.....	87
Tabela 3.11	Parâmetros analíticos para a determinação multielementar em amostras de cervejas por MIP OES com diferentes candidatos a PI.....	112
Tabela 3.12	Determinação multielementar em amostras de cervejas por MIP OES com diferentes candidatos a PI.....	116

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAS	Espectrometria de absorção atômica (do inglês: <i>Atomic Absorption Spectrometry</i>)
AFS	Espectrometria de fluorescência atômica (do inglês: <i>Atomic Fluorescence Spectrometry</i>)
CCD	Dispositivo de carga acoplada (do inglês: <i>Charge-Coupled Device</i>)
CVG AAS	Espectrometria de absorção atômica com geração de vapor químico (do inglês: <i>Vapour Generation Atomic Absorption Spectrometry</i>)
ET AAS	Espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (do inglês: <i>Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry</i>)
F AAS	Espectrometria de absorção atômica com chama (do inglês: <i>Flame Atomic Absorption Spectrometry</i>)
GF AAS	Espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (do inglês: <i>Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry</i>)
HG-MIP OES	Espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas com geração de hidretos (do inglês: <i>Microwave Plasma Atomic Emission Spectrometry Hydride Generation</i>)
HR-CS AAS	Espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua (do inglês: <i>High Resolution Continuum Source Atomic Absorption Spectrometry</i>)
HR-CS F AAS	Espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua e chama (do inglês: <i>High Resolution Continuum Source Flame Molecular Absorption Spectrometry</i>)

HR-CS GF AAS	Espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua com forno de grafite (do inglês: <i>High Resolution Continuum Source Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry</i>)
HR-CS GF AAS/MAS	Espectrometria de absorção atômica e molecular de alta resolução com fonte contínua e forno de grafite (do inglês: <i>High Resolution Continuum Source Graphite Furnace Molecular Absorption Spectrometry</i>)
HR-CS MAS	Espectrometria de absorção molecular de alta resolução com fonte contínua (do inglês: <i>High Resolution Continuum Source Molecular Absorption Spectrometry</i>)
IAT	Tubo Atômico Integrado (do inglês: <i>Integrated Atom Trap</i>)
ICP-MS	Espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (do inglês: <i>Inductively Coupled Plasm Mass Spectrometry</i>)
ICP OES	Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (do inglês: <i>Inductively Coupled Plasm Optical Emission Spectrometry</i>)
IPA	Índia Pale Ale
LD	Limite de detecção
LS	Fonte de linha (do inglês: <i>Line Source</i>)
LS AAS	Espectrometria de absorção atômica com fonte de linha (do inglês: <i>Line Source Atomic Absorption Spectrometry</i>)
LQ	Limite de quantificação
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

MIP OES	Espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas (do inglês: <i>Microwave-induced Plasma Optical Emission Spectrometry</i>)
PI	Padrão interno
PTFE	Politetrafluoretileno
RDC	Resolução da diretoria colegiada
RSD	Desvio padrão relativo (<i>Relative Standard Deviation</i>)
T _{atom}	Temperatura de atomização
T _{pir}	Temperatura de pirólise
T _{vap}	Temperatura de vaporização
UV	Ultravioleta
UV-vis	Ultravioleta visível
XRF	Fluorescência de raios X (do inglês: <i>X-ray Fluorescence</i>)

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	18
CAPÍTULO 1 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	20
1.1 UMA BREVE REVISÃO SOBRE A CERVEJA	21
1.1.1 História da cerveja.....	21
1.1.2 Processo de produção da cerveja	22
1.1.3 Tipos de cervejas.....	26
1.2 TÉCNICAS ANALÍTICAS PARA A DETERMINAÇÃO DE ESPÉCIES INORGÂNICAS EM AMOSTRAS DE CERVEJAS	32
1.2.1 Espectrometria de absorção atômica.....	32
1.2.2 Técnicas espectrométricas com fonte de plasma	39
CAPÍTULO 2 DETERMINAÇÃO SEQUENCIAL E SIMULTÂNEA DE CLORO, FERRO E SILÍCIO EM AMOSTRAS DE CERVEJAS POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA E MOLECULAR DE ALTA RESOLUÇÃO COM FONTE CONTÍNUA E FORNO DE GRAFITE	47
2.1 INTRODUÇÃO.....	48
2.2 OBJETIVOS.....	51
2.2.1 Objetivo geral.....	51
2.2.2 Objetivos específicos.....	51
2.3 EXPERIMENTAL	51
2.3.1 Instrumentação	51
2.3.2 Reagentes e soluções	53
2.3.3 Pré-tratamento das amostras por radiação UV.....	54
2.3.4 Digestão das amostras assistida por micro-ondas	54
2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	55
2.4.1 Investigação da formação da molécula de InCl.....	55
2.4.2 Otimização do programa de temperatura.....	57

2.4.3 Desempenho analítico e testes de recuperação.....	60
2.4.4 Determinação de Cl, Fe e Si em amostras de cervejas	62
2.5 CONCLUSÕES	64
CAPÍTULO 3 AVALIAÇÃO DA PADRONIZAÇÃO INTERNA NA DETERMINAÇÃO MULTIELEMENTAR DIRETA EM AMOSTRAS DE CERVEJAS POR ESPECTROMETRIA DE EMISSÃO ÓPTICA COM PLASMA INDUZIDO POR MICRO-ONDAS.....	65
3.1 INTRODUÇÃO.....	66
3.2 OBJETIVOS	68
3.2.1 Objetivo geral.....	68
3.2.2 Objetivos específicos.....	68
3.3 EXPERIMENTAL	69
3.3.1 Instrumentação	69
3.3.2 Reagentes, soluções e amostras.....	71
3.3.3 Procedimento analítico para determinação multielementar em amostras de cervejas por MIP OES	72
3.3.4 Procedimento de digestão das amostras	72
3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	73
3.4.1 Estudo da diluição da amostra	73
3.4.2 Avaliação da padronização interna.....	74
3.4.3 Desempenho analítico e aplicação do método	83
3.4.4 Determinação multielementar direta em amostras de cervejas	84
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	90
REFERÊNCIAS	92

INTRODUÇÃO

A cerveja é a bebida alcoólica mais consumida no mundo [1, 2]. Produto fermentado por meio de microrganismos cervejeiros, a partir de um mosto feito à base de malte de cevada e água, com adição de lúpulo, a cerveja é caracterizada por apresentar uma complexa mistura que contém mais de 3000 compostos orgânicos, incluindo carboidratos, proteínas, ésteres, aminoácidos, açúcares, e polifenóis, que são responsáveis por suas propriedades sensoriais [1, 3].

Entre os constituintes da cerveja, encontram-se também espécies inorgânicas, que podem estar naturalmente presentes na matéria-prima ou podem ter relação com possível contaminação, proveniente do uso de fertilizantes e de pesticidas durante o cultivo da matéria-prima. Existe, ainda, a possibilidade de contaminação no processo industrial de produção, armazenagem e transporte com a possível migração das espécies para o produto por contato com equipamentos e tanques de estocagem [4, 5].

A avaliação do teor de espécies inorgânicas em amostras de cervejas é importante porque, a depender do tipo e da concentração, podem influenciar no processo de fabricação, na qualidade da cerveja e na saúde do consumidor [5, 6]. Dessa forma, é necessário o uso de métodos analíticos para monitorar essas espécies químicas.

Diferentes técnicas espectroanalíticas, como a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) [7], espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas (MIP OES) [8], espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP MS) [9], fluorescência de raios-X (XRF) [10] e a espectrometria de absorção atômica com chama (F AAS) [11] e em forno de grafite (GF AAS) [12], têm sido utilizadas para a determinação de espécies inorgânicas em amostras de cervejas. Entretanto, a espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua (HR-CS AAS) ainda foi pouco explorada para esse tipo de aplicação.

A espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua apresenta, como uma das suas principais vantagens, a possibilidade de determinar diferentes espécies químicas simultaneamente, e a viabilidade de determinar espécies não-metálicas através da formação de moléculas diatômicas em fase gasosa, estáveis na chama e em fornos de grafite, denominada como espectrometria de absorção molecular de alta resolução com fonte contínua (HR-CS MAS) [13, 14]. A técnica HR-CS AAS ainda possibilita a exploração da estratégia de determinação sequencial para as determinações realizadas em atomizadores de forno de grafite.

Neste caso, uma única alíquota da amostra é inserida no forno de grafite para a determinação de mais de um analito, que são determinados de forma sequencial, em comprimento de onda e temperatura de atomização específicos, utilizando um mesmo programa de temperatura [13, 15].

Outra técnica que vem sendo utilizada na determinação de metais em diferentes tipos de amostras [16-18] é a MIP OES, técnica multielementar, que possui o custo de operação como uma das vantagens, visto que, o plasma utilizado no equipamento é gerado por nitrogênio retirado do ar atmosférico [16]. Entretanto, como em outras técnicas que utilizam o plasma como fonte de excitação, atomização e ionização dos analitos, a MIP OES está propensa às interferências provocadas pela matriz e pela ineficiência nas etapas de introdução da amostra e transporte até o plasma. Uma das formas de contornar esses problemas está no uso da padronização interna, estratégia na qual um padrão interno (PI) é adicionado às amostras, aos brancos analíticos e às soluções de referência. Quando a padronização interna é utilizada, o resultado do sinal analítico é gerado por meio de cálculos considerando que analito e PI são igualmente perturbados pelas variações instrumentais e operacionais. Dessa forma, o desempenho geral do método analítico é melhorado [8].

No presente trabalho, foram propostos dois métodos para a determinação de espécies inorgânicas em amostras de cervejas utilizando as técnicas HR-CS GF AAS/MAS e MIP OES. As particularidades de cada técnica foram exploradas, bem como o tipo de preparo das amostras, que variou de acordo com o objetivo de cada determinação.

No primeiro capítulo, é apresentada uma fundamentação teórica que está dividida em duas partes. Inicialmente haverá uma breve discussão sobre a cerveja, incluindo histórico, matérias-primas, etapas de fabricação, tipos de cervejas e as espécies inorgânicas que podem estar presentes na bebida. Em seguida, será apresentada uma discussão sobre técnicas analíticas comumente utilizadas na determinação das espécies inorgânicas na bebida.

No segundo capítulo, é apresentado um método analítico desenvolvido para a determinação de Cl (via molécula de InCl), Si, e Fe em amostras de cervejas por espectrometria de absorção atômica e molecular de alta resolução com fonte contínua e forno de grafite (HR CS GF AAS/MAS), explorando as estratégias de determinação sequencial e simultânea.

No terceiro capítulo, é apresentado um trabalho no qual diferentes elementos (Be, Ga, In, Sc e Y) foram investigados como candidatos a padrões internos. O desempenho analítico de cada PI foi comparado para a determinação multielementar em amostras de cervejas por MIP OES, após uma simples diluição ácida das amostras.

CAPÍTULO

1

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

1.1 UMA BREVE REVISÃO SOBRE A CERVEJA

1.1.1 História da cerveja

A história da cerveja está diretamente ligada à história da civilização em si, sendo a preparação da cerveja a receita mais antiga registrada no mundo. Há indícios de que as primeiras bebidas obtidas por processos de fermentação foram feitas pelos egípcios por volta de 8000 a. C. [19, 20]. Os egípcios usavam cervejas, preparadas com ervas nativas, como gengibre, romãs e tâmaras, como bebida a ser servida em cerimônias religiosas [21-23].

Durante o início da Idade Média, nasceu a bebida que mais se aproximava do que hoje se conhece como “cerveja”. Nesse período, os fabricantes passaram a usar a cevada maltada como a principal fonte de açúcar fermentável, ingrediente que permaneceu único por centenas de anos [21]. Na Idade Média, a bebida era reconhecida pelo seu valor nutricional e pelas suas propriedades medicinais por conter ervas, raízes, cascas de árvores e especiarias [24, 25].

O uso do lúpulo, como agente amargante e aromatizante, se tornou comum por volta do século XIII, testado pelos cervejeiros germânicos, que ocuparam a Europa durante o Império Romano e destacaram-se na arte de fabricar a cerveja. Por volta de 1150, os monges alemães também passaram a usar o lúpulo na fabricação da cerveja e confirmaram que este acrescentava uma amargura satisfatória ao paladar e agia como um conservante natural que prolongava o tempo de conservação da bebida. Os historiadores acreditam que a ideia do armazenamento a frio para melhorar o sabor também surgiu dos monges [24, 25].

Ao longo dos anos, a cerveja foi obtendo diferentes características, com o traço comum de ser uma bebida fermentada, obtida a partir dos cereais. A etimológica da palavra cerveja tem origem no latim “cervesia”, designação atribuída à “bebida fermentada” [25, 26]. Foi, porém, no século XIX que a fabricação da cerveja recebeu um maior impulso com o isolamento das leveduras responsáveis pela fermentação e a possibilidade de manutenção dos tanques de fermentação e as adegas que possibilitavam a estocagem à temperaturas relativamente baixas, durante todo o ano [24, 26].

No Brasil, a história da cerveja começou com a chegada de Maurício de Nassau com sua expedição holandesa em Recife, a serviço da Companhia das Índias Ocidentais, em 1637 [24, 27]. Nassau trouxe uma fábrica de cerveja desmontada em um navio e produziu cervejas durante o período que permaneceu no país (até 1644), de modo que, sua saída também provocou a estagnação da história da cerveja no Brasil. Essa história foi retomada somente em 1808 com a chegada da família real portuguesa. No período, comerciantes estrangeiros, principalmente ingleses, instalaram-se no Brasil, fazendo vir da Europa, entre outros produtos, a cerveja [24,

28]. Durante muitos anos, a cerveja inglesa predominou no Brasil, até que surgiu a concorrência de importação da cerveja alemã, que chegava em garrafas e em caixas, ao contrário das antigas cervejas inglesas que eram trazidas em barris [27].

A influência dos empresários alemães contribuiu para o aumento de pequenas fábricas em território nacional. Aos poucos, as pequenas fábricas nacionais foram surgindo e ganhando espaço no mercado brasileiro, que antes pertencia às cervejarias estrangeiras. As cervejas produzidas internamente já possuíam qualidade e sabor semelhantes às estrangeiras, porém com preços mais acessíveis [24, 29].

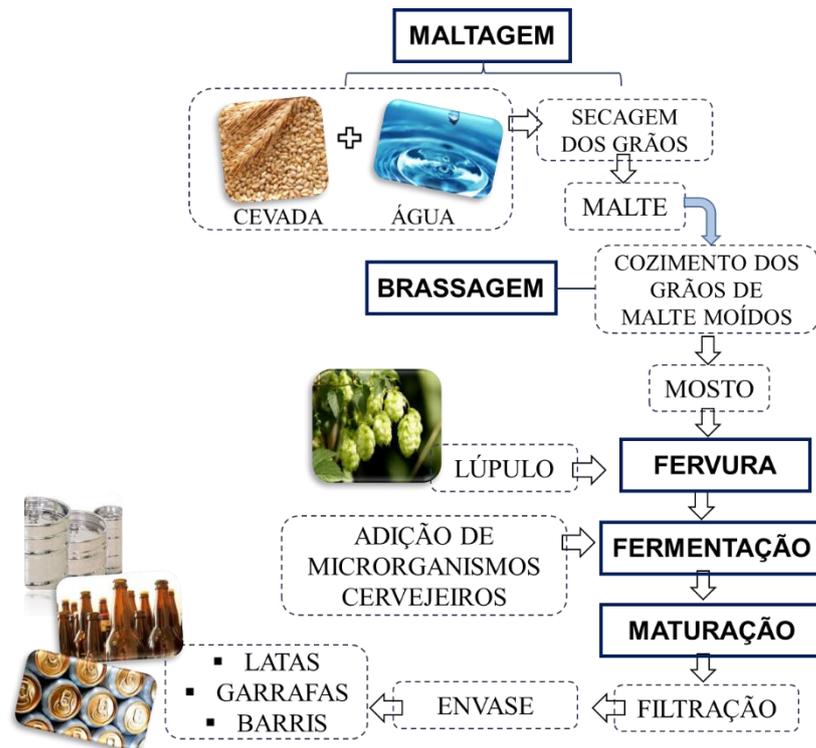
Em 1853, o alemão Henrique Kremer fundou a Cervejaria Boehmia, marca que segue em plena atividade nos dias atuais. Entre 1888 e 1889, foram fundadas duas grandes empresas, a *Companhia Cervejaria Brahma* no Rio de Janeiro e a *Antarctica Paulista* em São Paulo, que em 1999 vieram a se fundir criando a *Ambev*, empresa que domina o mercado até os dias de hoje. Em 2004, a *Ambev* fundiu-se com a empresa belga *Interbrew*, tornando-se a multinacional *AB InBev*. Atualmente, a *AB InBev* é a empresa que possui o maior número de marcas de cerveja no mundo [30].

1.1.2 Processo de produção da cerveja

Conforme a legislação brasileira Decreto n° 9902, de 8 de julho de 2019, artigo 36: “Cerveja é a bebida resultante da fermentação, a partir da levedura cervejeira, do mosto de cevada malteada ou de extrato de malte, submetido previamente a um processo de cocção adicionado de lúpulo ou extrato de lúpulo, hipótese em que uma parte da cevada malteada ou do extrato de malte poderá ser substituída parcialmente por adjunto cervejeiro” [31].

Conforme ilustrado na Figura 1.1, a fabricação de cerveja pode ser sintetizada em cinco etapas: maltagem, brassagem, fervura, fermentação e maturação.

Figura 1.1 Resumo do processo de fabricação de cerveja



Fonte: Adaptado de [32].

O processo de fabricação da cerveja inicia-se com o grão de cevada maduro e saudável, um cereal da família das gramíneas (gênero *Hordeum*) rico em amido e enzimas [19, 33, 34]. A cevada passa pelo processo de malteação, onde se transformará em malte. Esse processo é iniciado com a umidificação dos grãos de cevada com água, de modo que o teor de hidratação no interior dos grãos aumenta de 12% para cerca de 45% [19, 35].

A água é utilizada desde o preparo do malte até o processo final na lavagem de garrafas e barris que irão estocar o produto e representa cerca de 90% da composição da cerveja, exercendo grande influência sobre a qualidade da bebida. A água ideal para a fabricação da cerveja deve ser insípida e inodora e possuir um pH variando entre 6,5 e 8,0 [32, 36, 37].

O grão de cevada úmido é então levado para germinar durante alguns dias em local arejado com temperatura em cerca de 16 °C, a fim de evitar perdas de água. Durante o processo de germinação, ocorre a formação de enzimas, principalmente as do tipo amilases, que irão degradar os amidos e as proteínas presentes na cevada, convertendo-os em açúcares fermentáveis na etapa de brassagem. O processo é interrompido por volta do terceiro dia de germinação, quando os brotos da cevada começam a crescer, indicando que a germinação está atingindo seu ponto ideal com relação à ativação das enzimas [19, 24, 38].

A germinação é interrompida com a secagem dos grãos, a temperatura em torno de 50 °C. Essa temperatura permite finalizar as atividades enzimáticas no interior do grão e produzir um material estável que possa ser armazenado com segurança até o uso na fabricação de cerveja. Por fim, um processo de torrefação fará os grãos atingirem a coloração pretendida e o aroma característico, de acordo com o tipo de malte desejado, e a cevada estará transformada em malte [19].

Na próxima etapa, o malte passa pelo processo de brassagem (ou mosturação) na qual é moído e cozido, gerando um líquido doce e viscoso conhecido como “mosto”. Esta etapa tem por finalidade a quebra do amido presente no malte realizada por ação das enzimas que foram ativadas na etapa anterior, transformando-o em açúcares fermentescíveis. Nessa etapa, ocorre também a quebra de proteínas e polipeptídios do malte em frações menores, que influenciará na qualidade da espuma e no corpo da cerveja a ser produzida. Em seguida, o mosto é fervido juntamente com o lúpulo, passando a ser esterilizado e concentrado [19, 32].

O lúpulo é uma planta trepadeira de safra anual, natural de muitas zonas temperadas do Hemisfério Norte. Para a fabricação de cervejas, o que interessa são as flores da planta fêmea não-polinizadas. Nelas, estão presentes um pó amarelo denominado lupulina, órgão reprodutor da planta que contém os óleos essenciais responsáveis pelos aromas característicos de lúpulo na cerveja, dentre eles os aromas cítricos, florais, condimentados, herbais e terrosos. Na lupulina também estão os α -ácidos, que são responsáveis pelo amargor e pelo poder antimicrobiano da bebida. Nas pétalas das flores de lúpulo, estão presentes os polifenóis, com propriedades antioxidantes que protegem a cerveja do envelhecimento e conferem benefícios à saúde do consumidor [32, 39].

Durante a etapa de fervura do mosto, este passa a ser esterilizado com a eliminação de contaminantes advindos da matéria-prima e a concentração será aumentada como resultado da evaporação da água. Nessa etapa, ocorre também a formação e evaporação de compostos voláteis indesejáveis, a extração de compostos aromáticos desejáveis que vão influenciar no aroma e sabor da cerveja a ser produzida e a isomerização do lúpulo. Na isomerização, os α -ácidos do lúpulo são convertidos em iso- α -ácidos, compostos responsáveis pelo sabor amargo característico da cerveja [19, 35, 39, 40].

Após o preparo, o mosto é resfriado, a fim de adequar a temperatura à inoculação da levedura, e areado com oxigênio que é essencial para a multiplicação das leveduras. Em seguida, o mosto recebe as leveduras e é colocado em tanques onde ocorrerá o processo de fermentação. Inicialmente, devido à alta quantidade de oxigênio dissolvido no meio, é produzido apenas dióxido de carbono e água. Consumido todo oxigênio, o processo de

fermentação é iniciado quando as leveduras passam a absorver os açúcares do mosto, produzindo dióxido de carbono e álcool como principais produtos da reação [19, 32, 36]:



O processo de fermentação também libera energia e, por isso, os tanques fermentadores devem ser resfriados durante essa etapa. Como produtos secundários, são produzidos ésteres (acetato de etila, acetato de isoamila, acetato de n-propila), ácidos (acético, propiônico) e álcoois superiores (propanol, 2-metilpropanol, 2-metilbutanol, 3-metilbutanol). Esses produtos garantem as propriedades organolépticas à cerveja, de modo que, a fermentação torna-se a etapa mais importante para definir o sabor da cerveja a ser produzida [41, 42].

Após a levedura ter fermentado todos os açúcares disponíveis no meio, o metabolismo desacelera e, conseqüentemente, a formação de CO₂ e álcool vai sendo reduzida. As células das leveduras floculam em conjunto para formar aglomerados que podem precipitar no fundo do recipiente ou flutuar na superfície do líquido, a depender do tipo de levedura utilizada [19, 43].

As leveduras do tipo *Saccharomyces pastorianus* são utilizadas na produção das cervejas de baixa fermentação, as cervejas do tipo *lager*, agem sob temperatura controlada entre 8-14 °C, e tendem a permanecer nas partes inferiores dos tanques. Para as cervejas de alta fermentação, classificadas como *ale*, a temperatura é mantida entre 18-25 °C e a fermentação é feita por leveduras do tipo *Saccharomyces cerevisiae*, que tendem a situar-se nas partes superior dos tanques [19, 36, 43].

Concluída a fermentação, a cerveja verde, que ainda possui leveduras em suspensão e uma parte de material fermentável, passa por uma fermentação secundária denominada maturação, que dura em torno de 6 a 30 dias. Então as leveduras restantes consomem os açúcares residuais e mais CO₂ é produzido. Sob temperatura controlada, entre 0 a 3 °C, ocorrerá a sedimentação das partículas suspensas no meio. O ajuste de aromas também ocorrerá nessa fase por meio da geração de ésteres que resultam de reações de esterificação entre os ácidos e os álcoois produzidos na fermentação [43].

Depois de maturada, a cerveja estará praticamente pronta, restando apenas um processo de centrifugação e de filtração para eliminar o restante de leveduras e as partículas em suspensão no meio [32, 35]. A cerveja pronta é estocada em tanques e, depois, segue para o envasamento que pode ser feito em garrafas, latas ou barris. Nessa fase, a cerveja é submetida à pasteurização, a fim de garantir esterilidade microbiológica e assegurar um maior prazo de validade após a fabricação. Durante o processo térmico de pasteurização, aplica-se um aquecimento entre 60 -

70°C em câmaras com jatos d'água em temperaturas escalonadas e posterior resfriamento. A cerveja não pasteurizada, comercializada em barris, recebe o nome de “chope”. Nesse caso, a validade normalmente é fixada em 10 dias para o chope claro, e 15 dias para o chope escuro [32, 35].

Geralmente, quando a produção é realizada em grande escala, todo esse processo descrito pode ser concluído em dez dias. Já na fabricação artesanal ou em uma microcervejaria, em que se busca fortes características de sabor e aroma, o tempo de produção dura em média vinte dias, a depender do tipo de cerveja produzida [35].

1.1.3 Tipos de cervejas

No Brasil, como em vários outros países, a lei permite que o malte de cevada e o lúpulo possam ser substituídos por seus respectivos extratos, sendo possível, também, a substituição parcial do malte por cereais maltados ou não, como o arroz, trigo, centeio, milho, aveia e sorgo (todos integrais), denominados adjuntos cervejeiros. No entanto, para ser denominada cerveja, é necessário possuir uma proporção de malte de cevada superior a 55%, em peso, sobre o extrato inicial, como fonte de açúcares [35, 44]. Cada empresa possui autonomia para definir a proporção de malte e adjunto em seus produtos conforme lhe convém, desde que esteja de acordo com as normas. No entanto, o uso de adjuntos em excesso pode resultar em uma cerveja pouco encorpada e com baixa qualidade de espuma [44].

A maioria das cervejas possui um teor alcoólico na faixa de 3 a 6% (v/v). Quanto ao teor alcoólico, as cervejas são classificadas como fracas (contendo cerca de 2 a 3% de álcool), médias (com cerca de 5% de álcool) e fortes (teor alcoólico maior que 5%) [45]. Essa variação está diretamente relacionada com o tipo de cerveja que se deseja produzir [37, 40].

Geralmente, as cervejas do tipo *ale* possuem aromas mais intensos e variados produzidos, principalmente, na fermentação [40]. Dentre os estilos *ale* destacam-se: a *stout* que é uma cerveja forte e amarga, produzida com malte tostado; a *porter* que é uma cerveja mais suave, se comparada com a *stout*, pois possui uma menor quantidade de etanol e as características do malte menos pronunciadas; e a *weissbier* que é uma cerveja clara feita à base de trigo [32, 36].

As cervejas do tipo *lager* são as mais populares e consumidas. Dentre elas, a cerveja *pilsen* destaca-se como a mais conhecida em todo o mundo, criada na cidade de Pilsen (República Tcheca) em 1842. É marcada por ser uma cerveja leve e de sabor suave, possui cor clara e teor alcoólico entre 4 a 5% [32, 40].

Dentre as cervejas do tipo *lager*, existem ainda a cerveja *malzebier*, que é uma cerveja escura e doce porque possui caramelo e xarope de açúcar, e apresenta teor alcoólico na faixa de 3 a 4,5%; a *munchner dunkel* que é a cerveja escura avermelhada (proveniente do malte tostado); e a cerveja *dark*, que também possui grande aceitação por ter um sabor mais forte e encorpado, coloração escura por usar malte torrado e caramelado, e teor alcoólico mais elevado frente à *pilsen*, entre 4% a 6% [32, 36].

Comercializa-se, ainda, a cerveja sem álcool, que apesar de possuir propriedades físico-químicas e sensoriais diferentes das tradicionais, passa por processos de fabricação semelhantes àqueles empregados na fabricação da cerveja alcoólica. No passado, empregava-se um rigoroso controle na etapa de fermentação para impedir a produção de etanol acima de 0,5% e uma menor dosagem de lúpulo era aplicada, a fim de evitar a formação excessiva dos α -hidroxiácidos que conferem um amargor mais acentuado na cerveja sem álcool [32].

Atualmente, a maioria das grandes indústrias cervejeiras empregam a técnica de destilação e recuperação de aromas. A cerveja é produzida normalmente e passa por um processo de desalcoholização, ou seja, uma destilação do álcool. Nesta etapa, alguns ésteres responsáveis pelo aroma da bebida também são evaporados; entretanto, eles são separados e depois reintroduzidos na bebida, tornando a cerveja sem álcool uma bebida tão saborosa quanto à alcoólica [46].

Apesar da cerveja ser resultado basicamente da combinação de água, malte e lúpulo, o sabor e o aroma ideal que ela deve obter é resultado da combinação de uma série de reações químicas que provém desde a maturação da cevada até o processo de envasamento e estocagem da cerveja pronta [19]. Além de ser uma bebida caracterizada pela presença de diversos compostos orgânicos, a cerveja ainda é fonte de minerais essenciais, incluindo macronutrientes (Na, K, Ca, Mg e P) e elementos traços (Fe, Zn, Se, Cu, Mn, Cr, Co e Ni), que também podem influenciar em suas propriedades nutricionais e organolépticas. Assim, um consumo regular de cerveja, em quantidade controlada, também pode ser benéfico ao corpo do ponto de vista da reposição mineral.

1.1.4 Espécies inorgânicas presentes em cervejas

Algumas espécies inorgânicas, que podem proceder da matéria-prima (água, cevada e outros grãos, e do lúpulo) utilizada para a fabricação de cervejas, também exercem função importante quando estão presentes em níveis adequados. O cálcio, por exemplo, é relevante para se obter uma cerveja estável e agradável ao paladar, protege a enzima amilase da desativação térmica durante a hidrólise do amido da cevada na etapa de brassagem, estimula o

metabolismo e a floculação da levedura e favorece a coagulação proteica durante a fervura do mosto. O cálcio ainda contribui na clarificação da cerveja, tornando-a mais límpida. O magnésio, assim como o cálcio, atua como um cofator enzimático essencial às enzimas da fermentação e respiração das leveduras. Em concentrações acima de 30 mg L^{-1} , o Mg pode contribuir com um amargor indesejável para a bebida [32, 36].

Adicionalmente, esses elementos possuem relações benéficas ao consumidor. O cálcio é um nutriente essencial porque está envolvido na coagulação sanguínea, na estrutura do sistema muscular, ao controlar processos essenciais na contração muscular (sistema locomotor, batimentos cardíacos), e também está ligado às funções de crescimento que são atividades das células cerebrais. O magnésio exerce um papel indispensável no metabolismo do corpo ao ser apontado como estabilizador das membranas intracelulares e como constituinte e ativador de muitas enzimas, particularmente àquelas associadas à conversão de compostos fosfatos ricos em energia [47].

O sódio contribui para o paladar salgado da cerveja, promovendo um equilíbrio de sabor. No entanto, em concentrações acima de 200 mg L^{-1} , pode ser veneno para as leveduras e prejudicial à saúde do consumidor [48]. O potássio é o macronutriente presente em maiores teores na bebida. Com concentrações que variam de 300 a 1000 mg L^{-1} , sua origem na cerveja, assim como a maioria dos outros íons, é proveniente da matéria-prima, principalmente do malte; e possui função semelhante ao sódio no equilíbrio do sabor da bebida [7, 49, 50]. O potássio também exerce importante função ao metabolismo humano, pois é responsável por regular a pressão osmótica das células, ajudar na contração dos músculos e controlar a pressão sanguínea [50, 51].

Tratando-se de sabor da cerveja, dois importantes íons que devem ser monitorados são cloreto e sulfato. A procedência desses íons está ligada com a água cervejeira e/ou com adição de alguns sais de minerais, como Ca e Zn, que geralmente são dosados nas etapas de fabricação da bebida em forma de CaCl_2 e ZnSO_4 . A relação entre Cl^- e SO_4^{2-} em uma cerveja é fundamental para suas características sensoriais. O Cl^- afeta o sabor da cerveja, aumentando a sensação de corpo e a doçura do malte, principalmente, quando em combinação com o sódio. Entretanto, concentrações de Cl^- acima de 300 mg L^{-1} , podem reprimir o sabor suave da bebida e provocar um efeito negativo na atividade das leveduras. O SO_4^{2-} ajuda na degradação do amido e das proteínas na etapa de brassagem, intensifica o sabor de lúpulo e suaviza o amargor. Deve-se destacar, entretanto, que concentrações de SO_4^{2-} acima de 300 mg L^{-1} conferem à cerveja um sabor sulfurado [48].

A cerveja também é citada como fonte rica em silício, uma vez que, a principal fonte deste mineral na dieta humana é através dos alimentos derivados de plantas, que acumulam silício na forma de fitólitos. Com altos níveis de Si biodisponíveis, a cerveja é apontada como uma das principais fontes para a ingestão de silício [52]. O silício ajuda a proteger o corpo humano dos efeitos tóxicos do alumínio devido à sua capacidade de ligar-se ao alumínio e eliminá-lo do corpo [53, 54]. Além disso, a deficiência de Si no corpo humano está associada à perda de componentes do tecido conjuntivo, como colágeno e elastina, e tem impacto negativo na densidade mineral óssea [55, 56].

Na cerveja ainda estão presentes os íons metálicos, que a depender da concentração, também podem afetar a qualidade da bebida de forma positiva ou negativa. Microelementos como zinco, manganês, cobre e ferro são apontados como importantes para a fisiologia celular das leveduras ao atuarem como cofatores enzimáticos das enzimas de respiração, fermentação e crescimento [5, 57]. Como são micronutrientes essenciais para as plantas, eles estarão presentes no malte e no lúpulo e, geralmente, são encontrados nas cervejas em concentrações que variam entre 0,05 - 0,1 mg L⁻¹ [51]. O zinco possui um papel importante na estimulação da levedura através da ativação das álcool desidrogenases, um conjunto de enzimas que contribuem no metabolismo da levedura. Dessa forma, o Zn é, geralmente, dosado durante a etapa de brassagem, adicionando cerca de 1 g de ZnSO₄ para cada 1000 g de mosto [48].

Metais como Zn, Fe e Cu desempenham um importante papel nos processos fisiológicos das leveduras atuando na síntese proteica e na composição fosfolipídica das membranas das leveduras, são importantes para o crescimento e metabolismo das mesmas, e atuam como cofatores em mais de 100 reações enzimáticas durante o processo de fermentação [58].

Em especial, as concentrações de Cu, Fe e Mn devem ser controladas, visto que, em concentrações elevadas, podem reduzir as atividades das leveduras. Além disso, tais espécies metálicas são conhecidas por acelerar a ativação molecular de espécies reativas contendo oxigênio (O₂⁻, OOH[·], H₂O₂, OH[·]) [59, 60]. As espécies reativas são indesejáveis porque podem formar complexos muito estáveis com diferentes classes de compostos orgânicos presentes no meio, incluindo polifenóis, álcoois, aminoácidos, ácidos graxos e iso- α -ácidos. A oxidação desses compostos orgânicos e a formação de complexos aceleram o processo de envelhecimento sensorial, com a perda de sabor e aroma, e a instabilidade coloidal da cerveja, caracterizada pela formação de turbidez e diminuição da estabilidade da espuma [59, 61]. Estudos sobre as formas em que as espécies metálicas estão presentes nas cervejas sugerem que estas possam ser encontrados em sua forma livre, ou ligadas a compostos fenólicos ou outras espécies orgânicas.

Os estados de oxidação dos íons metálicos nas cervejas também podem determinar sua contribuição para instabilidade oxidativa [62, 63].

A aptidão dos íons Mn para gerar espécies reativas de oxigênio ainda é considerada fraca, em comparação ao Cu e Fe. Entretanto, foi sugerido que o manganês pode atuar interagindo com complexos intermediários na oxidação de ferro e cobre, aumentando o efeito catalítico das reações que provocam a formação das espécies reativas de oxigênio [63, 64]. Concentrações de Cu, Fe e Mn acima de $50,0 \mu\text{g L}^{-1}$ são suficientes para catalisar as reações oxidativas que resultam na perda mais rápida da qualidade da cerveja ao longo do tempo. Assim a determinação da concentração desses metais é de especial importância e a presença dos mesmos deve ser minimizada e/ou controlada durante o processo de fabricação de cerveja [65, 66].

Entretanto, o controle da concentração dessas espécies metálicas ainda é um desafio para os cervejeiros, visto que, a procedência de tais espécies está ligada a fatores, como a concentração encontrada naturalmente no malte e no lúpulo, que dependem das condições de cultivo e processamento, e no potencial de lixiviação nos equipamentos das cervejarias. A cevada maltada e/ou outros grãos de cereais são apontados como a maior fonte porque são usados em maior quantidade, em relação ao lúpulo [66].

Um estudo demonstrou que metais como Cu, Fe, Mn e Zn estão presentes no interior dos grãos de cevada, no entanto a maior parte desses metais permanecem no bagaço dos grãos moídos (61,8% de Cu, 95,2% de Fe, 86,2% de Zn e 77,6% de Mg), que são descartados durante a etapa de lavagem e filtração do mosto, dessa forma, apenas uma pequena porcentagem desses metais permanece no meio. Além disso, as leveduras podem absorver esses metais que, ocasionalmente, migrarão para o mosto, e apenas uma quantidade insignificativa, com relação à concentração inicial nos grãos de malte, pode ser transferida para a cerveja [67].

O teor de metais presentes no lúpulo pode ser maior quando comparado com o malte, todavia, o lúpulo é utilizado em uma quantidade muito inferior àquela utilizada de malte na fabricação da cerveja. Particularmente, maiores concentrações de metais são relatadas em cervejas que passam pelo processo de *dry hopping* [67]. Esta etapa é realizada com o intuito de extrair os compostos aromáticos de lúpulo diretamente na cerveja, visto que, muitos desses compostos são volatilizados durante a fervura do mosto. No *dry hopping*, a cerveja pronta tem um contato direto com o lúpulo, o que pode ocasionar maior migração das espécies metálicas presentes nas flores de lúpulo utilizadas. Em especial, foi relatada maiores concentrações de Cu em cervejas de *dry hopping*, tais concentrações foram relacionadas com o uso de fertilizantes que contém cobre e são comumente utilizados cultivo de lúpulo [58]. O uso de fertilizantes e

agrotóxicos nos cultivos de malte e lúpulo também é apontado como uma das origens da contaminação de metais como As, Cd, Pb [58, 67].

As espécies metálicas ainda podem migrar para a cerveja como resultado de contaminação dos equipamentos utilizados nas cervejarias, como as tubulações, linhas de fluidos, vasos e tanques utilizados para a manipulação e estoque da cerveja, incluindo as etapas de fermentação, condicionamento, filtração e carbonatação [5]. O material mais comumente utilizado na fabricação de tanques é o aço cromo-níquel, fato que pode explicar a migração de Ni e Cr para a bebida. O aço cobre-alumínio também é utilizado nos revestimentos dos tanques, embora em menor grau, e pode provocar a migração de Co e Al para a bebida [61].

Além disso, os recipientes nos quais a cerveja fabricada é armazenada e transportada (barris, latas, garrafas) podem oferecer riscos de contaminação por espécies metálicas à bebida. No caso das embalagens de alumínio, quanto maior a temperatura de armazenamento, mais rápido poderá ocorrer a corrosão, independente do seu revestimento, e maior será o acúmulo desse metal na cerveja [5, 6]. O Al confere à cerveja um sabor metálico e amargo e tem sido alvo de interesse em estudos devido à migração das embalagens em latas para a bebida e por ser apontado como um dos possíveis fatores que contribuem para a doença de Alzheimer [61, 68]. O estanho também é utilizado como material das latas e pode migrar como um contaminante para as cervejas. No organismo, um excesso de estanho pode provocar distúrbios nos sistemas nervoso e respiratório [61].

De acordo com a Instrução Normativa nº 65 do Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) [69], de 10 de dezembro de 2019, o teor de contaminantes inorgânicos em cervejas devem obedecer às previsões contidas na Resolução RDC Anvisa nº 42/2013 para bebidas alcoólicas fermentadas [70]. Entretanto, apenas As, Pb, Cd e Sn são listadas como espécies a serem monitoradas. As concentrações máximas permitidas para As e Pb são de 0,1 e 0,2 mg L⁻¹, respectivamente, para as cervejas alcoólicas, e de 0,05 mg L⁻¹, para as duas espécies, nas cervejas sem álcool. Para Cd e Sn, os limites máximos são de 0,02 e 150 mg L⁻¹, respectivamente, sem especificações com relação ao tipo de cerveja. Ainda de acordo com a resolução, o monitoramento de Sn é sugerido apenas para as cervejas comercializadas em latas.

Conforme será discutido a seguir, técnicas espectrométricas de absorção atômica e as técnicas com fonte de plasma têm sido empregadas para a determinação de diferentes espécies inorgânicas em amostras de cervejas.

1.2 TÉCNICAS ANALÍTICAS PARA A DETERMINAÇÃO DE ESPÉCIES INORGÂNICAS EM AMOSTRAS DE CERVEJAS

1.2.1 Espectrometria de absorção atômica

A espectrometria de absorção atômica (AAS) é uma técnica amplamente difundida e empregada para a determinação de espécies inorgânicas nos mais diversos tipos de amostras [71, 72]. Fundamentada na ideia de que cada átomo é capaz de absorver a própria radiação, uma fonte espectral emite radiação na faixa UV-vis, de comprimento de onda específico, que será absorvida por átomos livres no estado gasoso concentrados em uma nuvem eletrônica formada pelo aumento da temperatura no interior de atomizadores [71, 73].

A espectrometria de absorção atômica pode ser empregada com três diferentes processos de atomização: a espectrometria de absorção atômica com chama (F AAS), a espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (ET AAS), e a espectrometria de absorção atômica com geração de vapor químico (CVG AAS). A escolha da técnica ideal é determinada pela natureza química do analito e sua concentração na amostra, bem como a composição da matriz [71, 74]. A espectrometria de absorção atômica com chama é geralmente utilizada para a excitação de átomos e íons com energia de excitação relativamente baixa, e a determinação é realizada em níveis de mg L^{-1} , enquanto a ET AAS é comumente empregada para determinações de concentrações em níveis traço ($\mu\text{g L}^{-1}$) [71, 75]. A espectrometria de absorção atômica com geração de vapor químico é altamente sensível, pois o analito é convertido em um composto volátil e transportado diretamente ao atomizador, e possui aplicação na determinação de elementos voláteis, como As, Sb, Se, Bi, Cd, Pb e Hg [76, 77].

Nas determinações por F AAS, a amostra é uma das etapas cruciais para obter bons resultados. A solução da amostra é aspirada e nebulizada na forma de aerossol em uma câmara de nebulização, que controla as gotículas que chegarão à chama (cerca de 5 a 10% do volume da amostra). Na chama, ocorrerá processos de dessolvatação, vaporização e atomização [71]. É importante que a amostra líquida esteja livre de sólidos dissolvidos, para evitar problemas de transporte até a chama e, conseqüentemente, comprometer a sensibilidade da técnica.

Nas determinações por ET AAS, a amostra, líquida ou sólida, é inserida diretamente no interior de um tubo, utilizando um programa de aquecimento eletrotérmico através de aquecimento eletrotérmico. Caso o material do tubo seja grafite pirolítico, então, a técnica é denominada como espectrometria de absorção atômica com atomização em forno de grafite (GF AAS). No entanto, são comuns problemas relacionados às interferências provocadas pela matriz e volatilidade dos analitos [71]. Tais dificuldades podem ser contornadas com uma

eficiente otimização do programa de temperatura e uma escolha correta de um modificador químico [74].

O modificador químico pode ser adicionado à amostra durante as medidas ou pode ser impregnado no interior do tubo de grafite (modificador permanente) [78], e tem como função favorecer a separação entre analito e matriz, reduzindo as interferências na fase de vapor, e minimizar possíveis perdas do analito durante a etapa de pirólise [75, 79]. Elementos, como V [80], Al [81], W e Ir [82], Pd e Pt [83], têm sido propostos como modificadores químicos na determinação de diferentes elementos por GF AAS. Entretanto, a mistura de Pd/Mg, conhecida como modificador universal [84, 85], é a mais comumente empregada em tais determinações [86-89].

As fontes de radiação convencionalmente utilizadas em AAS são as fontes de linhas, que empregam lâmpadas de cátodo oco, especialmente elaboradas para emitir a radiação específica para cada elemento a ser determinado, o que torna a técnica seletiva e específica. Entretanto, o emprego de uma lâmpada de cátodo oco representa uma das limitações da espectrometria de absorção atômica com fonte de linha (LS AAS), ao tornar a técnica monoelementar, o que ocasiona procedimentos demorados se houver a pretensão de se determinar vários elementos em diversas amostras. Além disso, é requerido um estoque de lâmpadas, que possuem vida útil limitadas [71, 90].

Outra limitação das fontes de linhas surge devido à absorção ser medida apenas em intervalos espectrais estreitos, que correspondem à largura de linha atômica emitida pela lâmpada, restringindo a informação sobre o ambiente espectral do sinal analítico, o que pode causar problemas relativos à absorção de sinais de fundo [72, 90].

No ano de 2004, foi comercializado o primeiro espectrômetro de absorção atômica com fonte contínua e de alta resolução (HR-CS AAS). O equipamento utiliza uma fonte contínua de alta intensidade associada a um sistema de monocromadores de alta resolução, e um detector de carga acoplada (CCD) [91]. A fonte utilizada é uma lâmpada de arco curto de xenônio de alta pressão (15 bar, quando fria), constituída por dois eletrodos de tungstênio, cuja emissão abrange a faixa contínua entre 190 e 850 nm, toda a faixa espectral utilizada na AAS. A lâmpada é operada a uma potência de 300W, de forma que, a intensidade de emissão é excedida a de uma lâmpada de cátodo oco em cerca de duas ordens de magnitude [13, 73, 90].

Devido à alta resolução e ao detector CCD, na HR-CS AAS, a natureza dos sinais de fundo e sua distribuição espectral tornam-se visíveis, o que favorece para que uma medida apropriada seja tomada para sua correção. Adicionalmente, a medida de absorção atômica e do sinal de fundo ocorrem de forma simultânea, tornando-se possível a visualização até mesmo

dos sinais de fundo mais rápidos [13, 73]. O espectrômetro dispõe de um sistema para correção de interferências por um algoritmo de mínimos quadrados, que está baseado na referência de um espectro com o mesmo comportamento que a interferência em questão e na subtração do sinal interferente sem alterar o sinal do elemento de interesse [72, 92].

A determinação de espécies inorgânicas em amostras de cervejas utilizando técnicas de AAS é comumente relatada em diferentes estudos, conforme listados na Tabela 1.1. Alguns autores relataram a necessidade de destruir a matéria orgânica nas determinações por F AAS e empregaram a digestão ácida como forma de pré-tratamento da amostra [11, 62]. Uma vez que, a cerveja é uma amostra de matriz complexa, outros tipos de preparo de amostra, como a diluição, podem implicar em problemas de flutuações da chama e depósito de partículas sólidas no sistema de introdução de amostra [11]. Para as determinações por GF AAS, a maioria dos trabalhos empregam apenas a degaseificação e diluição das amostras como forma de pré-tratamento, uma vez que toda matriz da amostra é pirolisada e evaporada no forno de grafite, e não são relatados problemas com relação ao sistema de introdução das amostras. Todavia, o uso de modificador químico é relatado para contornar possíveis interferências provocadas pela matriz [12, 93, 94].

Tabela 1.1 Determinação de espécies inorgânicas em cervejas por espectrometria de absorção atômica.

(continua)

Técnica	Analitos	Tipo de cerveja	Preparo da amostra	Limites de detecção	Recuperação, %	Referência
F AAS	Fe, Mn, Cu, Zn, Ca e Mg	Ale (<i>Stout</i> , <i>Weissbie</i>) <i>Lager</i> (<i>Pilsen</i>)	Degaseificação seguida da digestão ácida em micro-ondas usando HNO ₃ concentrado e H ₂ O ₂ 30% (m/m)	--	--	[11]
	Ag, Cd, Cu, Fe, In, Mn, Pb, Tl e Zn	<i>Lager</i> (<i>Pilsen</i>)	Pré-concentração empregando um sistema integrado de aprisionamento de átomos (IAT) montado no queimador	^[2] Ag (0,6); Cd (0,5); Cu (3,0); Fe (5,0); In (10,0); Mn (1,2); Pb (4,0); Tl (10,0); Zn (0,1)	--	[95]
	Cu, Fe e Mn	<i>Lager</i> (<i>Pilsen</i>)	Degaseificação seguida da digestão ácida em placa aquecedora usando HNO ₃ concentrado e H ₂ O ₂ 30% (m/m)	^[1] Cu (0,008); Fe (0,010); Mn (0,007)	Cu 100 – 101 Fe 98 – 100 Mn 100 – 102	[62]
	Fe	<i>Lager</i> (<i>Pilsen</i>)	Degaseificação seguida da digestão ácida em placa aquecedora usando H ₂ SO ₄ concentrado e H ₂ O ₂ 30% (m/m)	--	--	[96]
	Pb	<i>Lager</i> (<i>Pilsen</i>)	Pré-concentração e separação de Pb por extração em fase sólida	^[3] 0,36	99,4-101,9	[97]
	Cd, Cr, Cu, Ni e Pb	--	Degaseificação seguida da digestão ácida com HNO ₃ concentrado e H ₂ O ₂ 30% (m/m)	^[1] Cd 0,002 Cr 0,013 Cu 0,008 Ni 0,023 Pb 0,009	Cd 99,2 Cr 90,9 Cu 95,2 Ni 96,5 Pb 104,3	[98]
	*Cu, Fe, Mg, Na, K, Mn, and Ca	<i>Ale e Lager</i>	Degaseificação seguida da diluição com solução de HCl 1,0% (v/v) para determinação de macroelementos e digestão ácida com HNO ₃ concentrado e H ₂ O ₂ 30% (m/m) para determinação de microelementos	^[1] Na (0,012); K (0,034) Mg (0,024) Ca (0,0036) Fe (0,0028) Mn (0,00045) Cu (0,0067)	--	[99]

^[1] mg L⁻¹; ^[2] ng mL⁻¹; ^[3] µg L⁻¹; -- não informado; *Determinação feita por HR CS F AAS; **Determinação feita por HR CS GF AAS

Tabela 1.1 Determinação de espécies inorgânicas em cervejas por espectrometria de absorção atômica. (conclusão)

Técnica	Analitos	Tipo de cerveja	Preparo da amostra	Limites de detecção	Recuperação, %	Referência
GF AAS	Al, Cu, Cd, e Pb	<i>Lager (pilsen e Dark); sem álcool</i>	Após degaseificadas, as amostras foram diluídas em HNO ₃ 0,2% na proporção de 1:1	^[3] Al (1,9); Cu (2,9); Pb (0,8); Cd (0,6);	Al 105 Cu 104 Pb 101 Cd 102	[93]
	Cd, Pb	<i>Lager (pilsen e Dark) sem álcool</i>	Após degaseificadas, as amostras foram diluídas em uma solução contendo 5% de Triton X100 + HNO ₃ 0,2%	--	Pb 91 Cd 76	[100]
	Cu, Fe, Mn	<i>Lager (Pilsen)</i>	As amostras foram degaseificadas e diluídas em água na proporção de 1:9	^[3] Cu (0,95); Fe (1,70); Mn (1,50)	--	[101]
	Cr	<i>Lager (Pilsen)</i>	Cr total – cerveja tratada com H ₂ O ₂ , HNO ₃ e HCl sob aquecimento em estufa (105°C) por 17 h; Cr (VI) - cerveja + acetato de sódio 3% + alizarina 0,001% até um pH final de 5,5 para retenção em coluna cromatográfica	^[3] Cr total (0,26) Cr (VI) (0,68)	Cr total 93,3 – 96,0 Cr (VI) 94,3 - 95,3	[102]
	Al, Pb	<i>Lager (Pilsen)</i>	Degaseificação	^[3] Al (4,8); Pb (1,6)	Al 89 -95 Pb 97 -98	[94]
	**Cl, Fe e Si	<i>Lager (Pilsen)</i>	Radiação UV	^[1] Cl (0,05) ^[3] Fe (2,0) ^[1] Si (0,08)	85-120	[12]

^[1] mg L⁻¹; ^[2] ng mL⁻¹; ^[3] µg L⁻¹; -- não informado; *Determinação feita por HR CS F AAS; **Determinação feita por HR CS GF AAS;

Na Tabela 1.1, é possível destacar que a F AAS é comumente empregada para determinações de elementos que estão presentes nas cervejas em concentrações mais elevadas, como Ca, Mg, Zn, Cu, Fe e Mn [11, 62, 96]. Devido à menor sensibilidade da técnica, quando comparada com a GF AAS, limites de detecção na ordem de mg L^{-1} são obtidos. A quantificação de elementos em níveis de traço, como Cd e Pb, empregando a técnica, exige etapas de pré-tratamento da amostra que possibilitem a extração e pré-concentração do analito [95, 97]. Em oposição, nos trabalhos que utilizaram a GF AAS, limites de detecção na ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$ foram alcançados, o que é possível devido maior sensibilidade que a técnica possui frente à F AAS.

No trabalho de Zambrzycka-Szelewa et al., foi apresentado um método para a determinação sequencial de macro e microelementos (K, Na, Mg, Ca, Cu, Fe e Mn) em amostras de cervejas por HR CS F AAS [99]. Os resultados mostraram grandes variações na concentração desses elementos entre os diferentes tipos e marcas de cervejas analisadas, com diferenças variando de um fator de 2 (para o K) a um fator de 30 (para o Fe). O potássio foi encontrado em maior nível de concentração em todas as amostras com variações entre 357 e 855 mg L^{-1} , confirmando que a cerveja pode ser uma fonte significativa de K para o organismo humano. Os resultados ainda mostraram maiores teores de Ca e Mg e menores teores de Na nas cervejas de baixa fermentação (*lagers*), quando comparadas com as cervejas de alta fermentação (*ales*). Além disso, várias amostras apresentaram altos teores de Fe e Mn, com valores máximos de 1,87 e 0,27 mg L^{-1} , respectivamente. Os autores também ressaltaram a importância de um rigoroso monitoramento do teor desses metais durante o processo de produção de cerveja.

É importante pontuar que a maioria dos trabalhos listados na Tabela 1.1 incluiu Fe, Cu e Mn como analitos a serem determinados, o que evidencia a importância da determinação dessas espécies metálicas em amostras de cervejas, pois conforme discutido anteriormente, concentrações acima daquelas recomendadas podem comprometer a qualidade e estabilidade da bebida. Concentrações de Fe entre 0,0059 - 0,545 mg L^{-1} , de Cu entre 0,071 - 0,114 mg L^{-1} , e de Mn entre 0,044 - 0,207 mg L^{-1} foram reportadas [11, 62, 98].

A ação desses metais ainda dependerá da forma química a qual estarão presentes na bebida, podendo ser livres ou ligados aos compostos orgânicos. Svedsen et al. realizaram a especiação química das espécies de Fe, Cu e Mn em amostras de cervejas através de determinação por GF AAS, empregando a cromatografia por troca iônica e por exclusão de tamanho para a separação das espécies [101]. Os resultados do trabalho ainda mostraram que, provavelmente, o Mn presente na cerveja encontra-se como Mn^{2+} , pois todas as espécies de Mn foram carregadas positivamente. Em contraste, todas as espécies de Fe foram carregadas

negativamente, indicando a presença de complexos de Fe. Para o cobre, espécies negativas e positivas foram detectadas. O estudo ainda indicou que os prováveis ligantes responsáveis pela complexação de Fe e Cu podem ser fenóis poliméricos ou ácido fítico.

Em outro trabalho, desenvolvido por Pohl et al., estudou-se a extensão da complexação orgânica de íons Mn, Cu e Fe em cervejas, empregando a extração em fase sólida como método de separação e posterior determinação por F AAS [62]. Os resultados mostraram que, apesar da maior parte das espécies de Mn predominarem na forma catiônica, cerca de 22-42% apresentaram estar associadas, formando prováveis complexos com aminoácidos e ácidos orgânicos de origem primária ou produtos secundários do álcool gerados na fermentação. Foi estabelecido que cerca de 8% do Mn total presente na cerveja estaria complexado com substâncias fenólicas. Tais estudos, são de notável importância, pois a complexação metálica pode comprometer as propriedades antioxidantes peculiares da bebida.

Outro caso que requer atenção especial refere-se à presença de espécies potencialmente tóxicas como Pb, Cd e As, que já foram detectadas em amostras de cervejas como provável resultado da contaminação da matéria-prima ou dos materiais utilizados nas etapas de fabricação [19]. Soares et al. realizaram a determinação de Pb e Cd em trinta e seis amostras de cervejas comerciais produzidas em setes diferentes estados do Brasil por GF AAS. Concentrações médias de $37 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb e de $1,6 \mu\text{g L}^{-1}$ Cd foram relatadas. O estudo ainda pontuou que não houve diferenças significativas entre os resultados encontrados para amostras de cervejas produzidas em zona rural e aquelas produzidas em zona urbana [100]. Em outros estudos, foram relatadas concentrações de chumbo entre $65 - 105 \mu\text{g L}^{-1}$ [95] e concentração média de arsênio de $6,51 \text{ ng g}^{-1}$ [103].

Vieira et al. realizaram a determinação de cromo total e de cromo hexavalente em amostras de cervejas *lagers* por GF AAS com o objetivo de investigar a variabilidade do conteúdo dessas espécies em diversas amostras de cervejas *lagers* de diferentes estilos, armazenadas em embalagens de vidro e latas, e estimar a ingestão diária de cromo total e cromo hexavalente através do consumo de cervejas. A extração do cromo hexavalente foi realizada por extração em fase sólida (SPE) e os limites de detecção foram de $0,26$ e $0,68 \mu\text{g L}^{-1}$ para Cr total e Cr (VI), respectivamente. O conteúdo de Cr total variou entre $<0,87$ e $16,4 \mu\text{g L}^{-1}$, enquanto o conteúdo médio de Cr (VI), espécie potencialmente tóxica, foi entre $<2,51$ e $13,0 \mu\text{g L}^{-1}$, sendo os maiores valores de Cr total e de Cr (VI) apresentados por uma amostra de cerveja de baixo teor alcoólico, armazenada em embalagem de vidro. O estudo concluiu que, ao considerar uma ingestão diária de 500 mL de cerveja, tal consumo pode contribuir com

aproximadamente entre 2,28 a 8,64 e entre 1,6 a 6,17% da ingestão diária de cromo recomendada para mulheres e homens, respectivamente [102].

Apesar de muitos trabalhos publicados na literatura empregarem as técnicas de AAS para a quantificação de metais em cervejas, a espectrometria atômica envolvendo as técnicas com fonte de plasma também é comumente empregada para tais aplicações devido à capacidade de determinação multielementar de maneira mais prática.

1.2.2 Técnicas espectrométricas com fonte de plasma

As técnicas espectrométricas, que utilizam o plasma como fonte de atomização e excitação de átomos e íons, são: a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES), a espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) e a espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas (MIP OES).

Nas técnicas de plasma, assim como em F AAS, o sistema de introdução da amostra é considerado uma parte crucial para a eficiência da determinação. A amostra deve ser introduzida na forma líquida ou em suspensão, de modo que, possua condições de ser facilmente transportadas até o plasma. Caso contrário, a sensibilidade da técnica poderá ser comprometida [104-106].

A maioria dos sistemas de introdução de amostras utiliza um nebulizador pneumático para gerar um aerossol a ser atomizado no plasma, mas apenas cerca de 5% desse aerossol consegue chegar ao plasma. Se uma grande quantidade de aerossol da amostra chegar ao plasma, poderá ocorrer a redução da temperatura do mesmo, resultando na incompleta atomização e aumento de interferências causadas por componentes da matriz e interferências espectrais [104, 105].

A espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado possui ampla aplicação no desenvolvimento de metodologias para diversos tipos de amostras em razão de sua capacidade para determinação simultânea multielementar com baixos limites de detecção, boa precisão e possibilidade de ampla faixa linear de trabalho [107-109]. Entretanto, as determinações utilizando esta técnica estão propensas às interferências espectrais e não espectrais. As espectrais são geradas pela superposição de linhas de emissão e podem ser resolvidas por meio da escolha da linha de emissão mais conveniente para cada analito. As interferências não espectrais são causadas, principalmente, pela ineficiência nas etapas de nebulização, transporte da amostra e pela presença de elementos facilmente ionizáveis tais como sódio e potássio que podem reduzir os sinais de emissão nas linhas iônicas de outros analitos bem como de outros componentes presentes na matriz [110-112].

A espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado chama atenção pela sua alta sensibilidade e aplicabilidade na determinação de elementos-traço. Proposta por Houk et al. em 1980, o acoplamento de um ICP a um espectrômetro de massas resultou em uma das técnicas mais poderosas para análise multielementar. Com limites de detecção na ordem de ng L^{-1} , a determinação baseia-se na medida da razão massa/carga de íons positivos que são gerados no plasma à pressão atmosférica e extraídos através de cones (Skimmer e de amostragem) para o espectrômetro de massas, uma zona de alto vácuo, na qual estão localizadas as lentes de focalização, o analisador de massas e o detector. Os cones possuem a função de extrair uma representativa população de íons e transferí-los para a região de alto vácuo. As lentes, focalizam os íons para o analisador de massas e removem fótons e partículas neutras. Ao chegarem no analisador de massas, os íons são separados em função da razão massa/carga através do transporte sob ação de campos elétricos e magnéticos, que modificam suas trajetórias, fazendo com que, apenas os íons de razão massa/carga selecionados cheguem ao detector [104, 113].

A técnica ainda oferece diversas possibilidades de quantificação para um determinado analito, já que a maioria dos elementos se encontra em diferentes formas isotópicas e geram diferentes massas espectrais em diferentes abundâncias. No entanto, as determinações por ICP-MS também estão susceptíveis aos problemas com interferências [114, 115]. As interferências espectrais são originadas a partir da formação de espécies que possuem a mesma razão massa/carga do analito, podendo gerar resultados equivocados para a determinação pretendida. As principais interferências não espectrais estão relacionadas ao efeito de matriz [115].

A espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas foi apresentada ao mercado em 2011 e, desde então, vem sendo bastante explorada para determinações multielementares. A técnica está fundamentada no uso de um campo magnético de micro-ondas de 2,445 GHz para manter um plasma de nitrogênio sob uma temperatura de aproximadamente ~ 5000 K e uma energia em torno de 14,534 eV. O plasma é mantido por um gerador de nitrogênio que extrai o gás do ar, o que faz a técnica apresentar menor custo operacional, se comparada às outras técnicas existentes, que mantêm o plasma com o uso do gás de argônio (~ 8000 K), como a ICP OES e ICP-MS [116, 117]. O N_2 -MIP é visualizado de forma axial, e a emissão dos analitos é medida sequencialmente.

A eficiência do MIP OES nas determinações multielementares em amostras de cervejas foi relatada por Leão et al. [118]. Os autores fizeram um estudo de comparação entre MIP OES e F AAS para a análise das amostras após a decomposição em bloco digestor auxiliado com um sistema de refluxo com dedo frio, para a determinação de Ca, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni e Zn. Os resultados demonstraram maior sensibilidade para a determinação dos elementos por MIP OES,

frente à técnica F AAS, apresentando melhores coeficientes angulares para as curvas de calibração, os quais, aliado a uma melhor precisão (menor desvio padrão), forneceu baixos valores de limites de detecção e de quantificação. O uso do MIP OES ainda possibilitou maior frequência analítica, pois permitiu a análise multielementar, reduzindo significativamente os custos das determinações, já que necessita de pequenas quantidades de amostra e não requer o uso de gases especiais.

A determinação de espécies inorgânicas em cervejas e outros tipos de bebidas alcoólicas por MIP OES também foi relatada por Gonçalves et al.. Neste estudo, os autores empregaram a filtração seguida da diluição em HNO₃ 1% (v/v) como preparo da amostra para determinação de Al, Co, Cr, Cu, Mn, Ni e Zn. Ítrio foi utilizado como padrão interno para correção de possíveis efeitos de matriz e erros instrumentais [119]. O método demonstrou robustez e exatidão, que foi confirmada por testes de adição e recuperação, com valores entre 89% e 128%.

Na Tabela 1.2, estão listados alguns trabalhos para determinação de diferentes espécies inorgânicas em cervejas por meio de técnicas espectrométricas com fonte de plasma.

Tabela 1.2 Determinação de espécies inorgânicas em cervejas empregando técnicas espectrométricas com fonte de plasma.

(continua)

Técnica	Tipo de cerveja	Analitos	Padrão Interno	Preparo da amostra	Limites de detecção	Referência
ICP OES	<i>Lager (pilsen e dark); sem álcool</i>	Al, B, Ba, Ca, Fe, K, Mg, Mn, Na, P, Sr e Zn, Cr e Cu;	--	Degaseificação em banho ultrassônico seguida de digestão ácida	--	[49, 120]
	<i>Lager (pilsen)</i>	Cu, Mn e Fe	--	Degaseificação e introdução direta	^[1] Cu (1,1); Mn (0,3); Fe (1,1)	[121]
	<i>Lager (pilsen e malzebier)</i>	Al, Cr, Cu, Fe, Mn, Zn, Ca, Mg, Na, K e P	La	Degaseificação e introdução direta	--	[7]
	<i>Lager (pilsen)</i>	As, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Pb, Se e Zn	Y	Degaseificação seguida da diluição em solução de HNO ₃ 1% (v/v) em um fator de 10 vezes	^[1] As (20); Cd (3); Cr (5); Cu (6), Fe (8), Mn (7); Pb (10); Se (20); Zn (10)	[122]
ICP MS	<i>Lager (pilsen e malzebier); Ale (weissbier)</i>	Al, As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mo, Mn, Ni, Se, Sr, Pb e Zn	--	Degaseificação seguida de digestão em micro-ondas com HNO ₃ concentrado (69%, m/m) e H ₂ O ₂ 30% (m/m)	^[2] Al (39,9); As (1,19); Ba (0,65); Cd (0,19), Co (0,36); Cr (3,36); Cu (1,28); Fe (77,4), Mo (1,21); Mn (3,44); Ni (2,92); Se (1,25); Sr (1,09); Pb (0,93); Zn (19,6)	[9]
	<i>Lager (artesanal)</i>	As, Cd, Cr, Cu, Fe, Ni, Pb e Zn	In	Degaseificação seguida da digestão ácida em micro-ondas com HNO ₃ concentrado (65%, m/m), H ₂ O ₂ 30% (m/m) e HF (50% m/m)	^[1] As (1,49), Cd (0,46), Cr (0,35); Cu (4,12); Fe (2,01); Ni (5,70); Pb (1,06); Zn (3,79)	[57]
	<i>Lager (pilsen, munchner dunkel); Ale (dark); Sem álcool</i>	Ga, In, Sn, Hg, Tl, Bi, As, Sb, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Ag, Cd, Rb, Cs, Pb, Th and U	Rh	Digestão ácida em micro-ondas com HNO ₃ concentrado (65%, m/m) e H ₂ O ₂ 30% (m/m)	--	[123]
	<i>Lager (pilsen, dark);</i>	Al, As, Ba, Cd, Ni, Zn, Mn e Pb	--	Degaseificação seguida de filtração em membrana de 0,45 μm e diluição de 20 vezes em HNO ₃ concentrado	^[1] Al (0,003); As (0,0004); Ba (0,0009); Cd (0,0011); Cu (0,0013); Cr (0,012); Ni e Zn (0,003) Mn e Pb (0,004)	[124]
	<i>Lager (pilsen); Ale(weissbier);</i>	V, Cr, Co, Ni, As, Se, Mo, Cd, In, Sb, Cs, Pb, Bi e U	--	Degaseificação seguida da digestão em bloco digestor com HNO ₃ concentrado (65%, m/m) e H ₂ O ₂ 30% (m/m)	---	[125]

^[1] μg L⁻¹; ^[2] ng L⁻¹; -- não informado.

Tabela 1.2 Determinação de espécies inorgânicas em cervejas empregando técnicas espectrométricas com fonte de plasma. (conclusão)

Técnica	Tipo de cerveja	Analitos	Padrão Interno	Preparo da amostra	Limites de detecção	Referência
ICP-MS	<i>Lager (pilsen); Ale (stout)</i>	As, Cd, Pb	--	Degaseificação seguida da digestão ácida em bloco digestor com HNO ₃ concentrado (65%, m/m) e H ₂ O ₂ 30% (m/m)	^[1] As (5,1); Cd (2,5); Pb (8,6)	[126]
	<i>Ale (india pale ale, lambic, stout, porter); Lager (</i>	Al, As, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cs, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Pb, Se, Sr, U, V e Zn	Sc, Rh e Ir	Degaseificação seguida da diluição em HNO ₃ 1% (v/v)	--	[127]
	<i>Lager (Pilsen, Dark); Ale (Weissbier);</i>	Ca, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni e Zn	--	Degaseificação seguida de digestão ácida em bloco digestor	^[1] Ca (7,0); Fe (10,0); K (2,0); Mg (7,0); Mn (1,0); Na (2,0); Ni (1,0); Zn (15,0)	[118]
MIP OES	<i>Lager (Pilsen)</i>	Al, Co, Cr, Cu, Mn, Ni e Zn	Y	Filtração em papel de filtro com diâmetro de poros 0,45 µm seguida da diluição em 4 vezes com solução de HNO ₃ 1% (v/v).	^[1] Al (20); Co (100); Cr (40); Cu (10); Mn (30); Ni (40); Zn (500)	[119]
	<i>Lager (Pilsen, Dark e artesanal)</i>	Al, Ba, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Sr, Zn, Ca, Mg, Na e K	Be, Ga e In	Diluição em solução de HNO ₃ 1,0 mol L ⁻¹ na proporção de 1:4 (amostra: solução ácida)	^[1] Al (4,60); Ba (4,20); Co (1,12); Cr (0,25); Cu (0,80); Fe (3,03); Mn (0,23); Ni (1,17); Sr (0,46); Zn (3,80); Ca (300); Mg (10,0); Na (620); K(260)	[8]

^[1] µg L⁻¹; ^[2] ng L⁻¹; -- não informado.

Conforme os dados expostos na Tabela 1.2, é possível destacar que ainda existem poucas publicações empregando MIP OES para a determinação de espécies inorgânicas em amostras de cervejas. Por outro lado, observa-se maior número de publicações utilizando ICP OES e ICP-MS para esse tipo de amostra, técnicas mais antigas e bem estabelecidas. É notável também que a maioria dos trabalhos publicados emprega a digestão ácida como principal forma de preparo das amostras de cervejas, já que se trata de uma matriz com uma alta carga de compostos orgânicos, que podem comprometer a introdução da amostra no sistema, bem como o transporte até o plasma e gerar resultados equivocados.

É importante atentar-se que, para a determinação de elementos facilmente ionizáveis, como Ca, Mg, Na e K, condições adequadas de diluição da amostra devem ser consideradas. Amostras contendo altas concentrações de sais dessas espécies podem comprometer o sistema de introdução de amostras, provocando o entupimento do nebulizador e o acúmulo de sólidos na tocha, assim como podem provocar a extinção do plasma [128]. Em ICP-MS, particularmente, altas concentrações de macroelementos podem provocar a contaminação das lentes e a deposição de materiais sólidos nos orifícios dos cones. A presença Ca, Mg, Na e K ainda pode ocasionar efeitos de matriz, e interferir nos sinais analíticos de outros elementos a serem quantificados [104]. A variação nas concentrações dessas espécies encontradas em alguns trabalhos listados na Tabela 1.2 foram entre (mg L^{-1}): Na (8,4 - 129,6); K (245,6 - 636,0); Mg (43,1 - 203,4); Ca (5,68 - 127,00). Estes valores mostram que a cerveja é uma excelente fonte repositora desses eletrólitos essenciais ao bom funcionamento do organismo humano [19, 118].

Apesar de ser relatado a necessidade da diluição ou digestão ácida no preparo de amostras de cervejas, na literatura foi encontrado trabalhos relatando a determinação direta de macro e microelementos em cervejas por ICP OES [7, 121], empregando apenas a degaseificação em banho ultrassônico como preparo da amostra, visto que, a presença de CO_2 também pode causar interferências e extinguir o plasma [129]. Asfaw et al. ressaltaram a importância da criteriosa atenção na escolha das linhas analíticas utilizadas para a determinação direta em amostras de cervejas por ICP OES [121]. Os autores também destacaram que, a potência de radiofrequência deve ser suficientemente alta para obter resultados precisos, e recomendaram a utilização do nebulizador tipo V-groove, indicado para soluções que contêm altos teores de sais dissolvidos.

O trabalho desenvolvido por Alexa et al. teve como principal objetivo verificar se os microelementos investigados poderiam ser encontrados nas amostras de cervejas em concentrações que oferecessem riscos à saúde de quem a consumisse de forma moderada [9]. Vinte e quatro amostras de diferentes tipos de cervejas produzidas em cinco países foram

analisadas por ICP-MS. Todas as amostras apresentaram concentrações de Cd e Fe menores que os limites de detecção estabelecidos para o método. Poucas amostras permitiram a detecção e quantificação de Al. O Mn foi o elemento que apresentou maiores concentrações, seguido por Sr, Al, Co, Se e Cr. Os resultados da pesquisa também mostraram diferenças significativas na determinação do mesmo elemento entre os tipos de cervejas em alguns países, o que é justificável, pois a maioria dos metais presentes na cerveja provem da matéria-prima com diferentes formas de procedência, cultivo e estocagem [5, 19]. Além da influência da matéria-prima, a água utilizada em todas as etapas da fabricação exerce grande influência na presença desses microelementos no produto. Os resultados obtidos pelo trabalho possibilitaram concluir que o consumo de cerveja, com moderação, não oferece nenhum efeito adverso à saúde, com relação a toxicidade dos microelementos analisados, pois nenhum deles foi encontrado em concentrações que comprometessem a saúde do consumidor [9].

O trabalho de Rodrigo et al. teve como objetivo estudar a composição mineral de 125 amostras de cervejas, de diferentes estilos fabricadas em diferentes países, por ICP-MS [127]. Nesse estudo, maiores concentrações dos macroelementos Ca, K e Mg foram observadas nas cervejas do estilo *India pale ale (IPA, tipo ale)*, enquanto as cervejas do tipo *lager* apresentaram as menores concentrações desses minerais. Os autores pontuaram os diferentes tipos de leveduras utilizadas na fabricação desses tipos de cervejas como uma provável explicação para essa diferença. As cervejas *lambic*, que são fermentadas naturalmente sem a adição de leveduras e geralmente envelhecidas em barris de carvalho, apresentaram os maiores níveis de Al, Cd, Co, Cr, Fe, Mn, Ni. Cervejas mais robustas como a *porter* e a *stout*, que são cervejas escuras, apresentaram maiores concentrações de Zn, Sr e Mo. Em comparação às cervejas fabricadas em diferentes países, não houve diferenças entre as cervejas do mesmo estilo. Assim, os autores concluíram que o estilo da cerveja teve maior relevância na composição mineral do que a origem ou o tipo de recipientes que estavam armazenadas, o que pode ser explicado pelos diferentes processos de fermentação, visto que, a depender do tipo, algumas leveduras consomem as espécies minerais presentes no mosto durante a fermentação.

A análise de cervejas por ICP-MS também foi investigada por Voica et al., que encontraram os seguintes resultados em termos de concentrações, em mg L⁻¹: Al (0,064 - 2,617); Ba (0,0052 - 0,0757); As (0,0006 - 0,0087); Cd (<LQ - 0,0004); Pb (0,0004 - 0,0126); Zn (<LQ - 0,7042); Mn (0,004 - 0,231); Cr (0,020 - 0,441); Ni (<LQ - 0,187); Cu (0,026 - 0,073); Fe (0,212 - 4,216) [124]. O estudo mostrou que todas as concentrações dos metais determinados estavam dentro de limites seguros à saúde.

Passaghe et al. analisaram diferentes tipos de cervejas por ICP-MS para determinação de Cr, Cd, Ni, Pb, Zn, Cu, Fe e As [57]. Os pesquisadores também concluíram que as cervejas analisadas não representavam nenhum risco real à saúde dos consumidores, já que esses metais foram encontrados em baixas concentrações (ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$).

Apesar das informações sobre o teor total de metais em cervejas ser de extrema importância para a estimativa da absorção desses metais pelo organismo humano, deve-se levar em conta que os efeitos não dependem apenas da concentração total do elemento, mas também da forma como eles estão presentes na amostra, considerando a biodisponibilidade (e também a bioacessibilidade) para os seres humanos. A absorção dessas espécies pelo sistema gástrico depende crucialmente da forma química em que encontram-se presentes [5].

Alguns autores relataram a especiação de espécies como Fe [101, 130], Cu e Mn [101], As [103], Cr [102] e Se [131] em amostras de cervejas empregando técnicas de absorção atômica e espectrometria de fluorescência atômica (AFS) [94, 101-103, 130, 132] e as técnicas de plasma [131]. Nesses trabalhos, foram destacados a importância de tais estudos para determinar a forma como essas espécies estão presentes e como podem implicar na qualidade da cerveja bem como na saúde do consumidor, uma vez que, a toxicidade dos elementos pode ser diferente, conforme a disponibilidade de suas espécies.

A cerveja contém várias classes de compostos orgânicos, como os polifenóis, proteínas, aminoácidos, dentre outros, que possuem alta capacidade de ligar-se aos metais através dos átomos doadores N, O e S. Dessa forma, o equilíbrio existente entre íons metálicos complexados e não-complexados também são responsáveis pela qualidade da bebida, bem como, pelas suas propriedades nutricionais [5, 19, 37].

CAPÍTULO**2**

DETERMINAÇÃO SEQUENCIAL E SIMULTÂNEA DE CLORO, FERRO E SILÍCIO EM AMOSTRAS DE CERVEJAS POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA E MOLECULAR DE ALTA RESOLUÇÃO COM FONTE CONTÍNUA E FORNO DE GRAFITE

2.1 INTRODUÇÃO

A cerveja é uma bebida alcoólica popularmente conhecida e comercializada na maioria dos países do mundo. Comparada com outras bebidas alcoólicas, como as bebidas destiladas, a cerveja possui importância do ponto de vista nutricional, pois contém diversos compostos orgânicos em sua composição, como vitaminas, carboidratos e antioxidantes, bem como as espécies inorgânicas [99, 133].

A presença de espécies inorgânicas em amostras de cervejas podem estar relacionadas à procedência da matéria-prima, à adição de sais inorgânicos (CaSO_4 , MgSO_4 , ZnSO_4 , dentre outros) que algumas cervejarias utilizam para controlar o pH, ajustar o sabor e aprimorar o desenvolvimento da fermentação, ou como resultado de contaminação durante as etapas de fabricação e estocagem da bebida [19, 99]. Dessa forma, é necessário o desenvolvimento de métodos analíticos para monitorar essas espécies.

O cloreto está entre os íons presentes na cerveja e possui relação direta com o sabor da bebida. O ferro catalisa uma série de reações na etapa de fermentação e influencia em propriedades como estabilidade de sabor, formação de névoa, qualidade de espuma e coloração, uma cerveja com alto teor de ferro pode apresentar gosto metálico [48, 99, 134].

A determinação de silício em cervejas também é relevante porque o silício está ligado à funções biológicas no metabolismo, e torna-se fundamental a sua ingestão através dos alimentos, sendo os cereais, apontados como principais fontes de silício biodisponíveis. Dessa forma, a cerveja é também apontada como fonte repositora de silício ao organismo humano [52, 56].

A determinação de ferro e silício em cervejas é comumente realizada por técnicas instrumentais como GF AAS [101, 135], F AAS [11, 130], ICP OES [7, 136] e ICP-MS [9, 124]. Entretanto, geralmente, essas técnicas não são usadas para a determinação direta de não metais, como o cloreto. A determinação destas espécies na forma atômica é desafiadora porque elas possuem altos potenciais de ionização, e as principais linhas de ressonância em comprimentos de onda abaixo de 190 nm, região UV de vácuo não alcançada pela maioria dos equipamentos ópticos disponíveis [71, 72, 137]. Assim, a maioria dos estudos relatados na literatura para a determinação de cloreto em amostras de cervejas são reportados empregando a cromatografia de íons (IC) [138, 139], eletroforese capilar [140, 141] ou técnicas analíticas clássicas como a condutimetria, coulometria e titulações potenciométricas [142-144].

A espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua abriu caminho para a determinação indireta de espécies não-metálicas através da formação e determinação de moléculas diatômicas que são estáveis em atomizadores de chama e forno de

grafite [145]. Neste caso, a técnica é denominada de espectrometria de absorção molecular de fonte contínua com alta resolução (HR-CS MAS).

Tendo em vista que, os elétrons de uma molécula, ao realizarem uma transição eletrônica, podem ocupar também diferentes níveis vibracionais e rotacionais, o espectro observado na HR-CS MAS é resultante de contribuições vibracionais (com linhas contínuas) e contribuições rotacionais (picos estreitos e agudos). A visualização dessas estruturas é possível graças ao monocromador duplo e ao detector CCD, que não estão disponíveis nos instrumentos de AAS convencional (LS AAS) [71, 92].

A determinação de Cl baseada na formação de diferentes moléculas na fase gasosa foi explorada em diferentes estudos. Tinas & Akman reportaram a determinação de Cl via molécula diatômica de GaCl (em 249,060 nm) com temperaturas de pirólise e vaporização otimizadas de 500 e 1100 °C, respectivamente [146]. Pode-se considerar que os autores utilizaram uma temperatura de vaporização relativamente baixa, quando comparada àquela usada para a vaporização do MgCl, em 2500 °C, reportada por Medeiros et al. [147]. Em outros trabalhos, foram relatados a determinação de Cl via moléculas de AlCl [148, 149], SrCl [150, 151], CaCl [152, 153], e InCl [12, 154].

Outra vantagem apresentada nas medidas realizadas por HR-CS AAS é que, além da absorção do analito, é possível observar também os elementos que absorvem radiação dentro da faixa espectral coberta pelo detector. Este recurso tem possibilitado a exploração de estratégias para evitar e/ou corrigir interferências espectrais. É possível realizar determinações empregando linhas de absorção secundárias a fim de contornar problemas relacionados à sobreposição de linhas [13, 73].

O uso de linhas secundárias nas determinações por HR-CS AAS permite explorar a estratégia de determinação simultânea de diferentes analitos que possuem linhas de absorção na mesma janela espectral. Esta possibilidade confere à técnica um caráter multielementar, permite um aumento na frequência analítica do método e um menor consumo de tubos de grafite, uma vez que, um único programa de temperatura pode permitir a determinação simultânea de dois ou mais elementos [74]. No entanto, para possibilitar o uso de um único programa de aquecimento, é necessário que os analitos apresentem comportamento térmico semelhantes [13, 14, 72].

Boschetti et al. [155] realizaram a determinação simultânea de Mo (313,259 nm) e Ni (313,410 nm) em amostras de vinhos e de corretivos de solos utilizando a espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua e forno de grafite (HR-CS GF AAS). O modificador químico $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ foi usado para a eliminação de uma interferência espectral

observada nas análises. Os autores relataram uma interferência espectral do Fe em 313,411 nm sobre o sinal analítico do Ni (313,410 nm). Para corrigir essa interferência, as amostras e o material de referência certificado (CRM) foram analisados também na linha alternativa do Fe (312,565 nm), que possui sensibilidade semelhante a mg L^{-1} e àquela que estava causando a interferência com o Ni. Assim, o sinal do Fe foi subtraído no comprimento de onda de 311,411 nm, obtendo-se apenas o sinal analítico do Ni.

Ozbek avaliou a determinação simultânea de quatro elementos por HR-CS GF AAS. Cobalto (344,364 nm), ferro (344,388 nm), níquel (344,626 nm) e potássio (344,641 nm) foram determinados em amostras de águas [156]. Em outros trabalhos, foi possível a determinação simultânea empregando HR-CS AAS para a quantificação de Ba, Co, Fe e Ni em nozes [157], Fe e Zn em sangue [158], Cd, Fe e Sn em alimentos enlatados [159], Co, Fe, Ni e Pb em nanotubos de carbono [160], Cd e Fe em flocos de cereais [161], Ni e V em petróleo [162], Mo e Ti em fluidos biológicos [163], Co, Al e Fe em águas residuais [164], e Co, Fe e Ni em cimento asfáltico de petróleo [165].

A técnica de HR-CS GF AAS ainda possibilita explorar a estratégia de determinação sequencial. Neste caso, os analitos possuem diferentes volatilidades e utiliza-se uma temperatura de atomização para cada elemento. A determinação é feita com uma única alíquota da amostra, onde primeiro, o elemento mais volátil é determinado (com uma menor temperatura de atomização), e em seguida, uma rápida mudança na linha de absorção permite uma segunda atomização para a espécie química mais refratária [13, 72].

Aleluia et al. propuseram a determinação sequencial de Cd (em 228,802 nm) e Pb (em 217,001 nm) em amostras de formulações farmacêuticas orgânicas por HR-CS GF AAS [166]. O programa de temperatura foi estabelecido utilizando a temperatura de pirólise de 800 °C para os dois analitos. Cádmio foi atomizado primeiro em 1400 °C e, em seguida, a temperatura foi aumentada para 2200 °C para a atomização do Pb. Em outros trabalhos, foram relatadas a determinação sequencial de Cd e Cr em biomassa [167] e erva-mate [168], e de Cd e Cu em leite em pó e fórmula infantil [169].

Dessa forma, o trabalho apresentado a seguir, teve como objetivo desenvolver um método analítico para a determinação de Cl (via molécula de InCl), Si e Fe em amostras de cervejas por espectrometria de absorção atômica e molecular de alta resolução com fonte contínua e forno de grafite (HR-CS GF AAS/MAS), explorando as estratégias de determinação simultânea e sequencial.

2.2 OBJETIVOS

2.2.1 Objetivo geral

Desenvolver um método analítico para a determinação de Cl (via molécula de InCl), Si, e Fe em amostras de cervejas por espectrometria de absorção atômica e molecular de alta resolução com fonte contínua e forno de grafite (HR-CS GF AAS/MAS), explorando as estratégias de determinação sequencial e simultânea.

2.2.2 Objetivos específicos

- Estudar as condições de formação da molécula InCl;
- Otimizar o programa de temperatura do forno de grafite por curvas de pirólise e vaporização/atomização para amostras de cervejas;
- Obter as características analíticas do método desenvolvido (limite de detecção e quantificação; precisão e exatidão) e validá-lo;
- Aplicar o método desenvolvido em amostras de cervejas.

2.3 EXPERIMENTAL

2.3.1 Instrumentação

As medidas de absorção atômica e molecular foram realizadas com um espectrômetro de alta resolução com fonte contínua Modelo ContrAA 700 da Analytik Jena AG (Jena, Alemanha), equipado com uma lâmpada de xenônio de arco curto XBO 301 com uma potência nominal de 300 W, operando em modo *hot-spot*. Tubos de grafite revestidos piroliticamente com plataforma integrada fornecidos pelo mesmo fabricante foram utilizados para as determinações. O gás de purga utilizado foi o argônio (White Martins, Brasil) com 99,998% de pureza em uma vazão de 2,0 L min⁻¹ em todas as etapas, exceto durante a vaporização da molécula InCl e na atomização simultânea de Fe e Si, etapas em que o fluxo foi interrompido. Para a determinação de Cl via molécula de InCl, as medidas foram realizadas em 267,2181 nm. Linhas de absorção secundárias em 252,7435 e 252,8508 nm foram usadas para as medidas de Fe e Si, respectivamente. Os sinais analíticos foram medidos como valores de absorvância integrada, A_{int} (área do pico), obtidos usando a área de pico do pixel central: cinco pixels foram usados para a determinação de InCl e três pixels para Fe e Si. O programa de temperatura do forno de grafite otimizado usado para todas as determinações é apresentado na Tabela 2.1.

Tabela 2.1 Programa de temperatura para a determinação de Cl (via InCl), Fe e Si em amostras de cervejas por HR-CS-GF AAS/MAS.

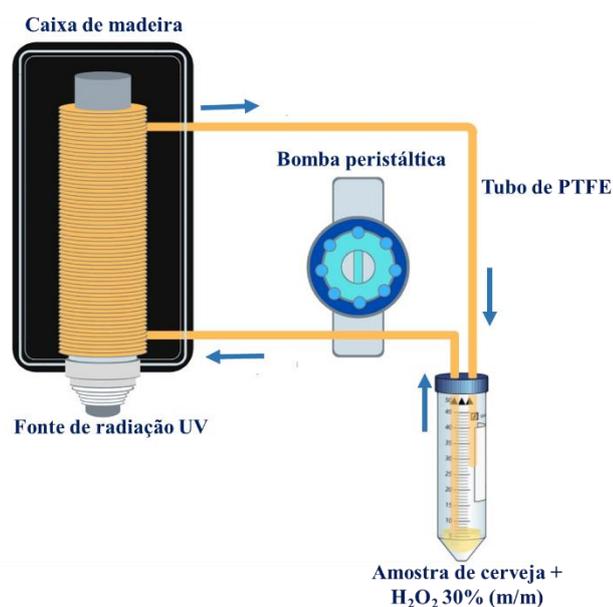
Etapa	Temperatura, °C	Rampa, °C s ⁻¹	Tempo, s	Vazão do gás, L min ⁻¹
Secagem 1	90	6	25	2
Secagem 2	120	5	10	2
Pirólise ^a	600	100	20	2
Vaporização ^a	1700	1400	5	0
Aquecimento e mudança do comprimento de onda				
Pirólise ^{b*}	1000	300	8	2
Atomização ^b	2600	FP	6	0
Limpeza	2700	500	5	2

^a Cl via InCl; ^b Fe e Si; ^{*} etapa de pirólise requerida pelo programa do equipamento. FP: full power.

As amostras de cervejas foram degaseificadas em banho ultrassônico (Ultrasonic Cleaner, Cristófoli, China).

Um sistema de radiação UV (Figura 2.1) foi usado para decomposição das amostras. O sistema era composto por uma lâmpada de 15 W coberta por um tubo de PTFE de 30 cm (3,5 m de diâmetro e 0,8 mm de diâmetro), instalado em uma caixa de madeira com 50 cm de comprimento, 29 cm de altura e largura de 29 cm, com interior pintado de preto [170].

Figura 2.1 Sistema de radiação UV utilizado para decomposição das amostras de cervejas.



Adaptado de [170].

Como método comparativo para a determinação de Si e Fe, as amostras de cervejas foram submetidas à digestão ácida em forno de micro-ondas (modelo Ethos EZ, Milestone, Sorisole, Itália), equipado com um rotor com capacidade para dez frascos TFM[®] (PTFE modificado). Após digestão, as determinações foram feitas por ICP OES (modelo 720 series, Agilent Technologies, Santa Clara, EUA). O equipamento foi operado em condições conforme recomendado pelo fabricante, com uma potência de 1,10 kW, vazão do fluxo de gás de 15 L min⁻¹, vazão do gás auxiliar de 1,5 L min⁻¹, e vazão do gás de nebulização de 0,75 L min⁻¹, usando um nebulizador do tipo V-Groove e câmara de nebulização do tipo Sturman-Master. As determinações foram feitas em 259,940 nm para Fe e em 251,611 nm para Si.

Como procedimento comparativo para a determinação de Cl, as amostras de cervejas foram degaseificadas, filtradas e diluídas em água ultrapura na proporção de 1:10, e foram analisadas por um cromatógrafo de íons (IC, modelo 930 Compact IC Flex, Metrohm, Suíça) equipado com um auto-amostrador compacto (modelo 863) com 36 posições, uma bomba (modelo 882, Compact IC plus 1), e um detector condutimétrico (modelo 945, Professional Detector Vario). As determinações foram feitas usando uma coluna Metrosep A Supp 5 (modelo Metrosep A Supp 5, 150/4.0), com uma solução de Na₂CO₃ 3,2 mmol L⁻¹ e NaHCO₃ 1,0 mmol L⁻¹ utilizada como fase móvel em uma taxa de fluxo de 0,7 mL min⁻¹. Uma coluna supressora (modelo MSM, Metrohm), usada para reduzir a condutividade da fase móvel, foi regenerada periodicamente com água e uma solução de H₂SO₄ 50,0 mmol L⁻¹.

2.3.2 Reagentes e soluções

Todos os reagentes usados foram de pureza de grau analítico. Água ultrapura foi obtida usando um sistema Milli-Q (Millipore, Bedford, EUA). Todo o material de vidro foi descontaminado com solução de HNO₃ a 10% (v/v) por pelo menos 12 h. Após esse período, o material foi lavado com água deionizada e seco em ambiente livre de poeira.

Soluções padrão de Fe e Si 1000 mg L⁻¹ (SpecSol, Brazil) foram usadas para preparar soluções padrão de referência (diluídas em HNO₃ 1,0 mol L⁻¹) para as curvas de calibração e experimentos de adição e recuperação. Uma solução padrão de Cl 1000 mg L⁻¹ foi preparada pela dissolução de cloreto de sódio (Merck, Darmstadt, Alemanha) em uma solução de HNO₃ 1,0 mol L⁻¹. Essa solução foi diluída para preparar uma solução de Cl⁻ 10 mg L⁻¹.

Uma solução estoque de In 30 g L⁻¹ foi preparada a partir da dissolução de nitrato de índio (III) hexahidratado (St. Louis, MO, EUA) em água. O modificador químico foi preparado pela mistura de uma solução de Pd(NO₃)₂ 10 g L⁻¹ e uma solução de Mg(NO₃)₂ 2,5 g L⁻¹, seguida pela diluição em água para uma concentração final de Pd 0,2% (v/v) e Mg 0,05% (v/v).

Para estudo da influência de diferentes soluções de cloreto na formação da molécula de InCl , foram preparadas soluções estoques de cloreto de amônio (Merck, Darmstadt, Alemanha), cloreto de potássio (Merck, Darmstadt, Alemanha), cloreto de sódio (Merck, Darmstadt, Alemanha) e cloreto de cálcio (Merck, Darmstadt, Alemanha) 1000 mg L^{-1} .

Para estudo de interferentes, uma solução estoque de fluoreto 100 mg L^{-1} foi preparada pela dissolução de fluoreto de sódio (St. Louis, MO, EUA) em água.

Ácido nítrico (65%, v/v) (Merck, Darmstadt, Alemanha) foi usado para a digestão em micro-ondas e no preparo das soluções das amostras e diluição das soluções padrão. Peróxido de hidrogênio (30%, m/m) (Merck, Darmstadt, Alemanha) também foi usado na digestão das amostras e na decomposição das amostras por radiação UV.

Curvas de calibração foram preparadas na faixa de concentração de $0,010 - 3,00 \text{ mg L}^{-1}$ para Fe; $0,10 - 10,0 \text{ mg L}^{-1}$ para Si; e $0,50 - 50,0 \text{ mg L}^{-1}$ para Cl. O procedimento proposto foi aplicado para a análise de dez amostras de cervejas, adquiridas em supermercados da cidade de Salvador, Bahia, Brasil.

2.3.3 Pré-tratamento das amostras por radiação UV

Inicialmente, as amostras foram submetidas à banho ultrassônico por 30 min para degaseificação. Em seguida, 5,0 mL de cerveja e 2,0 mL de H_2O_2 30% (m/m) foram colocados em um sistema em linha fechado usando radiação UV. Uma bomba peristáltica foi empregada para impulsionar a solução da amostra sobre o tubo de PTFE a uma taxa de fluxo de 2 mL min^{-1} por 20 min, conforme proposto por Felix et al. [171].

Ao final da exposição à radiação, foi observada variação de temperatura de 24 a 30 °C. Posteriormente, a amostra foi coletada e o volume ajustado para 50,0 mL com solução de HNO_3 $1,0 \text{ mol L}^{-1}$. Todas as amostras foram preparadas em triplicata. As soluções de branco foram obtidas pelo mesmo procedimento usado para as amostras.

2.3.4 Digestão das amostras assistida por micro-ondas

Para o procedimento de digestão, 5,00 mL de cada amostra de cerveja degaseificada foram colocados em frascos TFM® (PTFE modificado) e digeridos com 2,0 mL de HNO_3 concentrado e 2,0 mL de H_2O_2 (30%, m/m). O programa de aquecimento foi realizado em três etapas: I) 5 min de rampa para atingir 180 °C, II) 10 min mantendo a temperatura a 180 °C, e III) 20 min de ventilação. Após o resfriamento, as amostras foram transferidas para tubos de polietileno e o volume foi ajustado para 15,0 mL com água deionizada. A digestão de todas as

amostras foi realizada em triplicata e as soluções dos brancos analíticos também foram obtidas da mesma maneira. Esse procedimento digestão foi baseado em trabalho prévio [10].

2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

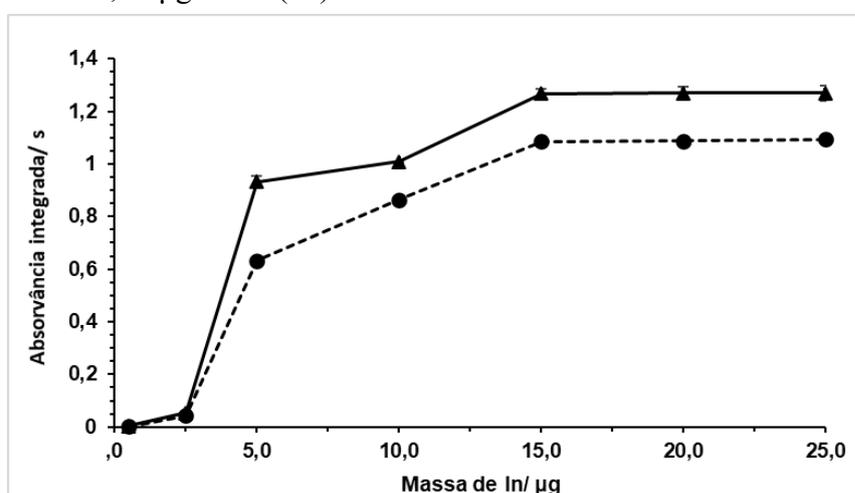
2.4.1 Investigação da formação da molécula de InCl

A formação de uma molécula no estado gasoso depende, principalmente, de sua energia de dissociação. Quanto maior a energia de dissociação, mais termicamente estável será a molécula [172]. O cloreto de índio possui energia de dissociação de $(439 \pm 8) \text{ kJ mol}^{-1}$ [173]. Este valor de energia de dissociação é relativamente alto, indicando que a molécula de InCl formada na fase gasosa é estável [174] e permite a determinação de Cl por HR-CS GF MAS, como já relatado na literatura [12, 154, 175].

A maior banda de absorção da molécula InCl, localizada na região UV entre 267 e 268 nm, é resultado da transição de banda vibracional 0-0 na transição eletrônica $X^1\Sigma^+ \rightarrow C^1\Pi$ [176]. A formação eficiente de moléculas de InCl é altamente dependente da quantidade de In, que deve estar em excesso com relação ao Cl, para garantir uma reação quantitativa e alcançar a maior sensibilidade nas medidas [172].

Dessa forma, a influência da quantidade de In no sinal analítico para determinação do Cl via formação de InCl foi investigada em uma solução aquosa de NaCl contendo 0,10 μg de Cl (um volume de 10 μL de uma solução de concentração de 10 mg L^{-1}) e em uma amostra de cerveja (dopada com 0,10 μg Cl). Os resultados obtidos estão mostrados na Figura 2.2.

Figura 2.2 Avaliação da massa de In sobre a intensidade do sinal de absorção molecular do InCl na presença de 0,10 μg de Cl em uma solução aquosa de NaCl (\bullet) e em uma amostra de cerveja dopada com 0,10 μg de Cl (\blacktriangle).



De acordo com os resultados mostrados na Figura 2.2, é possível observar que os resultados obtidos foram semelhantes nas duas situações, onde a absorvância integrada máxima foi obtida na presença de 15 μg de In, permanecendo praticamente constante acima desse valor. O excesso de In é importante para garantir a conversão de Cl^- em InCl. Nesses tipos de determinações, o halogênio tende a ser totalmente convertido na molécula de interesse quando está na presença de um excesso do metal em que será ligado, aumentando assim a sensibilidade analítica [172].

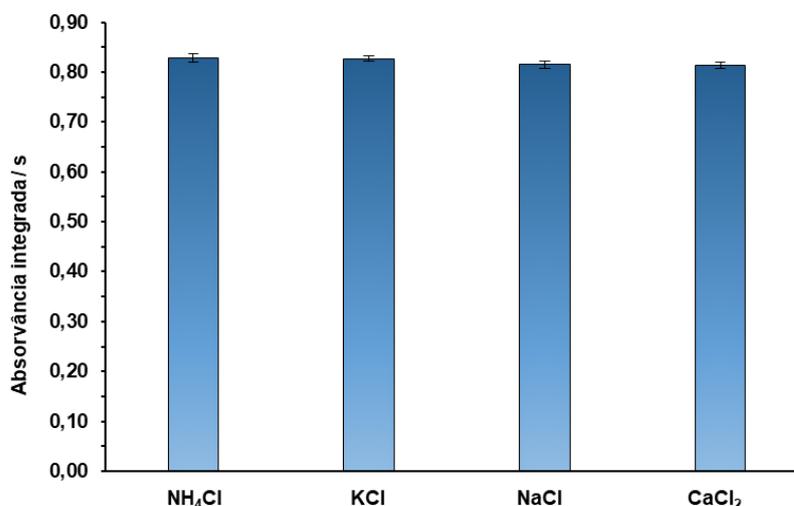
As energias de dissociação de moléculas, como AlCl, MgCl, CaCl e SrCl, que podem ser formadas e causar interferência química na análise de InCl, possuem valores de 502, 312, 409 e 406 kJ mol^{-1} , respectivamente [146]. Essas energias são menores do que aquela relatada para o InCl ($439 \pm 8 \text{ kJ mol}^{-1}$), com exceção do AlCl. Dessa forma, a presença de Al poderia ser um interferente para a formação da molécula InCl, competindo com o In para a formação de AlCl. No entanto, esta espécie metálica está presente nas amostras de cervejas em quantidades muito mais baixas do que a quantidade de In usada no procedimento para a formação da molécula InCl e não seria um agente competidor para a formação de AlCl.

O efeito da competição entre Cl^- e F^- na formação de InCl e InF, respectivamente, também deve ser considerado, uma vez que a energia de dissociação do InF ($506 \pm 14,6 \text{ kJ mol}^{-1}$) é maior que a do InCl ($439 \pm 8 \text{ kJ mol}^{-1}$), e a presença de F^- poderia diminuir a quantidade de In disponível para a formação de moléculas de InCl [172].

Para verificar essa possível interferência, foram realizados testes na presença de fluoreto de sódio em concentrações crescentes entre 0,10 e 10,0 mg L^{-1} . Foi observado que o flúor reduziu a sensibilidade para a determinação de InCl quando presente em concentrações superiores a 5 mg L^{-1} . Dessa forma, esta interferência também não afetou a sensibilidade do método proposto, uma vez que a concentração de F^- em amostras de cerveja está muito abaixo de 5 mg L^{-1} . As concentrações típicas de fluoreto em cervejas variam entre 0,08 e 0,71 mg L^{-1} [6].

O perfil e a intensidade do sinal analítico obtido para a molécula de InCl formada a partir de diferentes sais de cloretos, como NaCl, KCl, CaCl_2 e NH_4Cl também foram avaliados. Conforme observado na Figura 2.3, não houve diferenças significativas entre os valores de absorvância integrada obtidos para as moléculas de InCl formadas a partir dos diferentes sais. Assim, optou-se pela solução de NaCl para otimizar as condições analíticas do método.

Figura 2.3 Avaliação da influência de diferentes soluções de cloreto (contendo 0,10 μg de Cl) na formação da molécula de InCl.



2.4.2 Otimização do programa de temperatura

A temperatura de pirólise (T_{pir}) e a temperatura de vaporização (T_{vap}) para a molécula InCl, bem com a temperatura de atomização simultânea (T_{atm}) para Si e Fe foram investigadas em duas condições, sem modificador químico (Figura 2.3) e na presença do modificador Pd/Mg (Figura 2.4). Esta avaliação foi realizada usando uma amostra de cerveja dopada com 10,0 mg L^{-1} de Cl, 1,0 mg L^{-1} de Si e 0,10 mg L^{-1} de Fe.

Figura 2.4 (a) Curvas de pirólise e (b) vaporização para Cl (\square), avaliando possíveis perdas de Si (Δ) e de Fe (\circ); (c) curvas de atomização para Si (Δ) e Fe (\circ), para os experimentos realizados sem modificador.

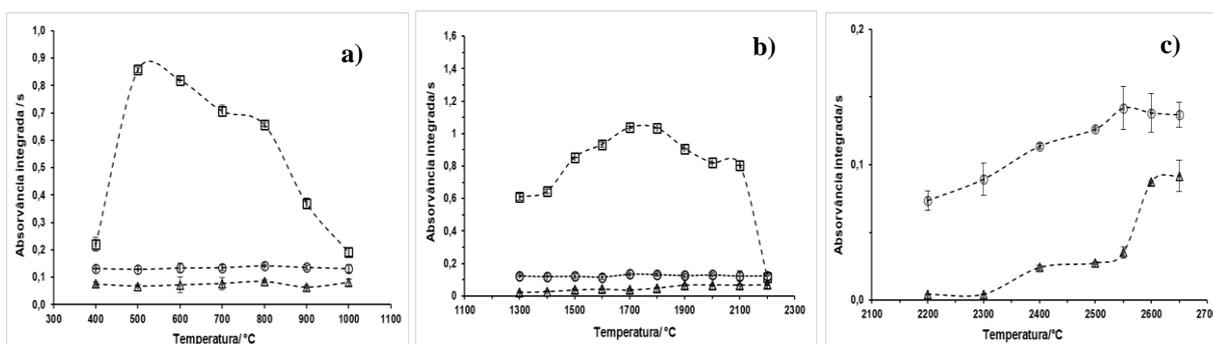
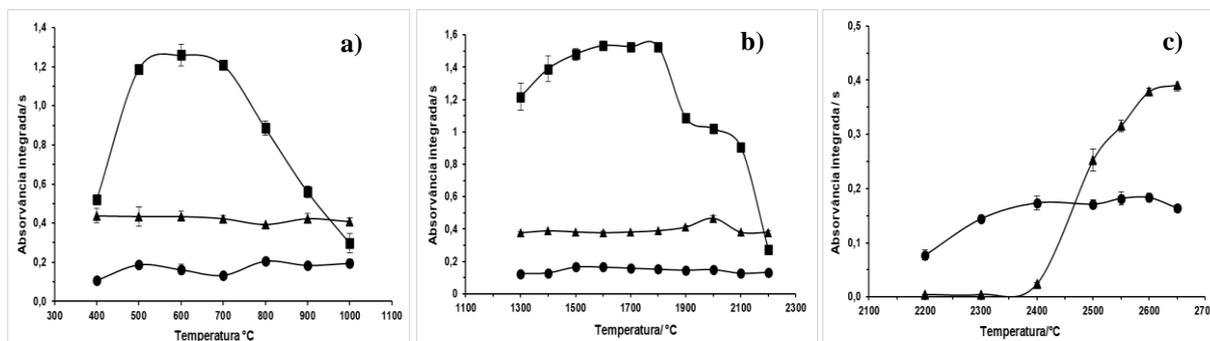


Figura 2.5 (a) Curvas de pirólise e (b) vaporização para Cl (■), avaliando possíveis perdas de Si (▲) e de Fe (●); (c) curvas de atomização para Si (▲) e Fe (●), para os experimentos realizados na presença do modificador Pd/Mg.



Nas Figuras 2.4 e 2.5 (a) e (b) é possível observar que não houve perdas de Si e Fe durante as etapas de pirólise e vaporização do InCl. Nota-se, ainda, que um aumento na sensibilidade do sinal, para Cl e Si, foi obtido quando os estudos foram realizados na presença do modificador químico Pd/Mg (Figura 2.5), comparado com os resultados obtidos sem o uso do modificador (Figura 2.4). Melhor simetria dos picos analíticos também foi observada nos estudos realizados na presença do modificador. Resultados semelhantes foram obtidos nos testes realizados em soluções aquosas contendo os analitos na mesma concentração em que foram dopados na cerveja. Diante desses resultados, todos os experimentos subsequentes foram realizados com uma amostra de cerveja dopada com os analitos na presença de Pd/Mg como modificador.

O uso de Pd/Mg como modificador químico foi relatado anteriormente para determinação de Cl via molécula InCl em amostras de água usando HR-CS GF MAS [175]. O uso do modificador pode reduzir a volatilização do Cl durante as etapas de secagem e pirólise, aumentando a sensibilidade. Provavelmente, o Mg atua na eliminação da matriz, enquanto Pd forma ligações com Cl (Pd_xCl_y), impedindo a volatilização dessas espécies [172, 177].

O uso de modificadores químicos é recomendado para a determinação de Si, porque moléculas (SiC_2 , SiO) e carbonetos refratários (SiC) podem ser formados no forno de grafite durante as etapas de aquecimento, o que pode afetar a precisão dos resultados, com a formação de picos duplos e pouca repetibilidade [178, 179]. Metais de transição, como Pd, quando usados como modificadores químicos reagem com o Si e formam silicidas (M_xSi_y) que são estáveis sob as condições do forno de grafite, diminuindo a interação entre Si e O [180]. No caso da determinação de Fe pelo HR-CS GF AAS, nenhuma diferença na sensibilidade foi observada

para a análise na presença ou ausência do modificador, como relatado em trabalhos prévios [181, 182].

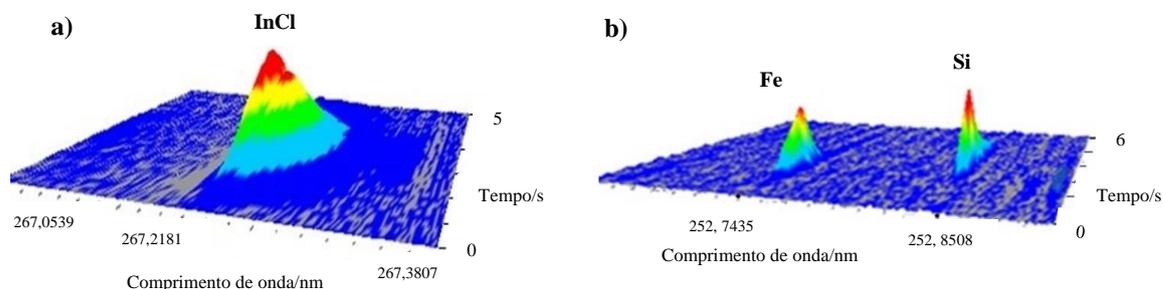
Na Figura 2.5 (a), estão expostos os resultados do estudo da T_{pir} para o InCl, que foi estudada na faixa de 400 a 1000 °C, enquanto T_{vap} para InCl foi fixado em 1800 °C, e a T_{atm} para Si e Fe foi fixado em 2600 °C. Os sinais de A_{int} para o InCl apresentaram valores mais altos na temperatura de 600 °C. Dessa forma, esta temperatura foi fixada como ótima para a pirólise de InCl. A Figura 2.5 (b) mostra a investigação da T_{vap} para InCl na faixa entre 1300 e 2200 °C, sendo a temperatura de 1700 °C apresentada como a mais favorável à vaporização da molécula, com valores mais altos de A_{int} e picos analíticos simétricos. Ainda na Figura 2.5 (b), pode ser observado que os sinais analíticos para Si e Fe permaneceram constantes durante a vaporização do InCl, indicando que não houve perda desses analitos durante esta etapa.

Após estabelecer as T_{pir} e T_{vap} para InCl, os valores de T_{atom} para determinação simultânea de Si e Fe foram avaliados conforme ilustrado na Figura 2.5 (c). O comportamento térmico de Si e Fe foi monitorado simultaneamente na faixa de temperatura entre 2200 e 2650 °C. Embora o valor de A_{int} para o Si continue a aumentar com o aumento da temperatura, conforme Figura 2.5 c, a T_{atom} foi fixada em 2600 °C, tendo em vista que picos simétricos foram obtidos para o Si nesta temperatura, e que este analito encontra-se de forma abundante nas amostras de cerveja. Uma temperatura de atomização mais alta reduziria a sensibilidade para determinação de Fe e diminuiria a vida útil do forno de grafite.

Uma vez que a alíquota da amostra injetada no forno já havia sido evaporada, a otimização de uma segunda T_{pir} não era necessária. A temperatura de pirólise para a determinação simultânea de Si e Fe, descrita na Tabela 2.1, é uma etapa obrigatória devido à configuração do programa do instrumento. Na prática, o resfriamento do forno de grafite não ocorre. Após a vaporização do InCl (a 1700 °C), a faixa espectral muda rapidamente para a região que compreende as linhas analíticas de Fe e Si e a temperatura aumenta para 2600 °C para garantir a atomização desses analitos. Dessa forma, o tempo total da medida por injeção para a determinação desses três elementos é de cerca de 2 -3 min, o que é claramente menor que o tempo necessário para a determinação desses três analitos separadamente (7-10 min).

Na Figura 2.6, é mostrado o espectro tridimensional de absorvância em função de tempo e de comprimento de onda obtido nas proximidades da linha de absorção molecular de InCl a 267,2181 nm (Figura 2.6 a), e os espectros de absorvância para Fe e Si dentro da mesma janela espectral em 252,7435 nm e 252,8508 nm, respectivamente (Figura 2.6 b).

Figura 2.6 a) Espectro de absorção da molécula diatômica InCl (absorvância de 0,10 μg de Cl e 15 μg de In); b) espectro de absorção de Fe e Si (1,0 ng e 10 ng, respectivamente) na presença de Pd/Mg como modificador químico.



2.4.3 Desempenho analítico e testes de recuperação

As curvas de calibração foram obtidas com o uso de padrões aquosos e por técnica da adição padrão em uma amostra de cerveja após o pré-tratamento usando radiação UV e peróxido de hidrogênio. Ao comparar as inclinações das curvas de calibração (Tabela 2.2), foi observado que o método proposto pode ser conduzido usando calibração externa com padrões aquosos, o que é visto como uma vantagem, visto que, a calibração externa aumenta a praticidade do método.

Os limites de detecção (LD) e os limites de quantificação (LQ) foram calculados como três e dez vezes o desvio padrão de dez medições das soluções dos brancos analíticos, respectivamente, divididos pela inclinação da curva de calibração. A precisão foi estabelecida avaliando o desvio padrão relativo (% RSD) de dez repetições de medidas realizadas em uma amostra de cerveja e de um padrão aquoso. Todos os valores de % RSD encontrados foram inferiores a 2,0 % para os três analitos nos dois casos. Os parâmetros analíticos do método proposto estão listados na Tabela 2.2.

Tabela 2.2 Parâmetros analíticos obtidos para a determinação de Cl (via InCl), Si, e Fe por HR-CS GF AAS/MAS.

Analito	Inclinação 1^a	Inclinação 2^b	LD*	LQ*	RSD, % (n = 10)
Cl	0,0397 ± 0,0045	0,0398 ± 0,0043	0,05	0,17	1,46 ^c
	(R = 0,9949)	(R = 0,9955)			1,55 ^d
Si	0,104 ± 0,002	0,108 ± 0,008	0,08	0,26	1,80 ^c
	(R = 0,9998)	(R = 0,9912)			1,95 ^d
Fe	0,9253 ± 0,0062	0,9135 ± 0,0086	2,0	6,7	1,57 ^c
	(R = 0,9992)	(R = 0,9927)			1,83 ^d

¹ Coeficiente angular das curvas de calibração obtidas de padrões em meio aquoso. ^b Coeficiente angular das curvas de calibração obtidas pela adição dos analitos em uma amostra de cerveja. ^c RSD obtido da análise de uma amostra de cerveja. ^d RSD obtido de uma solução aquosa com 1,0 mg L⁻¹ de Cl⁻, 1,0 mg L⁻¹ de Si, e 0,10 mg L⁻¹ de Fe. LD: limite de detecção. LQ: limite de quantificação. R: coeficiente de correlação. RSD: desvio padrão relativo. *LD e LQ em mg L⁻¹ para Cl e Si e em µg L⁻¹ para Fe.

Testes de adição e recuperação foram realizados em três amostras de cervejas com quatro diferentes concentrações dos analitos: 0,50; 5,0; 50,0 e 100,0 mg L⁻¹ para Cl; 0,10; 1,0; 10,0 e 25,0 mg L⁻¹ para Si; e 0,010; 0,050; 0,10 e 1,0 mg L⁻¹ para Fe. Os resultados desses testes estão descritos na Tabela 2.3.

Tabela 2.3 Resultados de recuperação (%) obtidos pelos testes de adição e recuperação para a determinação de Cl, Si e Fe em amostras de cervejas por HR-CS GF AAS/MAS.

Analito	Concentração adicionada, mg L⁻¹	Recuperação, %		
		Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Cl	0,5	120	118	118
	5,0	116	116	117
	50,0	101	106	108
	100,0	106	105	108
Si	0,10	96	95	94
	1,0	106	102	104
	10,0	94	104	102
	25,0	102	102	98
Fe	0,01	85	87	87
	0,05	108	98	93
	0,10	105	102	97
	1,00	95	92	94

Os resultados para as recuperações dos analitos adicionados às amostras de cerveja foram considerados satisfatórios, com valores entre 101 e 120% para Cl, 94 e 106% para Si e 85 e 108% para Fe.

2.4.4 Determinação de Cl, Fe e Si em amostras de cervejas

Um sistema de digestão usando radiação UV e peróxido de hidrogênio foi utilizado no tratamento das amostras para as determinações por HR-CS GF AAS/MAS. Considerando que este procedimento é uma boa alternativa para o pré-tratamento de matrizes ricas em compostos orgânicos, com baixa risco de contaminação e manipulação mínima da amostra, a associação do HR-CS GF AAS/MAS com o pré-tratamento da amostra de radiação UV teve a intenção de permitir o desenvolvimento do método, de acordo com os princípios da química verde, evitando o uso de ácidos concentrados e possibilitando a minimização da geração de resíduos. Testes preliminares foram feitos usando diluição ácida como metodologia de preparo da amostra. No entanto, foi observado um aumento na sensibilidade, principalmente com relação ao silício, quando a amostra foi tratada com H₂O₂ e exposta à radiação UV. Dessa forma, esse procedimento foi utilizado na preparação de todas as amostras.

O método proposto foi aplicado para a determinação de Cl, Fe e Si em dez amostras de cervejas do tipo *lager*, estilo *pilsner*. Os resultados obtidos para Si e Fe pelo método proposto foram comparados com aqueles obtidos por ICP OES após digestão da amostra, enquanto os resultados obtidos para Cl foram comparados com resultados obtidos por cromatografia iônica (Tabela 2.4). A comparação dos resultados para cada elemento foi feita através do Teste t pareado com um nível de confiança de 95%. Não foram observadas diferenças significativas entre os resultados obtidos por diferentes técnicas e diferentes preparo da amostra, demonstrando boa exatidão do método proposto para a determinação desses elementos em amostras de cervejas.

Tabela 2.4 Determinação de Cl, Si e Fe em amostras de cervejas pelo método proposto (HR-CS GF AAS/MAS) e pelos métodos comparativos (IC e ICP OES) (n = 3).

Amostra	Cl, mg L ⁻¹		Si, mg L ⁻¹		Fe, µg L ⁻¹	
	HR-CS GF MAS	IC	HR-CS GF AAS	ICP OES	HR-CS GF AAS	ICP OES
Amostra 1	267 ± 2	271 ± 1	21 ± 2	19 ± 1	(21 ± 2)*	22 ± 1
Amostra 2	266 ± 3	270 ± 1	25 ± 1	25 ± 1	(20 ± 3)	15 ± 2
Amostra 3	129 ± 3	128 ± 1	22 ± 1	23 ± 1	(22 ± 1)	23 ± 1
Amostra 4	131 ± 2	132 ± 1	27 ± 2	26 ± 1	<20	13 ± 1
Amostra 5	277 ± 1	276 ± 1	37 ± 2	35 ± 1	(36 ± 1)	37 ± 2
Amostra 6	159 ± 2	158 ± 1	27 ± 1	28 ± 1	(43 ± 1)	41 ± 1
Amostra 7	237 ± 2	235 ± 1	30 ± 2	29 ± 1	(33 ± 1)	36 ± 1
Amostra 8	220 ± 1	218 ± 1	18 ± 1	17 ± 1	(56 ± 1)	57 ± 2
Amostra 9	215 ± 2	211 ± 1	15 ± 1	14 ± 1	(46 ± 1)	47 ± 1
Amostra 10	106 ± 1	104 ± 1	18 ± 1	18 ± 1	73 ± 1	70 ± 3

HR-CS GF AAS/MAS: espectrometria de absorção atômica e molecular de alta resolução com fonte contínua e forno de grafite; IC: cromatografia iônica; ICP OES: espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado. *Resultados em parênteses estão entre o limite de detecção e limites de quantificação, considerando a diluição da amostra.

Os dados da Tabela 2.4 mostram uma variação entre 106 e 277 mg L⁻¹ na concentração de Cl encontrada nas diferentes amostras de cervejas analisadas. Esses valores concordam com os relatados na literatura, que indicaram valores entre 82,4 e 404,0 mg L⁻¹ [183]; 101 e 247 mg L⁻¹ [141] ou uma concentração média de 200 mg L⁻¹ [138] para a determinação de cloreto em amostras de cervejas.

Para o Si, foram encontradas concentrações entre 15 e 37 mg L⁻¹ nas amostras de cervejas analisadas. Esses resultados também podem ser comparados com aqueles encontrados em trabalhos anteriores, que relataram concentrações de Si em amostras de cerveja entre 9 - 39 mg L⁻¹ [52], 15,8 e 58,8 mg kg⁻¹ [184] e entre 16,3 - 70,1 mg L⁻¹ [185].

O teor de silício em cada tipo de cerveja depende principalmente da origem da cevada usada na fabricação de cerveja. Altas quantidades de silício são acumuladas na casca de cevada, o que faz com que o malte de cevada seja a principal fonte de silício na cerveja [186]. No entanto, o teor de silício pode variar de acordo com o tipo e origem da cevada, bem como a

quantidade de malte usado na fabricação de cerveja. O trigo e outros cereais, que são adicionados como adjuntos cervejeiros, possuem menos silício do que a cevada, portanto, a cerveja com maior quantidade de adjuntos possui menor concentração de Si [55, 186]. Provavelmente, no presente estudo, as amostras que apresentaram menores teores de silício, possuem maior quantidade de adjuntos em sua composição.

A determinação do ferro por HR-CS GF AAS foi realizada utilizando uma linha analítica secundária para permitir a determinação simultânea com o Si. Como consequência, a sensibilidade do método proposto foi menor que a do método comparativo. As concentrações de ferro nas amostras analisadas variaram entre $<20 \mu\text{g L}^{-1}$ e $73 \mu\text{g L}^{-1}$. Esses valores são comparáveis àqueles relatados em trabalhos anteriores, que estavam entre $2,1$ e $73,3 \mu\text{g L}^{-1}$ [57]; $<10,1 - 86,0 \mu\text{g L}^{-1}$ [12] ou em uma concentração média de $58 \mu\text{g L}^{-1}$ [101].

2.5 CONCLUSÕES

O método desenvolvido permitiu a determinação de Cl (via molécula InCl), Fe, e Si em amostras de cervejas através das estratégias de determinação sequencial e simultânea por HR-CS GF AAS/MAS. O uso de In possibilitou a formação e estabilidade da molécula de InCl, e a consequente determinação de Cl. A análise foi favorecida pela presença do modificador químico Pd/Mg e teve a vantagem de permitir o uso de soluções de padrões aquosos para calibração. Parâmetros analíticos, como limites de detecção, limites de quantificação, precisão e exatidão, foram adequados para a proposta do trabalho. O método apresentou resultados confiáveis e demonstrou ser rápido e de fácil aplicação, considerando que o tempo de análise é menor do que aquele necessário para a determinação dos três analitos separadamente.

CAPÍTULO**3**

**AVALIAÇÃO DA PADRONIZAÇÃO INTERNA NA DETERMINAÇÃO
MULTIELEMENTAR DIRETA EM AMOSTRAS DE CERVEJAS POR
ESPECTROMETRIA DE EMISSÃO ÓPTICA COM PLASMA
INDUZIDO POR MICRO-ONDAS**

3.1 INTRODUÇÃO

A cerveja é uma bebida alcoólica complexa caracterizada pela presença de diversos compostos orgânicos, que são responsáveis por suas características organolépticas. Entretanto, espécies inorgânicas podem migrar para a bebida por estarem naturalmente presentes na matéria-prima, ou como resultado de contaminação durante as etapas de fabricação e estocagem [1].

O monitoramento do conteúdo de espécies inorgânicas em cervejas é importante porque, a depender da concentração, tais espécies podem influenciar na etapa de fermentação da bebida, na modificação das suas particularidades sensoriais e ainda, comprometer a saúde do consumidor [5]. Dessa forma, é importante o desenvolvimento de métodos analíticos para monitorar essas espécies.

A espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas é uma técnica vantajosa por apresenta baixo custo operacional quando comparada às outras técnicas espectrométricas com fontes de plasma (ICP OES e ICP-MS), uma vez que, o plasma é mantido por nitrogênio extraído do ar atmosférico. Para a maioria dos elementos, o MIP OES possui sensibilidades semelhante às alcançadas por ICP OES [187, 188] e seu uso tem sido bem-sucedido em muitas aplicações visando a determinação multielementar em amostras de diferentes naturezas como bebidas [8, 118, 119], óleo combustível [189], vinagre [190], alimentos [191, 192], chocolates [193], amostras farmacêuticas [194] e amostras geológicas [195]. Entretanto, assim como o ICP OES e o ICP-MS, o MIP OES pode apresentar problemas das flutuações do sinal relacionados à complexidade da matriz e ao transporte e nebulização de amostras, provocados pelas diferentes viscosidades das amostras e a presença de sólidos dispersos [118].

Os efeitos de matriz em MIP OES têm sido relatados em amostras que contêm altos teores de elementos facilmente ionizáveis como Ca, Na e K, concomitantes mais comuns encontrados em amostras ambientais e de alimentos, inclusive em amostras de cervejas [118, 196]. O MIP OES pode ser mais afetado por tais interferentes quando comparado ao ICP OES, uma vez que, o plasma de nitrogênio é mais frio que um plasma de argônio típico [197, 198].

Zhang & Wagatsuma avaliaram a influência de sódio e cálcio no sinal de emissão atômica de vários elementos gerados no plasma de nitrogênio e concluíram que a presença de Na e Ca diminui a temperatura de excitação e aumenta a densidade eletrônica no meio [199]. Como consequência, o equilíbrio de ionização para a formação de átomos neutros e suas respectivas emissões é mudado. Assim, enquanto a maioria das linhas atômicas testadas exibiu efeitos de melhoria, todas as linhas iônicas deram efeitos de supressão na presença de Na e Ca.

Resultados semelhantes foram obtidos por Baranyai et al., que relataram aumento da intensidade de linhas atômicas de Ca, K, Mg, Cu, Zn e Fe na determinação por MIP OES em amostras contendo alto teor de sódio [200], e por Serrano et al., que avaliaram o efeito do cálcio nos sinais de linhas atômicas e iônicas para a determinação de elementos como As, Co, Cu, Mg, Mn, Mo, Sc, Se, Sr e Zn por MIP OES [196].

Por outro lado, estudos indicam que, quando comparado com o ICP OES, o MIP OES é significativamente mais tolerante às amostras preparadas em meio orgânico, principalmente, quando um fluxo de oxigênio é adicionado junto ao sistema de introdução da amostra [116, 187, 196]. No estudo realizado por Serrano et al., os autores apontaram a MIP OES como uma técnica robusta para análise elementar em amostras de matrizes complexas, destacando que esse tipo de plasma sofre menos interferências não-espectrais para matrizes contendo carbono e enxofre [196]. A explicação pode estar relacionada ao fato da ionização de carbono e enxofre no MIP OES ser menos favorecida pela menor temperatura do plasma de nitrogênio.

O bom desempenho do MIP OES em meio orgânico foi observado por Silva et al. na determinação de fósforo a partir de fosfolípidios presentes em amostras de carnes usando MIP OES [201]. Os fosfolípidios foram extraídos usando uma mistura de clorofórmio e metanol, seguido de simples diluição do extrato lipídico em metanol. Carneiro et al. relataram a determinação multielementar de elementos traço (Al, Ba, Cu, Cr, P, Ni, Ti e Zn) em amostras de óleos vegetais comestíveis por MIP OES após o procedimento de extração induzida por quebra de emulsão [202]. As amostras foram tratadas com a mistura de HNO₃ (30% v/v) e Triton X-100 (30% v/v), seguida de uma etapa de agitação e aquecimento. A fase aquosa, contendo alta carga orgânica de Triton X-100, foi coletada, e a determinação foi feita por MIP OES. Os parâmetros analíticos foram adequados ao método, com recuperações variando entre 90 e 106%. Entretanto, visando contornar possíveis flutuações instrumentais causadas pela introdução de solventes orgânicos, os autores ressaltaram o uso da padronização interna.

A padronização interna é uma estratégia analítica que baseia-se na comparação do sinal analítico com o sinal de um elemento de referência, o padrão interno (PI), previamente selecionado, de modo que, o PI deve ser adicionado na mesma concentração em todas as soluções de referências, nas amostras e nos brancos. Quando a padronização interna é usada, todos os cálculos são fundamentados na hipótese de que tanto o sinal do analito como o do PI são perturbados igualmente pelas alterações nas condições experimentais e que ambos são influenciados pela matriz da amostra de forma semelhante. Assim, a razão entre os dois torna-se independente da fonte com que estão sendo provocados [203, 204].

O uso de PI é comumente utilizado para contornar problemas relacionados às interferências de matriz, assim como aqueles referentes à introdução e ao transporte inadequado da amostra até o plasma. Como consequência, uma melhoria na precisão e exatidão dos resultados é obtida [205, 206]. No entanto, para que o PI seja eficiente na correção dos sinais, é importante que o mesmo não esteja presente nas amostras e que não apresente linhas de interferências espectrais com os elementos a serem determinados. Ainda é necessário considerar que, tanto o analito como o PI devem possuir propriedades físico-químicas semelhantes [207, 208].

Estudos sistemáticos visando a escolha correta do padrão interno utilizando diferentes técnicas analíticas como F AAS [209, 210], GF AAS [211, 212], ICP OES [204, 213] e ICP-MS [214] foram relatados. A estratégia também tem sido relatada para melhorar o desempenho analítico de métodos para determinações multielementares por MIP OES, especialmente em análises de amostras com matrizes complexas como a cerveja [118, 119].

No trabalho apresentado a seguir, foi realizada uma investigação de diferentes elementos (Be, Ga, In, Sc e Y) como possíveis padrões internos, através da comparação do desempenho analítico obtido por cada um deles, na determinação multielementar em amostra de cervejas por MIP OES após a simples diluição ácida das amostras.

3.2 OBJETIVOS

3.2.1 Objetivo geral

Investigar diferentes elementos (Be, Ga, In, Sc e Y) como possíveis padrões internos e comparar o desempenho analítico obtido por cada um deles visando a determinação multielementar em amostras de cervejas por MIP OES.

3.2.2 Objetivos específicos

- Otimizar as condições operacionais do MIP OES para a determinação multielementar na matriz proposta;
- Estudar a diluição adequada da amostra que possibilite maior sensibilidade analítica para determinação dos analitos;
- Avaliar o uso de Be, Ga, In, Sc e Y como padrões internos;
- Obter as características analíticas do método desenvolvido (limite de detecção e quantificação; precisão e exatidão) e validá-lo;
- Aplicar o método desenvolvido em amostras de cervejas.

3.3 EXPERIMENTAL

3.3.1 Instrumentação

As medidas foram realizadas por um espectrômetro de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas, modelo MP-AES 4100/4200 da Agilent Technologies (Santa Clara, CA, USA) acoplado com um gerador de N₂ líquido, modelo 4107 (Agilent Technologies), utilizado como fonte de gás para o plasma. O sistema de introdução da amostra foi composto por um amostrador automático SPS 3, uma câmara ciclônica de passagem dupla e um nebulizador inerte modelo OneNeb. As condições instrumentais do MIP OES são apresentadas na Tabela 3.1.

Tabela 3.1. Condições instrumentais do MIP OES para a determinação multielementar em amostras de cervejas.

Parâmetros	Condições
Tempo de integração, s	3
Tempo de estabilização, s	20
Velocidade da bomba peristáltica, rpm	15
Número de replicatas	3
Correção de fundo	Auto

Parâmetros instrumentais como o fluxo de nebulização e a posição da tocha (zona de observação analítica do plasma) foram otimizadas para cada elemento pelo software MP Expert (Agilent Technologies) usando uma solução multielementar contendo os analitos e os padrões internos. Os resultados dessa otimização estão expressos na Tabela 3.2.

Tabela 3.2. Parâmetros instrumentais otimizados para a determinação multielementar em amostras de cervejas por MIP OES.

Elemento	Atômica /iônica	Linha espectral, nm	Posição da tocha	Taxa de nebulização, L min ⁻¹
Al	I	396,152	0	1,00
Ba	II	455,403	0	0,55
Co	I	340,512	0	0,65
Cr	I	425,433	-10	0,95
Cu	I	324,754	0	0,70
Fe	I	371,993	0	0,75
Mn	I	403,076	0	0,80
Ni	I	352,454	-10	0,70
Sr	II	407,771	0	0,65
Zn	I	213,857	0	0,45
Ca	II	317,933	10	0,50
K	I	769,897	20	0,90
Na	I	330,237	0	0,95
Mg	I	518,360	-10	0,75
Be*	I	265,062	0	0,45
Be*	II	313,107	0	0,75
Be*	I	234,861	0	0,75
In*	II	230,606	0	0,75
In*	I	325,608	0	0,75
In*	I	451,131	-10	0,95
Sc*	II	361,383	0	0,55
Ga*	I	294,364	10	0,80
Ga*	I	417,204	0	0,75
Y*	II	437,494	0	0,55
Y*	II	377,433	0	0,55
Y*	II	417,753	0	0,55

*Usado como padrão interno. I- linha atômica; II- linha iônica.

Como método comparativo, as amostras de cervejas foram digeridas em sistema fechado com aquecimento com forno de micro-ondas, modelo Mars 6 (CEM, EUA), equipado com tubos pressurizados, tipo XPRESS (260°C/500 psi). As determinações foram feitas utilizando um espectrômetro de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES), modelo

720 series (Agilent Technologies, Santa Clara, EUA) sob as condições operacionais descritas na Tabela 3.3.

Tabela 3.3. Condições operacionais para determinação multielementar por ICP OES em amostras de cerveja.

Parâmetro	Valor	
Potência, kW	1,10	
Vazão do plasma, L min ⁻¹	15	
Vazão do gás auxiliar, L min ⁻¹	1,5	
Nebulizador	V-Groove	
Câmara de nebulização	Sturman-Master	
Vazão de nebulização, L min ⁻¹	0,75	
Linha espectral, nm	Al 394,401	Ba 455,403
	Co 228,615	Cr 267,716
	Cu 213,598	Fe 238,204
	Mn 257,610	Ni 221,648
	Sr 421,552	Zn 213,857
	Ca 315,887	Mg 285,213
	Na 568,821	K 769,897

3.3.2 Reagentes, soluções e amostras

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico. As soluções foram preparadas usando água ultrapura (resistividade maior que 18,0 MΩcm) obtida a partir do sistema de purificação de água Milli-Q (Millipore, Bedford, EUA). As vidrarias utilizadas foram descontaminadas previamente em solução de HNO₃ a 10% (v/v) durante 12 h, lavadas em seguida com água ultrapura e secadas ambiente livre de poeira.

Soluções estoque de Al, Ba, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Sr e Zn (1000 mg L⁻¹) e de Ca, Mg, Na e K (4000 mg L⁻¹) (SpecSol, Quimlab Química e Metrologia, São José dos Campos, Brasil) foram usadas para preparar as soluções de referência (diluídas em HNO₃ 1,0 mol L⁻¹), usadas em todos os experimentos. Soluções estoques dos padrões internos Be, Ga, Sc, In e Y (SpecSol, Quimlab Química e Metrologia, São José dos Campos, Brasil) 1000 mg L⁻¹ foram apropriadamente diluídas para que estivessem nos brancos, nas soluções de referência e nas amostras diluídas em concentração final de 1,0 mg L⁻¹.

Ácido nítrico (67% Merck, Darmstadt, Alemanha) foi usado no procedimento de digestão por micro-ondas, no preparo de todas as soluções de referência e na diluição das

amostras de cerveja. Peróxido de hidrogênio 30% (m/m) (Merck, Darmstadt, Alemanha) também foi usado no procedimento de digestão das amostras.

O procedimento proposto foi aplicado na análise de sete amostras de cervejas do tipo *lager* (Pilsen, Malzbier e artesanal) adquiridas em supermercados da cidade de Cruz das Almas, Bahia, Brasil.

3.3.3 Procedimento analítico para determinação multielementar em amostras de cervejas por MIP OES

Dois mililitros de cada amostra de cerveja degaseificada e 200 μL de uma solução contendo 50,0 mg L^{-1} de Be, Ga, In, Sc e Y foram diluídos para 10,0 mL usando uma solução de HNO_3 1,0 mol L^{-1} , de modo que houvesse uma concentração final de 1,0 mol L^{-1} de cada PI na solução. Soluções de brancos analíticos também foram preparados com a adição do PI na mesma concentração. Todas as amostras foram preparadas em triplicata.

Curvas de calibração usando a adição de padrão e calibração externa foram preparadas nas faixas de concentração entre 0,010 - 5,00 mg L^{-1} para Co, Al, Sr, Cr, Fe, Mn, Zn, Ni, Ba e Cu; 0,1 - 200,0 mg L^{-1} para Ca, Mg e Na e entre 0,1 - 500,0 mg L^{-1} para K.

3.3.4 Procedimento de digestão das amostras

Inicialmente, as amostras de cervejas foram sonicadas por 30 min para degaseificação. Em seguida, 2,0 mL de cada amostra de cerveja degaseificada foram colocados em um recipiente de TeflonTM PFA (perfluoroalcoxi) e digeridos com 2,0 mL de HNO_3 concentrado e 2,0 mL de H_2O_2 30% (m/m). O programa de aquecimento do forno de micro-ondas foi realizado em três etapas: I) 20 min de rampa até 130 °C, II) 10 min mantidos a 130 °C e III) 20 min de ventilação. O procedimento de digestão das amostras foi feito baseado em procedimento proposto por Bellido-Milla et al. [11].

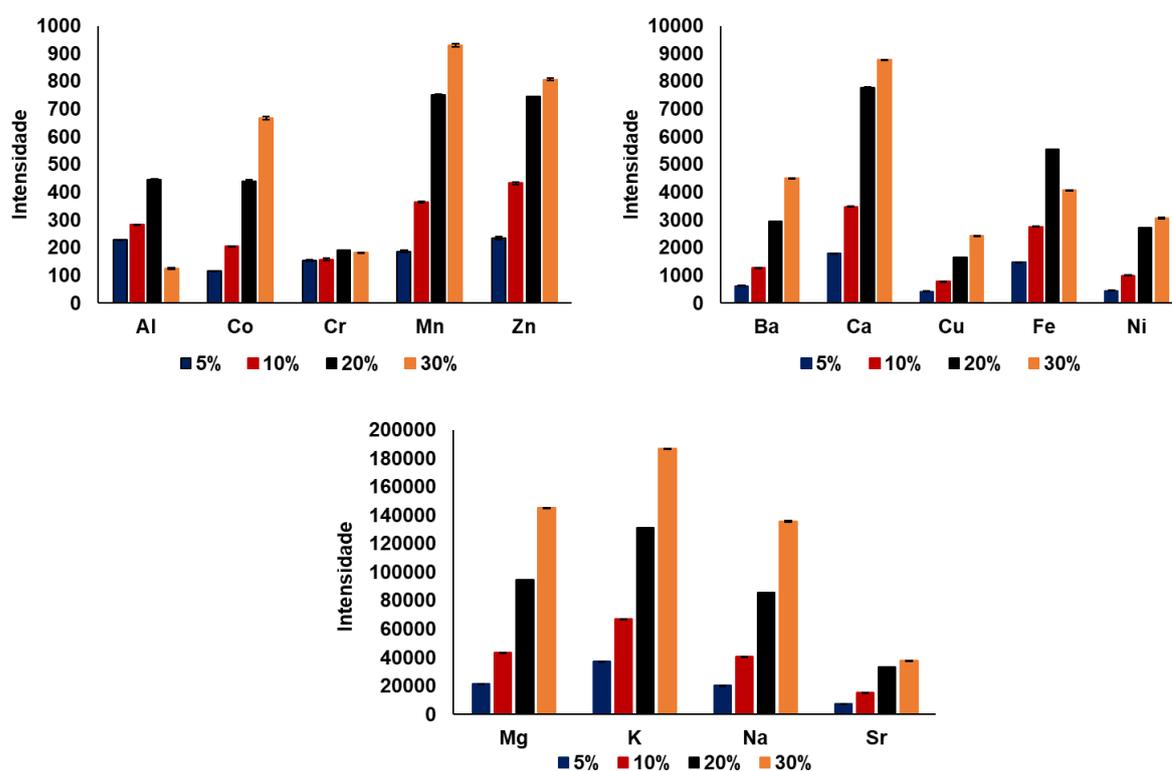
Após a digestão, as amostras foram transferidas para frascos de polietileno e o volume foi ajustado para 10,0 mL com água. A digestão de todas as amostras foi realizada em triplicata. Brancos analíticos foram obtidos da mesma forma.

3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.4.1 Estudo da diluição da amostra

A introdução direta das amostras de cervejas ou em forma de solução com alta concentração da amostra no equipamento não foi possível, visto que, na cerveja existem compostos orgânicos que podem estar presentes no meio em forma de suspensão, o que causa interferências (espectral e não espectral), bem como a obstrução do sistema de introdução da amostra, dificultando o transporte da amostra até o plasma [115, 118]. Dessa forma, foram realizadas sucessivas diluições da amostra em solução de ácido nítrico $1,0 \text{ mol L}^{-1}$, e os sinais analíticos foram observados a fim de permitir a determinação multielementar por MIP OES com sensibilidade adequada e sem problemas de deposição de matéria orgânica no interior do equipamento. Os resultados desse estudo estão ilustrados na Figura 3.1.

Figura 3.1 Avaliação de diferentes porcentagens de diluição das amostras de cervejas observando os sinais analíticos de cada elemento para a determinação multielementar em amostras de cervejas por MIP OES.



Conforme Figura 3.1, o aumento do sinal analítico foi observado para todos os analitos quando a proporção da amostra aumentou de 5 para 20%. No entanto, quando a solução foi preparada com 30% da amostra foi observado a diminuição do sinal analítico para alguns elementos, como Al, Fe e Cr, provavelmente provocado por dificuldades no transporte da

amostra e uma conseqüente diminuição na quantidade de solução entregue na tocha. Conforme discutido anteriormente, esse fato também pode estar relacionado às interferências da matriz, causada principalmente por elementos facilmente ionizáveis, como sódio, cálcio e potássio, que podem causar redução nos sinais de emissão de linhas iônicas quando presentes em altas concentrações, confirmando a necessidade da diluição da amostra [215, 216]. Diante desses resultados, as amostras de cervejas foram diluídas na proporção de 1:4 (amostra:solução de HNO_3 1,0 mol L^{-1}), após a degaseificação das amostras.

3.4.2 Avaliação da padronização interna

A padronização interna é baseada na comparação de sinais analíticos relacionados aos analitos com um PI. Um bom PI não pode estar presente na matriz da amostra e precisa ter propriedades semelhantes às dos analitos. Nesse sentido, Be, Ga, In, Sc e Y foram avaliados como PI para contornar possíveis efeitos de matriz e para corrigir erros e flutuações nos sinais analíticos de amostras de cervejas.

Um dos aspectos sobre a seleção de um PI determinado pela espectrometria de emissão atômica está relacionado ao uso de linhas atômicas ou iônicas [206, 207]. Dessa forma, foram selecionadas diferentes linhas de emissão do mesmo candidato a PI, conforme Tabela 3.2.

A correção do sinal analítico pela padronização interna foi feita usando a Equação 1 [217]:

$$I_c = I \times \frac{I_{PI}^0}{I_{PI}} \quad \text{Equação 1}$$

onde I é o sinal analítico obtido na quantificação do analito, I_{PI}^0 é a média dos sinais analíticos obtidos para o PI nas soluções de calibração e brancos analíticos, I_{PI} o sinal analítico obtido para o PI na solução da amostra e I_c é o sinal analítico corrigido.

O primeiro estudo acerca do PI mais adequado para as determinações foi realizado através da avaliação do efeito de matriz. Dessa forma, foram analisadas as inclinações obtidas pelas equações das curvas de calibração (α). As equações das curvas de calibração foram obtidas pela adição de padrão de cada analito e pela curva de calibração externa com padrões aquosos. Adicionalmente, a avaliação das inclinações foi realizada para as curvas obtidas com e sem a correção dos sinais analíticos pelos candidatos a PI. Quando as inclinações estavam próximas umas das outras, a razão entre os coeficientes angulares ($\alpha_{(\text{cerveja} + \text{padrão})} / \alpha_{\text{padrão}}$) tendeu a aproximar-se de 1, significando que não havia efeito de matriz [218, 219]. Os resultados desse estudo encontram-se na Tabela 3.4.

Tabela 3.4. Razão entre os coeficientes angulares das curvas obtidas pela adição de analito (20% de cerveja) e pelas curvas de calibração externa em meio ácido.

Elemento	Sem PI	Be 265,062 nm	Be 313,107 nm	Be 234,861 nm	In 230,606 nm	In 325,608 nm	In 451,131 nm	Sc 361,383 nm	Ga 294,364 nm	Ga 417,204 nm	Y 437,494 nm	Y 377,433 nm	Y 417,753 nm
Al	0,906	0,900	0,909	0,955	1,063	1,051	0,781*	0,934	0,900	0,940	1,027	0,987	0,989
Ba	0,956	0,928	0,960	1,041	0,980	0,982	0,859*	0,971	0,955	1,039	1,102	1,059	1,061
Ca	0,903	0,950	0,913	0,972	0,927	0,922	0,808*	0,921	0,922	0,979	1,060	0,932	1,023
Co	1,007	0,994	1,011	1,096	1,033	1,034	0,905	1,029	1,007	1,094	1,173*	1,127*	1,130*
Cr	0,992	0,979	1,008	1,080	1,018	1,018	0,900	1,015	0,993	1,077	1,155*	1,110*	1,112*
Cu	0,980	0,966	0,983	1,066	1,005	1,006	0,881*	0,999	0,979	1,065	1,137*	1,093	1,095
Fe	0,982	0,987	0,986	1,070	1,026	1,000	0,883*	1,081	0,980	1,062	0,839*	0,800*	0,823*
K	1,020	0,903	0,792*	1,004	1,042	1,040	0,723*	0,821*	1,186*	0,760*	0,934	0,933	0,925
Mg	0,922	0,911	0,953	1,014	0,950	0,929	0,801*	0,968	0,966	0,989	0,784*	0,751*	0,773*
Mn	0,983	0,969	0,986	1,069	1,008	1,009	0,882*	1,003	0,984	1,067	1,140*	1,095	1,098
Na	1,075	1,100	1,087	1,180*	1,156*	1,055	1,164*	1,183*	1,023	1,172*	1,355*	0,885*	0,912
Ni	0,979	0,966	0,985	1,066	1,004	1,003	0,877*	1,000	0,983	1,062	1,137*	1,093	1,095
Pb	1,008	1,007	1,098	1,029	1,013	1,012	0,867*	0,821*	1,015	1,018	1,138*	1,092	1,120*
Sr	0,999	0,984	1,001	1,005	1,004	1,001	0,845*	0,826*	0,923	0,991	1,133*	1,146*	1,132*
Zn	1,014	0,986	1,003	1,089	1,025	1,027	0,901	1,015	0,998	1,087	1,158*	1,113*	1,115*

*razão fora da faixa 0,900-1,100.

Considerando uma diferença de 10% como aceitável [220, 221], foi definido que, para as razões obtidas na faixa de 0,900-1,100, o PI estaria corrigindo possíveis efeitos da matriz [222-224]. Dessa forma, com base nos dados da Tabela 3.4, Sc, Y e In (em 451,131 nm) foram descartados como possíveis PI para a aplicação do trabalho proposto, uma vez que, a correção dos sinais analíticos por esses candidatos a PI, impactou em valores de razões ($\alpha_{\text{cerveja + padrão}}/\alpha_{\text{padrão}}$) fora da faixa de 0,900 - 1,100.

Ainda de acordo com os dados apresentados na Tabela 3.4, foi possível observar que para todos os analitos, a razão entre as inclinações ficou dentro da faixa desejada quando as medidas foram realizadas sem a correção do PI, indicando que não há efeito de matriz e a consequente possibilidade de determinação direta dos analitos nas amostras de cervejas pelo procedimento de diluição ácida e calibração externa. Dessa forma, considerando apenas esse aspecto, o uso do PI para a correção do efeito da matriz seria dispensável.

No entanto, a padronização interna não é usada apenas para eliminar ou reduzir os efeitos causados pela matriz da amostra. O PI também pode ser utilizado para melhorar os parâmetros analíticos como precisão [225, 226], recuperação do analito [227, 228] e exatidão [204, 213, 229]. Assim, considerando que tais parâmetros também podem ser usados como critérios de seleção do PI, a escolha do PI mais adequado para a determinação de cada analito foi realizada com base nos resultados de precisão, recuperação do analito e exatidão, avaliando os resultados obtidos quando cada um dos PIs foi utilizado.

Os valores de precisão (expressos em termos de desvio padrão, % RSD) listados na Tabela 3.5, foram determinados com e sem a correção dos PIs (Be, In, Ga), a partir de dez repetições de amostras contendo 0,50 e 3,00 mg L⁻¹ de cada analito.

Tabela 3.5 Valores de precisão, expressados em porcentagem de RSD (n=10), para a determinação multielementar direta em amostras de cervejas.

Elemento	Concentração, mg L ⁻¹	RSD, % (n = 10)							
		Sem PI	Be 265,062	Be 313,107	Be 234,861	In 230,606	In 325,608	Ga 294,364	Ga 417,204
Al	0,5	0,53	0,71	0,52	1,20	0,63	1,00	0,55	1,00
	3,0	0,70	0,72	0,61	0,50	0,77	0,60	0,41	0,64
Ba	0,5	0,30	0,67	0,90	0,41	0,30	0,40	0,57	0,75
	3,0	0,53	0,57	0,72	0,50	0,57	0,26	0,43	0,63
Co	0,5	0,60	0,68	0,64	0,43	0,50	0,33	0,52	0,55
	3,0	0,56	0,66	0,77	0,62	0,41	0,46	0,50	0,54
Cr	0,5	0,71	0,45	0,48	0,75	0,48	0,67	0,40	0,71
	3,0	0,90	0,87	0,75	1,00	0,73	0,38	0,65	0,80
Cu	0,5	0,82	0,61	0,47	0,72	0,38	0,74	0,52	0,92
	3,0	0,66	0,51	0,60	0,70	0,70	0,47	0,50	0,43
Fe	0,5	0,80	0,96	0,88	0,81	0,80	1,10	0,84	0,95
	3,0	0,70	0,62	0,55	0,68	0,52	0,19	0,33	0,40
Mn	0,5	0,79	0,64	0,54	0,74	0,52	0,82	0,47	0,77
	3,0	0,81	0,78	0,62	0,66	0,82	0,55	0,65	0,68
Ni	0,5	0,57	0,54	0,41	0,65	0,40	0,40	0,44	0,61
	3,0	0,68	0,80	0,87	0,37	0,80	0,27	0,52	0,32
Zn	0,5	1,76	4,00	3,92	0,86	4,00	4,30	0,90	4,30
	3,0	1,96	1,70	1,65	0,16	1,62	1,08	0,94	1,90
Sr	0,5	1,63	1,63	0,63	0,97	1,50	1,08	1,45	1,31
	3,0	0,96	1,50	0,96	1,96	1,63	1,08	1,62	1,63
Ca	0,5	0,67	1,31	1,43	0,63	1,27	0,92	1,30	0,57
	3,0	0,40	0,68	0,90	0,28	0,75	0,32	0,48	0,66
Mg	0,5	0,70	0,60	0,38	0,72	0,32	0,54	0,45	0,74
	3,0	0,60	0,55	0,88	0,50	0,62	0,42	0,58	0,60
Na	0,5	0,78	0,38	0,26	0,75	1,00	1,04	0,80	1,00
	3,0	0,82	0,48	0,59	0,76	0,90	0,86	0,42	1,20
K	0,5	0,71	0,70	1,20	1,15	0,90	0,90	0,48	0,87
	3,0	0,62	0,83	1,40	0,44	1,15	0,47	0,54	0,90

Estudos relataram que uma das principais vantagens do uso do PI em determinações que empregam plasma é o aprimoramento da precisão do método [228, 229]. A razão para esta melhoria está relacionada à compensação de problemas relacionados ao transporte da amostra, bem como aqueles provocados pela presença de elementos concomitantes da matriz, que podem afetar os processos de atomização, excitação e ionização do analito no plasma, e alterar as intensidades de emissão [228].

No entanto, de acordo com resultados listados na Tabela 3.5, ao comparar os valores de precisão obtidos para o mesmo analito, é possível observar que valores próximos foram obtidos para as medidas realizadas na presença e na ausência dos PIs. Esses resultados, sugerem que o MIP OES é uma técnica de boa precisão, conforme relatado em publicações que utilizaram a técnica para analisar amostras de diversas matrizes [188, 189, 230]. Os resultados expostos na Tabela 3.5 ainda indicaram que considerando apenas a precisão do método proposto, o uso do PI também poderia ser dispensado.

Na etapa seguinte, a influência do PI foi avaliada através de testes de adição e recuperação, visto que, esses resultados também foram usados anteriormente como critério para selecionar o PI mais adequado para a determinações multielementares [213, 219, 225, 227]. Os testes de recuperação foram realizados em quatro concentrações diferentes: 0,05; 0,5; 1,0 e 3,0 mg L⁻¹ para Al, Ba, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Sr e Zn; 30,0; 50,0; 80,0 e 100,0 mg L⁻¹ para Ca, Mg, Na; e 50,0; 150,0; 300,0 e 500,0 mg L⁻¹ para K. As porcentagens de recuperação (% R), apresentadas na Tabela 3.5, foram calculadas usando a Equação 2:

$$\% R = \frac{R_s - R_0}{R_{ad}} \quad \text{Equação 2}$$

onde R_s é o resultado das amostras com a adição dos analitos, R_0 é o resultado das amostras sem adição, e R_{ad} é a concentração de analito adicionado nas amostras.

Tabela 3.6. Resultados dos testes de adição e recuperação com diferentes candidatos a PI para a determinação multielementar em amostras de cervejas por MIP OES. (continua)

Elemento	Concentração adicionada, mg L ⁻¹	Recuperação, %							
		Sem PI	Be 265,062	Be 313,107	Be 234,861	In 230,606	In 325,608	Ga 294,364	Ga 417,204
Al	0,05	84	83	90	82	90	78	87	85
	0,50	108	110	90	92	106	78	92	91
	1,00	105	111	95	96	92	86	90	96
	3,00	114	108	106	102	94	88	94	93
Ba	0,05	109	116	93	132	98	116	103	76
	0,50	108	110	93	126	105	121	104	133
	1,00	107	112	88	127	111	120	108	134
	3,00	111	115	86	124	109	122	110	130
Co	0,05	105	101	89	112	103	88	81	81
	0,50	105	114	90	108	105	85	82	80
	1,00	105	113	90	102	110	84	85	79
	3,00	119	110	92	101	109	82	88	80
Cr	0,05	111	108	123	134	110	122	98	115
	0,50	100	106	111	133	98	104	89	110
	1,00	96	108	107	122	102	100	90	106
	3,00	117	108	112	122	104	96	92	98
Cu	0,05	103	110	107	132	103	106	85	117
	0,50	105	125	109	131	104	104	88	116
	1,00	103	128	108	123	111	102	91	114
	3,00	118	126	112	116	116	103	93	115
Fe	0,05	111	84	118	108	86	92	92	96
	0,50	102	116	122	105	88	94	94	93
	1,00	91	108	117	90	92	94	90	94
	3,00	121	118	119	105	96	102	118	88
	3,00	107	112	90	99	94	92	107	96

Tabela 3.6 Resultados dos testes de adição e recuperação com diferentes candidatos a PI para determinação multielementar em amostras de cervejas por MIP OES. (continua)

Elemento	Concentração adicionada, mg L ⁻¹	Sem PI	Recuperação, %						
			Be 265,062	Be 313,107	Be 234,861	In 230,606	In 325,608	Ga 294,364	Ga 417,204
Mn	0,05	109	107	104	117	93	103	91	114
	0,50	102	111	97	105	86	92	90	103
	1,00	98	112	95	97	92	88	91	100
	3,00	107	112	90	99	94	92	107	96
Ni	0,05	107	98	93	117	84	94	85	111
	0,50	104	130	90	107	82	85	82	110
	1,00	104	122	91	102	88	85	87	108
	3,00	117	118	93	98	89	84	86	98
Zn	0,05	111	102	94	94	86	86	107	102
	0,50	104	86	96	111	88	92	98	105
	1,00	113	85	96	113	92	88	105	107
	3,00	117	120	92	99	90	87	107	113
Sr	0,05	113	103	111	121	88	86	86	84
	0,50	109	112	110	118	90	84	92	88
	1,00	112	117	105	115	96	88	90	94
	3,00	134	125	97	116	98	92	87	96
Ca	30,0	124	105	102	124	112	114	112	104
	50,0	97	98	93	114	108	113	105	105
	80,0	101	106	98	111	106	108	106	94
	100	95	114	112	105	114	105	103	91
Mg	30,0	129	111	112	108	88	105	103	108
	50,0	91	98	103	112	102	104	106	107
	80,0	97	99	97	110	102	103	104	93
	100	105	106	104	108	106	107	107	95

Tabela 3.6 Resultados dos testes de adição e recuperação com diferentes candidatos a PI para a determinação multielementar em amostras de cervejas por MIP OES. (conclusão)

Elemento	Concentração adicionada, mg L ⁻¹	Recuperação, %							
		Sem PI	Be 265,062	Be 313,107	Be 234,861	In 230,606	In 325,608	Ga 294,364	Ga 417,204
Na	30,0	82	86	81	108	107	87	87	87
	50,0	109	88	93	113	106	92	104	96
	80,0	102	92	107	110	106	105	109	108
	100	97	94	108	111	114	105	112	112
K	50,0	138	126	118	138	122	114	118	115
	150	95	112	114	9291	112	95	94	94
	300	91	111	112	91	112	91	92	97
	500	105	108	110	106	108	104	104	103

Os resultados apresentados na Tabela 3.6 foram considerados satisfatórios, uma vez que, valores de recuperação entre 90 e 119%, foram obtidos para a maioria das concentrações adicionadas quando a padronização interna foi aplicada. Para a maioria dos elementos, os resultados obtidos com a padronização interna foram semelhantes aos resultados obtidos sem padronização interna, indicando que esses resultados ainda não foram suficientes para estabelecer qual PI seria mais adequado para a determinação de cada analito nas amostras de cerveja. Novamente, considerando apenas os resultados das recuperações, o uso do PI também não seria necessário para a determinação de multielementar usando MIP OES.

Entretanto, foi realizada uma terceira etapa que envolveu a avaliação da exatidão nas determinações por MIP OES. Para esta abordagem, os resultados obtidos nas determinações por MIP OES após a diluição das amostras de cervejas, foram comparadas com os resultados obtidos por ICP OES (considerados como valores de referência) após a digestão das amostras. Neste caso, foi observado melhoria na exatidão das determinações na presença do PI, que foi comprovada pela análise da faixa de erros obtida nas medidas realizadas na ausência e na presença do PI. A porcentagem dos erros, foi calculada usando a seguinte Equação 3:

$$erro (\%) = \left(\frac{C_m - C_i}{C_i} \right) \times 100 \quad \text{Equação 3}$$

onde C_m são os resultados encontrados, em termos de concentração, nas determinações por MIP OES e C_i são os resultados encontrados para as determinações feitas por ICP OES. Os resultados dos erros calculados encontram-se na Tabela 3.7.

Tabela 3.7 Faixas de erros encontrados comparando os resultados obtidos por ICP OES e MIP OES.

Padrão interno	Analito	Erro, %	
		Menor	Maior
Sem PI	*	15,7	89,5
	Co	0	2,7
Be (313,107 nm)	Al	0,2	8,8
	Sr	0	1,8
Be (265,062 nm)	Cr	0	9,3
Be (234,861 nm)	Fe	1,4	5,4
	Mn	0	2,1
	Zn	0	4,8
Ga (417,204 nm)	Ni	0	0,8
	Ca	0	8,3
	Mg	0	4,1
Ga (294,364 nm)	Na	0	2,6
In (230,606 nm)	Ba	0	18,1
	Cu	1,2	3,0
In (325,608 nm)	K	0,36	1,2

* Faixa de erro para todos os analitos para as medidas feitas sem PI.

Conforme mostrado na Tabela 3.7, valores mais próximos daqueles encontrados por ICP OES foram observados quando um PI apropriado foi utilizado nas determinações dos analitos por MIP OES, com exceção do Co, para o qual nenhuma melhoria na exatidão foi observada com o uso de PI. Enquanto os erros chegaram a um valor de 89,5% quando nenhuma padronização interna foi empregada, Be (313,107 nm) foi eficiente para determinar alumínio e estrôncio, com erros entre 0,2-8,8% e entre 0 e 1,8%, respectivamente; Be (265,062 nm) foi eficiente para determinação de cromo, com erros entre 0 e 9,3%; e Be (234,861 nm) foi eficiente na melhoria da exatidão para a determinação de ferro, manganês e zinco, com erros entre 1,4 e 5,4%; 0 e 2,1% e entre 0 e 4,8%, respectivamente. Além disso, Ga (417,204 nm) foi selecionado para a determinação de níquel, cálcio e magnésio, com erros entre 0 e 0,8%; 0 e 8,3% e entre 0 e 4,1%, respectivamente; e Ga (294,364 nm) foi escolhido para a determinação de sódio, com

erros entre 0 e 2,6%. O uso de In (230,606 nm) como PI foi indicado para as determinações de bário e cobre, com erros entre 0-18,1% e 1,2-3,0%, respectivamente; e In (325,608 nm) permitiu a determinação de potássio, com erros na faixa de 0,36-1,2%.

A melhoria na exatidão dos resultados também foi observada em trabalhos anteriores para as medidas realizadas com a correção empregando PI, quando os resultados foram comparando com aqueles nos quais nenhuma correção foi feita [204, 213, 229]. A avaliação da exatidão analítica mostrou que uma escolha adequada de um PI pode fazer uma diferença substancial na validação dos resultados obtidos em um método analítico que tem como objetivo a determinação multielementar utilizando MIP OES.

A seleção de um único PI para todos os analitos não foi possível. Este fato já havia sido apontado anteriormente, quando foi afirmado que um único PI não pode, simultaneamente, fornecer a melhor correção para todos os elementos em uma determinação multielementar [231]. No entanto, vale salientar que, o mesmo PI foi capaz de melhorar os resultados de diferentes analitos por meio de alteração da linha monitorada, indicando que a seleção da linha de emissão também é um parâmetro importante na padronização interna.

3.4.3 Desempenho analítico e aplicação do método

Os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) do método proposto foram calculados como três e dez vezes o desvio padrão de dez medidas do branco analítico, respectivamente, dividido pela inclinação da equação da curva analítica. Os valores de LD e LQ obtidos com a padronização interna foram semelhantes àqueles obtidos sem a correção pelos PI. É importante ressaltar que a introdução direta da amostra não foi possível devido às limitações da técnica em relação ao transporte e nebulização da amostra. Assim, as amostras de cerveja precisaram ser diluídas com uma solução de ácido nítrico, afetando os valores de LD e LQ. A Tabela 3.8 apresenta os parâmetros analíticos para o método proposto. O PI escolhido para cada analito foi aquele que apresentou melhor eficiência na exatidão do método.

Tabela 3.8 Parâmetros analíticos para a determinação multielementar direta em amostras de cervejas usando MIP OES após a diluição das amostras em meio ácido.

Analito	Padrão interno	LD, $\mu\text{g L}^{-1}$	LQ, $\mu\text{g L}^{-1}$	Equação de calibração ($n=5$)	R^2
Al	Be (313,107 nm)	4,60	15,4	$I_c = 48737x - 7451$	0,9996
Ba	In (230,606 nm)	4,20	1,40	$I_c = 342227x - 5734$	0,9998
Co	–	1,12	4,00	$I_c = 12185x - 12$	0,9998
Cr	Be (265,062 nm)	0,25	0,84	$I_c = 41790x - 2842$	0,9990
Cu	In (230,606 nm)	0,80	2,62	$I_c = 104787x - 3238$	0,9998
Fe	Be (234,861 nm)	3,03	10,1	$I_c = 8670x - 64$	0,9998
Mn	Be (234,861 nm)	0,23	0,78	$I_c = 45937x - 389$	0,9998
Ni	Ga (417,204 nm)	1,17	3,90	$I_c = 14506x - 5$	0,9998
Sr	Be (313,107 nm)	0,46	1,50	$I_c = 485667x - 27046$	0,9995
Zn	Be (234,861 nm)	3,8	12,6	$I_c = 930x + 238$	0,9992
Ca	Ga (417,204 nm)	300	970	$I_c = 762x + 234$	0,9996
Mg	Ga (417,204 nm)	10	30	$I_c = 4211x - 292$	0,9994
Na	Ga (294,364 nm)	420	620	$I_c = 328,72x - 3081$	0,9988
K	In (325,608 nm)	100	260	$I_c = 11323x + 131253$	0,9916

LD: limite de detecção; LQ: limite de quantificação; I_c : sinal analítico, cps; x: concentração do respectivo analito (em $\mu\text{g L}^{-1}$); R^2 : coeficiente de determinação.

3.4.4 Determinação multielementar direta em amostras de cervejas

O procedimento proposto foi aplicado na análise de sete amostras de cervejas dos tipos *lager* (pilsen, malzbier e artesanal) por MIP OES após a diluição das amostras com uma solução de ácido nítrico $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ na proporção de 1:4 (amostra: solução ácida) e com a padronização interna utilizando o PI escolhido para cada analito. Os resultados apresentados na Tabela 3.9, foram comparados com aqueles obtidos por ICP OES após a digestão das amostras. Um Teste t pareado mostrou que não houve diferenças significativas entre os resultados obtidos pelos dois métodos (nível de confiança de 95%).

Tabela 3.9. Determinação multielementar em amostras de cervejas por MIP OES na presença do PI, e por ICP OES após digestão ácida (n=3) *

PI**	Analito	Amostras													
		B1		B2		B3		B4		B5		C1		D1	
		MIP OES	ICP OES	MIP OES	ICP OES	MIP OES	ICP OES	MIP OES	ICP OES	MIP OES	ICP OES	MIP OES	ICP OES	MIP OES	ICP OES
Sem PI	Co	190 ± 3	185 ± 4	142 ± 3	142 ± 7	130 ± 4	128 ± 6	169 ± 1	170 ± 4	96 ± 1	95 ± 3	114 ± 2	113 ± 1	192 ± 4	195 ± 5
Be 313,107 nm	Al	41 ± 2	38 ± 2	31 ± 1	34 ± 2	<15	<15	<15	<15	402 ± 1	401 ± 2	318 ± 2	319 ± 3	55 ± 1	52 ± 1
	Sr	131 ± 1	130 ± 1	328 ± 3	326 ± 1	331 ± 3	337 ± 2	473 ± 1	475 ± 5	446 ± 2	447 ± 5	52 ± 1	53 ± 1	129 ± 1	129 ± 2
Be 265,062 nm	Cr	31 ± 1	30 ± 1	35 ± 1	36 ± 1	34 ± 1	33 ± 1	36 ± 1	37 ± 1	31 ± 1	31 ± 1	32 ± 1	32 ± 1	35 ± 1	32 ± 1
	Fe	52 ± 1	55 ± 1	83 ± 2	86 ± 1	<10	<10	<10	<10	73 ± 1	72 ± 2	<10	<10	67 ± 1	68 ± 3
Be 234,861 nm	Mn	88 ± 1	88 ± 2	150 ± 1	151 ± 1	161 ± 1	160 ± 8	90 ± 1	91 ± 2	145 ± 1	146 ± 5	91 ± 1	93 ± 5	134 ± 2	136 ± 2
	Zn	108 ± 1	108 ± 1	57 ± 1	55 ± 1	97 ± 1	97 ± 6	140 ± 1	141 ± 1	165 ± 1	164 ± 3	66 ± 1	63 ± 3	93 ± 1	95 ± 1
Ni 417,204 nm	Ni	605 ± 4	600 ± 2	405 ± 1	407 ± 1	433 ± 3	436 ± 5	610 ± 4	610 ± 10	322 ± 2	318 ± 7	347 ± 1	348 ± 2	538 ± 2	540 ± 6
	Ca	26 ± 1	25 ± 2	77 ± 1	77 ± 1	70 ± 1	70 ± 1	83 ± 1	83 ± 3	112 ± 1	112 ± 2	13 ± 1	12 ± 1	18 ± 1	18 ± 1
Mg 294,364 nm	Mg	73 ± 1	75 ± 2	75 ± 1	76 ± 1	79 ± 2	79 ± 3	76 ± 1	76 ± 1	75 ± 1	74 ± 1	25 ± 1	24 ± 1	75 ± 1	74 ± 11
	Na	52 ± 1	51 ± 1	63 ± 1	62 ± 2	63 ± 1	62 ± 1	74 ± 1	76 ± 2	171 ± 1	171 ± 1	94 ± 1	94 ± 1	97 ± 1	98 ± 5
In 230,606 nm	Ba	5 ± 1	6 ± 1	13 ± 1	11 ± 1	14 ± 1	13 ± 1	14 ± 1	13 ± 1	114 ± 1	116 ± 7	147 ± 1	154 ± 6	27 ± 1	27 ± 2
	Cu	53 ± 1	54 ± 4	79 ± 1	80 ± 6	80 ± 2	81 ± 3	68 ± 1	70 ± 1	68 ± 1	70 ± 4	29 ± 1	30 ± 1	65 ± 1	67 ± 5
In 325,608 nm	K	515 ± 7	520 ± 3	544 ± 2	548 ± 11	491 ± 7	494 ± 11	548 ± 1	546 ± 3	515 ± 7	520 ± 3	248 ± 3	251 ± 12	519 ± 12	517 ± 10

PI: padrão interno; MIP OES: espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas; ICP OES: espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado; B: cerveja Pilsen; C: cerveja Malzbier; D: cerveja artesanal. *Concentração em $\mu\text{g L}^{-1}$ para Al, Ba, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Sr e Zn e em mg L^{-1} para Ca, Mg, Na e K. **Padrões internos usados apenas nas determinações por MIP OES.

Conforme os dados da Tabela 3.9, é possível destacar que o potássio foi o elemento que apresentou maiores concentrações em todas as amostras. O teor de K encontrado está de acordo com estudos anteriores [7, 10, 118]. A origem dessa espécie na cerveja, assim como os outros macronutrientes, como cálcio, magnésio e sódio, vem da matéria-prima (malte e lúpulo) ou das leveduras. Diferentes níveis de sódio foram encontrados nas amostras analisadas, variando entre 51 e 171 mg L⁻¹.

Conforme discutido anteriormente, a presença de Ni, Zn, Mn, Cu e Fe na cerveja também pode estar relacionada à matéria-prima da bebida, pois tais espécies são micronutrientes essenciais para as plantas. Entretanto, é recomendado um limite máximo de 0,1 mg L⁻¹ dessas espécies em amostras de cervejas [5]. Os dados da Tabela 3.9 mostram que os valores encontrados nas amostras de cervejas analisadas foram abaixo do valor recomendado. Trabalhos anteriores relataram concentrações de Fe e Cu entre 0,09 - 4,2 mg L⁻¹ e entre 0,02 - 0,07 mg L⁻¹, respectivamente [49, 124].

As concentrações de ferro e alumínio, para algumas amostras, ficaram abaixo do LQ: 10,1 e 15,4 µg L⁻¹, respectivamente. As concentrações de Ba variaram na faixa de 5-154 µg L⁻¹, sendo o maior valor obtido para a amostra de cerveja escura (*Malzbier*). As concentrações de Sr variaram de 52 a 475 µg L⁻¹, com menor concentração para a amostra de cerveja escura. As concentrações previamente relatadas para essas espécies variaram entre 9,95-60,00 µg L⁻¹ e 50-760 µg L⁻¹ para bário e estrôncio, respectivamente [9, 120]. O cromo foi a espécie que apresentou menor concentração em todas as amostras, com valores variando entre 30-36 µg L⁻¹. Alguns autores relataram valores entre 25,6-441,7 e entre 1,03-118,15 µg L⁻¹ [57, 124]. Os resultados para o cobalto variaram entre 95-195 µg L⁻¹. Embora esses elementos sejam essenciais e contribuam para as necessidades dietéticas diárias, o conteúdo pode ser decorrente da composição dos ingredientes e de qualquer possível contaminação no processo de fabricação [45].

As diferenças encontradas nos valores de um mesmo analito para diferentes amostras de cerveja podem implicar em diferentes características das cervejas como aroma, sabor e quantidade de espuma, e estão diretamente ligadas ao processo de fabricação, origem da matéria-prima, propriedades do solo onde os cereais e o lúpulo foram cultivados bem como à eficiência nas etapas de fabricação. Os valores encontrados se assemelham aos descritos na literatura para a determinação de espécies inorgânicas em cervejas utilizando técnicas analíticas como ICP OES [7, 122, 130, 232], ICP-MS [9, 57, 123, 124], fluorescência de raios X por reflexão total (TXRF) [10], F AAS [11, 62] e GF AAS [93, 101].

As concentrações de espécies inorgânicas em amostras de cerveja encontradas em trabalhos anteriores estão relatadas na Tabela 3.10.

Tabela 3.10 Concentração de espécies inorgânicas em amostras de cervejas. (continua)

Analito	Tipo de cerveja	Faixa de concentração	Valor médio	Referência
Co	comercial; artesanal	0,08 – 0,57*	0,19	[123]
	pale barley; dark barley; pale wheat; dark wheat	0,169 – 0,481*	0,270	[9]
Al	comercial	64,6 – 2617,6*	538	[124]
	pale barley; dark barley; pale wheat; dark wheat	70,1 – 223*	122	[9]
	pilsen; não alcoólica; dark	--	10	[93]
	pilsen	10 – 225*	55	[7]
Sr	pale barley; dark barley; pale wheat; dark wheat	50,7 – 212*	123	[9]
	comercial	100 – 760*	280	[120]
Cr	comercial	25,6 - 441,7*	156,6	[124]
	artesanal	1,03 – 118,15*	12,2	[57]
	pilsen	10 – 104*	33	[7]
Fe	artesanal	2,11 – 73,29*	19,5	[57]
	lager, dark; de baixo teor alcoólico	57 – 1065*	240	[49]
	lager	94,8 – 107,3*	101,4	[130]
	lager	80 – 345*	216	[62]
Mn	comercial	4,2 – 231,7*	82	[124]
	comercial	30 – 260*	150	[120]
	pilsen; não alcoólica; dark	110 – 355*	205	[233]
	lager	70 – 165*	142	[62]
Zn	commercial; artesanal	550 – 2580*	1416	[118]
	comercial	10 – 980*	30	[120]
	pilsen; não alcoólica; dark	52-231*	160	[233]
	pilsen	10 - 87*	39	[7]

-- não mencionado; *concentração em $\mu\text{g L}^{-1}$; **concentração em mg L^{-1} .

Tabela 3.10 Concentração de espécies inorgânicas em amostras de cervejas. (conclusão)

Analito	Tipo de cerveja	Faixa de concentração	Valor médio	Referência
Ni	comercial	5,2 – 187,1*	36	[124]
	artesanal; comercial	< 7 – 1130*	160	[10]
Ba	comercial	5,2 – 75,7*	26	[124]
	pale barley; dark barley; pale wheat; dark wheat	9,95 – 60*	23	[9]
	comercial	10 – 50*	30	[120]
Cu	comercial	25,9 – 73,6*	50	[124]
	artesanal	16,64 – 3670,30*	1530,13	[57]
	pale barley; dark barley; pale wheat; dark wheat	27,3 – 109*	81,3	[9]
	pilsen; não alcoólica; dark	38 – 160*	109	[233]
	lager	71 – 114*	104,5	[62]
Ca	lager, dark; de baixo teor alcoólico	19,8 – 107,9**	57	[49]
	commercial; artesanal	5,6 – 127,0**	38	[118]
	pilsen	15 - 40**	23	[7]
Mg	lager, dark; de baixo teor alcoólico	43,1 – 266,6**	84,4	[49]
	comercial; artesanal	45,6 – 96,6**	71	[118]
	pilsen	29 - 85**	55	[7]
Na	lager, dark; de baixo teor alcoólico	8,36 – 103,03**	40	[49]
	commercial; artesanal	27,8 – 91,6**	52	[118]
	pilsen	12 - 69**	35	[7]
K	lager, dark; de baixo teor alcoólico	200,2 – 832,9**	406	[49]
	commercial; artesanal	245,6 – 636,0**	411	[118]
	pilsen	223 - 407**	313	[7]

-- não mencionado; *concentração em $\mu\text{g L}^{-1}$; **concentração em mg L^{-1} .

3.5 Conclusões

O método proposto permitiu a determinação de Al, Ba, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Sr, Zn, Ca, Mg, Na e K em amostras de cervejas por MIP OES empregando a calibração externa com a padronização interna. Cada analito respondeu de maneira diferente quando a padronização interna foi aplicada, melhorando a exatidão e o desempenho analítico geral do método. Embora a introdução direta da amostra no equipamento não tenha sido possível, a determinação foi possibilitada após a simples diluição com uma solução de ácido nítrico, evitando assim, o pré-tratamento demorado da amostra com aquecimento e reagentes concentrados. Parâmetros analíticos, como LD, LQ, precisão e exatidão foram adequados ao objetivo do trabalho. O método é de fácil aplicação e implementação, demonstrando assim, que MIP OES é uma técnica promissora para análises de rotina.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho possibilitou o desenvolvimento de estratégias analíticas para a determinação de espécies inorgânicas em amostras de cervejas. Os métodos desenvolvidos demonstraram ser simples, rápidos e confiáveis, empregando o mínimo de preparo das amostras e a viabilidade de calibração utilizando padrões aquosos.

O uso de HR CS GF AAS/MAS permitiu a determinação Cl, Si e Fe através das estratégias de determinação sequencial e simultânea. O uso de In como agente formador da molécula de InCl mostrou ser viável, sendo a molécula de InCl termicamente estável para a determinação de Cl. Além disso, o uso da mistura Pd/Mg como modificador químico garantiu a eliminação de interferências e a estabilidade térmica dos analitos até o momento de vaporização/atomização. O método mostrou ser eficiente para a determinação desses analitos em amostras de cervejas, entretanto, o uso de linha de absorção secundária de Fe para possibilitar a determinação simultânea com o Si, implicou em menor sensibilidade analítica para a determinação de Fe nas amostras. A combinação de tais estratégias mostrou-se vantajosa, visto que, o tempo de análise é reduzido quando comparado aquele necessário para a determinação dos três elementos separadamente, impactando ainda, na maior vida útil do forno de grafite e, conseqüentemente, no menor custo de análise.

O estudo da padronização interna demonstrou a importância da escolha correta do padrão interno para a exatidão do método em determinações multielementares em amostras de cervejas por MIP OES. Além disso, foi evidenciado que um único padrão interno não é suficiente para a correção de todos os elementos em uma determinação multielementar. Fatores como propriedades químicas semelhantes do PI e do analito, bem como a escolha correta da linha de emissão de ambos, podem influenciar na eficiência da correção do sinal analítico.

Como perspectivas futuras, pretende-se realizar um estudo sobre a aplicação e eficiência de modificadores químicos na determinação de não-metals via moléculas diatômicas por HR-CS GF MAS. Nesse caminho, planeja-se também o desenvolvimento de metodologia para a determinação indireta de aminoácidos em cervejas através da determinação de N via molécula de NO por HR-CS GF MAS.

Tendo em vista a importância de conhecer a forma como as espécies metálicas estão disponíveis nas cervejas e o impacto que essas formas podem trazer à estabilidade da bebida e à saúde do consumidor, sugere-se desenvolver métodos que permitam a especificação de Se, Fe, Cu, Cr e As nesse tipo de amostra por técnicas de absorção ou emissão atômica. Em especial, pretende-se investigar a determinação de arsênio por geração de hidreto em MIP OES, nesse

caso HG-MIP OES, estratégia ainda pouco explorada utilizando esta técnica e que, ainda não foi aplicada em amostras de cervejas.

Além disso, é interessante aplicar o método desenvolvido no presente trabalho utilizando a padronização interna na determinação multielementar em grande quantidade de amostras de cervejas por MIP OES e separar os resultados em grupos que distinguem as similaridades e/ou diferenças entre as amostras através de técnicas de análise multivariadas, com as metodologias de análise de componentes principais (PCA) e análise de agrupamento hierárquico (HCA). Nesse sentido, também é de especial relevância determinar a biodisponibilidade e bioacessibilidade de cada espécie analisada nas amostras para entender o quanto elas podem ser absorvidas pelo organismo humano ao consumir a cerveja.

REFERÊNCIAS

- [1] H.E. Anderson, I.C. Santos, Z.L. Hildenbrand, K.A. Schug, A review of the analytical methods used for beer ingredient and finished product analysis and quality control, *Analytica Chimica Acta*, 1085 (2019) 1-20.
- [2] M. Cerrato-Alvarez, E. Bernalte, M.J. Bernalte-García, E. Pinilla-Gil, Fast and direct amperometric analysis of polyphenols in beers using tyrosinase-modified screen-printed gold nanoparticles biosensors, *Talanta*, 193 (2019) 93-99.
- [3] S. Cortacero-Ramirez, M.H.-B. de Castro, A. Segura-Carretero, C. Cruces-Blanco, A. Fernandez-Gutierrez, Analysis of beer components by capillary electrophoretic methods, *Trends in Analytical Chemistry*, 22 (2003) 440-455.
- [4] J.G. Ibanez, A. Carreon-Alvarez, M. Barcena-Soto, N. Casillas, Metals in alcoholic beverages: A review of sources, effects, concentrations, removal, speciation, and analysis, *Journal of Food Composition and Analysis*, 21 (2008) 672-683.
- [5] P. Pohl, Determination and fractionation of metals in beer: A review, *Food Additives & Contaminants*, 25 (2008) 693-703.
- [6] V.R. Preedy, *Beer in health and disease prevention*, 1. ed, Burlington: Elsevier, 2008.
- [7] E. Marcano, C. Gómez, Z. Benzo, J. Laine, Estudio preliminar sobre la determinación de elementos traza en cervezas venezolanas por ICP-OES, *Química Nova*, 33 (2010) 653-655.
- [8] L.N. Pires, F.d.S. Dias, L.S. Teixeira, Assessing the internal standardization of the direct multi-element determination in beer samples through microwave-induced plasma optical emission spectrometry, *Analytica Chimica Acta*, 1090 (2019) 31-38.
- [9] L. Alexa, A. Kántor, B. Kovács, N. Czipa, Determination of micro and trace elements of commercial beers, *Journal of Microbiology, Biotechnology Food Sciences*, 7 (2018) 432-436.
- [10] E.M. Gama, C.C. Nascentes, R.P. Matos, G.d.C. Rodrigues, G.D. Rodrigues, A simple method for the multi-elemental analysis of beer using total reflection X-ray fluorescence, *Talanta*, 174 (2017) 274-278.
- [11] D. Bellido-Milla, J.M. Moreno-Perez, M.a.P. Hernández-Artiga, Differentiation and classification of beers with flame atomic spectrometry and molecular absorption spectrometry and sample preparation assisted by microwaves, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 55 (2000) 855-864.
- [12] L.N. Pires, J.S. Almeida, F.d.S. Dias, L.S. Teixeira, Sequential and simultaneous determination of chlorine, iron, and silicon in beer samples by high-resolution continuum source graphite furnace molecular and atomic absorption spectrometry, *Food Analytical Methods*, 13 (2020) 1746-1754.

- [13] M. Resano, M. Flórez, E. García-Ruiz, High-resolution continuum source atomic absorption spectrometry for the simultaneous or sequential monitoring of multiple lines. A critical review of current possibilities, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 88 (2013) 85-97.
- [14] M. Resano, M. Flórez, E. García-Ruiz, Progress in the determination of metalloids and non-metals by means of high-resolution continuum source atomic or molecular absorption spectrometry. A critical review, *Analytical Bioanalytical Chemistry*, 406 (2014) 2239-2259.
- [15] W. Boschetti, M. Orlando, M. Dullius, M. Dessuy, M. Vale, B. Welz, J. de Andrade, Sequential and simultaneous determination of four elements in soil samples using high-resolution continuum source graphite furnace atomic and molecular absorption spectrometry, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 31 (2016) 1269-1277.
- [16] M. Pistón, A. Suárez, V. Bühl, F. Tissot, J. Silva, L. Panizzolo, Influence of cooking processes on Cu, Fe, Mn, Ni, and Zn levels in beef cuts, *Journal of Food Composition and Analysis*, 94 (2020) 103624.
- [17] F.C. Jofre, D.N. Larregui, M. Savio, An eco-friendly infrared method for rapid soil sample preparation for multielemental determination by microwave induced plasma atomic emission spectrometry, *Microchemical Journal*, 159 (2020) 105448.
- [18] A.M. Pereira, D.H. Bonemann, S.H. Scherdien, B.P. Ávila, I.F. Antunes, A.S. Ribeiro, M.A. Gularte, Evaluation of total and bioaccessible concentration of minerals in creole beans, *Journal of Food Composition and Analysis*, 94 (2020) 103622.
- [19] E.D. Baxter, P.S. Hughes, *Beer: Quality, safety and nutritional aspects*, 1 ed. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2011. .
- [20] I.S. Hornsey, *A history of beer and brewing*, Royal Society of Chemistry 2003.
- [21] J.F. Mega, E. Neves, C.J.d. Andrade, A produção de cerveja no Brasil, *Revista Citino*, 1 (2011) 34-42.
- [22] P. Damerow, Sumerian beer: the origins of brewing technology in ancient Mesopotamia, *Cuneiform Digital Library Journal*, 2 (2012).
- [23] J.F. Gretton, The history of beer, *Journal of the Institute of Brewing*, 35 (1929) 356-362.
- [24] R. Morado, *Larousse de cerveja. Larousse do Brasil*. 1. ed. São Paulo: Editora Alaúde, 2017.
- [25] D. De Keukeleire, J. Vindevogel, R. Szücs, P. Sandra, The history and analytical chemistry of beer bitter acids, *Trends in Analytical Chemistry*, 11 (1992) 275-280.

- [26] C. Almeida, Métodos Espectroscópicos para o Estudo da Cerveja. 2006. Dissertação (Mestrado em Química e Qualidade dos Alimentos) – Departamento de Química- Universidade de Aveiro, Aveiro, 2006.
- [27] S. de Paula Santos, Os Primórdios da Cerveja no Brasil. 1 ed. São Paulo: Ateliê Editorial, 2003.
- [28] A.M.d. Santos, Estudo da influência da complementação de nutrientes no mosto sobre o processo de fermentação alcoólica em batelada. 2008. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Unidade Acadêmica Centro de Tecnologia - Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2008.
- [29] D.A.C. Passos, Identificação da competitividade da indústria cervejeira: uma aplicação de caso da SaintBier-Forquilha-SC. 2012. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Econômicas) - Centro Sócio Econômico - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2012. .
- [30] M.A. de Camargos, F.V. Barbosa, Da fusão Antártica/Brahma à fusão com a Interbrew: uma análise da trajetória econômico-financeira e estratégica da Ambev, Revista de Gestão, 12 (2005) 47-63.
- [31] Brasil, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto nº 9.902, de 08 de julho de 2019. Altera o anexo ao decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009, que regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. Diário Oficial União, Brasília, DF, 8 jul. 2019. Seção 1. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2019-2022/2019/Decreto/D9902.htm. Acesso em: 12 dez. 2020.
- [32] N.A. Rosa, J.C. Afonso, A química da cerveja, Revista Química Nova, 37 (2015) 98-105.
- [33] P.H.A. Silva, F.C. Faria, Avaliação da intensidade de amargor e do seu princípio ativo em cervejas de diferentes características e marcas comerciais, Journal of Food Science and Technology, 28 (2008) 902-906.
- [34] B. Zuppardo, Uso da goma Oenogum para a estabilização coloidal e de espuma em cerveja. 2010. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.
- [35] O. Cervieri Júnior, J.R. Teixeira Júnior, R. Galinari, E.L. Rawet, C.T.J. Silveira, O setor de bebidas no Brasil, (2014).
- [36] S.B. A. Pavlsler, Lager Beer. In: V.R. Preedy. Beer in Healt and Disease Prevention, 1. ed. Londres: Elsevier, (2009).
- [37] F.G. Priest, I. Campbell, Brewing microbiology, 3. ed. New York: Springer Science, 2003.

- [38] F.S. de Almeida, C.A. de Andrade Silva, S.M. Lima, Y.R. Suarez, L.H. da Cunha Andrade, Use of Fourier transform infrared spectroscopy to monitor sugars in the beer mashing process, *Food Chemistry*, 263 (2018) 112-118.
- [39] R.S. Durello, L.M. Silva, S. Bogusz, *Química do Lúpulo*, *Química Nova*, 42 (2019) 900-919.
- [40] P.B. Siqueira, H.M.A. Bolini, G.A. Macedo, O processo de fabricação da cerveja e seus efeitos na presença de polifenóis, *Alimentos e Nutrição Araraquara*, 19 (2009) 491-498.
- [41] M. Ocvirk, N.K. Mlinarič, I.J. Košir, Comparison of sensory and chemical evaluation of lager beer aroma by gas chromatography and gas chromatography/mass spectrometry, *Journal of the Science and Food Agriculture*, 98 (2018) 3627-3635.
- [42] C.G. Viejo, S. Fuentes, D.D. Torrico, A. Godbole, F.R. Dunshea, Chemical characterization of aromas in beer and their effect on consumers liking, *Food Chemistry*, 293 (2019) 479-485.
- [43] G.G. Stewart, *Saccharomyces species in the Production of Beer*, *Beverages*, 2 (2016) 34.
- [44] M. Sleiman, W.G. Venturini Filho, C. Ducatti, T. Nojimoto, Determinação do percentual de malte e adjuntos em cervejas comerciais brasileiras através de análise isotópica, *Ciência e Agrotecnologia*, 34 (2010) 163-172.
- [45] S. Sohrabvandi, A. Mortazavian, K. Rezaei, Health-related aspects of beer: a review, *International Journal of Food Properties*, 15 (2012) 350-373.
- [46] A. Ambrosi, Desalcoolização de cerveja: avaliação da remoção de etanol de soluções aquosas por osmose direta. 2016. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Escola de Engenharia - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2016.
- [47] H.-D. Belitz, W. Grosch, P. Schieberle, *Food Chemistry*, 4 ed., Springer, Berlim, 2009, 2009.
- [48] J.J. Palmer, C. Kaminski, *Water: A comprehensive guide for brewers*, 1 ed. Colorado: Brewers Publications, 2013.
- [49] A. Alcázar, F. Pablos, M.J. Martín, A.G. González, Multivariate characterisation of beers according to their mineral content, *Talanta*, 57 (2002) 45-52.
- [50] L. Montanari, H. Mayer, O. Marconi, P. Fantozzi, Minerals in beer, In: V.R. Preedy. *Beer in Health and Disease Prevention*, 1. ed. Londres: Elsevier, 2009. p. 360-448.
- [51] H.M. Eßlinger, *Handbook of Brewing Process, technology, markets*, 1. ed. Freiberga: Wiley-VCH, 2009.

- [52] S. Sripanyakorn, R. Jugdaohsingh, H. Elliott, C. Walker, P. Mehta, S. Shoukru, R.P. Thompson, J.J. Powell, The silicon content of beer and its bioavailability in healthy volunteers, *British Journal of Nutrition*, 91 (2004) 403-409.
- [53] M. Bellés, D. Sanchez, M. Gómez, J. Corbella, J. Domingo, Silicon reduces aluminum accumulation in rats: relevance to the aluminum hypothesis of Alzheimer disease, *Alzheimer Disease & Associated Disorders*, 12 (1998) 83-87.
- [54] M. Gonzalez-Munoz, I. Meseguer, M. Sanchez-Reus, A. Schultz, R. Olivero, J. Benedí, F. Sánchez-Muniz, Beer consumption reduces cerebral oxidation caused by aluminum toxicity by normalizing gene expression of tumor necrotic factor alpha and several antioxidant enzymes, *Food and Chemical Toxicology*, 46 (2008) 1111-1118.
- [55] T.R. Casey, C.W. Bamforth, Silicon in beer and brewing, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90 (2010) 784-788.
- [56] I. Krausová, R. Cejnar, J. Kučera, P. Dostálek, Impact of the brewing process on the concentration of silicon in lager beer, *Journal of the Institute of Brewing*, 120 (2014) 433-437.
- [57] P. Passaghe, S. Bertoli, F. Tubaro, S. Buiatti, Monitoring of some selected heavy metals throughout the brewing process of craft beers by inductively coupled plasma mass spectrometry, *European Food Research and Technology*, 241 (2015) 199-215.
- [58] P. Čejka, T. Horák, J. Dvořák, J. Čulík, M. Jurkova, V. Kellner, D. Hašková, Monitoring of the distribution of some heavy metals during brewing process, *Ecological Chemistry and Engineering Society*, 18 (2011) 67-74.
- [59] M. Pagenstecher, C. Maia, M.L. Andersen, Retention of Iron and Copper during Mashing of Roasted Malts, *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 79 (2021) 138-144.
- [60] B. Vanderhaegen, H. Neven, H. Verachtert, G. Derdelinckx, The chemistry of beer aging—a critical review, *Food Chemistry*, 95 (2006) 357-381.
- [61] J. Olšovská, V. Jandovská, S. Běláková, P. Kubizniaková, T. Vrzal, K. Štěrbá, Monitoring of potential contaminants in beer from the Czech Republic, *Kvasny Prumysl*, 65 (2019) 84–96-84–96.
- [62] P. Pohl, B. Prusisz, Chemical fractionation of Cu, Fe and Mn in canned Polish beers, *Journal of Food Composition and Analysis*, 23 (2010) 86-94.
- [63] C. Zufall, T. Tyrell, The influence of heavy metal ions on beer flavour stability, *Journal of the Institute of Brewing*, 114 (2008) 134-142.
- [64] D. Jenkins, S. James, F. Dehrmann, K. Smart, D. Cook, Impacts of copper, iron, and manganese metal ions on the EPR assessment of beer oxidative stability, *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 76 (2018) 50-57.

- [65] P. Ampan, S. Lapanantnoppakhun, P. Sooksamiti, J. Jakmunee, S.K. Hartwell, S. Jayasvati, G.D. Christian, K. Grudpan, Determination of trace iron in beer using flow injection systems with in-valve column and bead injection, *Talanta*, 58 (2002) 1327-1334.
- [66] B.J. Chrisfield, H. Hopfer, R.J. Elias, Impact of Copper Fungicide Use in Hop Production on the Total Metal Content and Stability of Wort and Dry-Hopped Beer, *Beverages*, 6 (2020) 48.
- [67] P. Wietstock, T. Kunz, H. Waterkamp, F.-J. Methner, Uptake and release of Ca, Cu, Fe, Mg, and Zn during beer production, *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 73 (2015) 179-184.
- [68] C.A. Blanco, D. Sancho, I. Caballero, Aluminium content in beers and silicon sequestering effects, *Food Research International*, 43 (2010) 2432-2436.
- [69] Brasil, Instrução normativa nº 65, de 10 de dezembro de 2019. Estabelece os padrões de identidade e qualidade para os produtos de cervejaria. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 11 dez. 2019. Seção 1, p. 31. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-n-65-de-10-de-dezembro-de-2019-232666262>. Acesso em: 14 dez. 2020.
- [70] Brasil. Resolução - RDC nº 42, de 29 de agosto de 2013. Dispõe sobre o Regulamento Técnico MERCOSUL sobre Limites Máximos de Contaminantes Inorgânicos em Alimentos. Disponível em <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/biblioteca-de-normas-vinhos-e-bebidas/resolucao-rdc-no-42-de-29-de-agosto-de-2013.pdf>. Acessado em 12 de janeiro de 2021. .
- [71] M.S. B. Welz, *Atomic Absorption Spectrometry*, 3 ed. ed.1999.
- [72] B. Welz, M.G.R. Vale, É.R. Pereira, I.N. Castilho, M.B. Dessuy, Continuum source atomic absorption spectrometry: past, present and future aspects-a critical review, *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 25 (2014) 799-821.
- [73] D.L.G. Borges, A. Curtius, B. Welz, U. Heitmann, Fundamentos da espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua, *Revista Analytica*, 18 (2005) 58-67.
- [74] S.L. Ferreira, M.A. Bezerra, A.S. Santos, W.N. dos Santos, C.G. Novaes, O.M. de Oliveira, M.L. Oliveira, R.L. Garcia, Atomic absorption spectrometry—A multi element technique, *Trends in Analytical Chemistry*, 100 (2018) 1-6.
- [75] R.S. Amais, F.R. Rocha, J.A. Nóbrega, Sinais de fundo em análise instrumental: uma discussão essencial em cursos de graduação, *Química Nova*, 40 (2017) 228-237.
- [76] P. Pohl, P. Jamroz, M. Welna, A. Szymczycha-Madeja, K. Greda, Chemical-vapor generation of transition metals through the reaction with tetrahydroborate in recent achievements in analytical atomic spectrometry, *Trends in Analytical Chemistry*, 59 (2014) 144-155.

- [77] C.F. Frois, W. Boschetti, A.S. dos Passos, M.L. Potes, M.G.R. Vale, M.M. Silva, A comparison between chemical and photochemical vapor generation techniques for mercury determination using univariate and multivariate optimization, *Microchemical Journal*, 157 (2020) 105029.
- [78] D.L. Tsalev, V.I. Slaveykova, L. Lampugnani, A. D'Ulivo, R. Georgieva, Permanent modification in electrothermal atomic absorption spectrometry—advances, anticipations and reality, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 55 (2000) 473-490.
- [79] A. Silva, B. Welz, M. de Loos-Vollebregt, Evaluation of pyrolysis curves for volatile elements in aqueous standards and carbon-containing matrices in electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 63 (2008) 755-762.
- [80] B. Ambrozini, V.R. A Filho, S.R. Oliveira, L.V.S. Sacramento, J.A.G. Neto, Evaluation of modifiers for determination of V in parsley by GF AAS, *Food Chemistry*, 116 (2009) 1024-1028.
- [81] A.S. Santos, C.T. de Souza, D.J. Leao, F.O. Correia, T.S. Almeida, S.L. Ferreira, Simultaneous Determination of Chromium and Iron in Powdered Milk Using High-Resolution Continuum Source Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry, *Food Analytical Methods*, 13 (2020) 284-290.
- [82] L.M. dos Santos, R.G. Araujo, B. Welz, S.D.C. Jacob, M.G.R. Vale, H. Becker-Ross, Simultaneous determination of Cd and Fe in grain products using direct solid sampling and high-resolution continuum source electrothermal atomic absorption spectrometry, *Talanta*, 78 (2009) 577-583.
- [83] M. Schneider, É.R. Pereira, D.P. de Quadros, B. Welz, E. Carasek, J.B. de Andrade, J. del Campo Menoyo, J. Feldmann, Investigation of chemical modifiers for the determination of cadmium and chromium in fish oil and lipid matrices using HR-CS GF AAS and a simple 'dilute-and-shoot' approach, *Microchemical Journal*, 133 (2017) 175-181.
- [84] G. Schlemmer, B. Welz, Palladium and magnesium nitrates, a more universal modifier for graphite furnace atomic absorption spectrometry, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 41 (1986) 1157-1165.
- [85] B. Welz, G. Schlemmer, J.R. Mudakavi, Palladium nitrate–magnesium nitrate modifier for electrothermal atomic absorption spectrometry. Part 5. Performance for the determination of 21 elements, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 7 (1992) 1257-1271.
- [86] P. Coufalík, A. Uher, O. Zvěřina, J. Komárek, assessment, Determination of cadmium in lichens by solid sampling graphite furnace atomic absorption spectrometry (SS-GF-AAS), *Environmental Monitoring*, 192 (2020) 1-7.

- [87] D.M. Silvestre, C.S. Nomura, Direct determination of potentially toxic elements in rice by SS-GF AAS: development of methods and applications, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61 (2013) 6299-6303.
- [88] M. Tuzen, O.D. Uluozlu, D. Mendil, M. Soylak, L.O. Machado, W.N. Dos Santos, S.L. Ferreira, A simple, rapid and green ultrasound assisted and ionic liquid dispersive microextraction procedure for the determination of tin in foods employing ETAAS, *Food Chemistry*, 245 (2018) 380-384.
- [89] V.S. Souza, L.S. Teixeira, Q.O. Santos, I.S. Gomes, M.A. Bezerra, Determination of Copper and Cadmium in Petroleum Produced Formation Water by Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry after Cloud Point Extraction, *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 31 (2020) 1186-1193.
- [90] M. Resano, E. García-Ruiz, High-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry: Is it as good as it sounds? A critical review, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 399 (2011) 323-330.
- [91] B. Welz, S. Mores, E. Carasek, M.G.R. Vale, M. Okruss, H. Becker-Ross, High-resolution continuum source atomic and molecular absorption spectrometry—a review, *J Applied Spectroscopy Reviews*, 45 (2010) 327-354.
- [92] W. Boschetti, Espectrometria de absorção atômica e molecular de alta resolução com fonte contínua e forno de grafite: possibilidades e aplicações analíticas. 2016. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, (2016).
- [93] S.S.O. Borges, M.A. Beinner, J.B.B. Silva, Direct method for determination of Al, Cd, Cu, and Pb in beers in situ digested by GF AAS using permanent modifiers, *Biological Trace Element Research*, 167 (2015) 155-163.
- [94] S.S. de Oliveira, W. Borges Neto, M.A. Beinner, J.B. Borba da Silva, Development and validation of methods for the determination of aluminum and lead in beer using multivariate optimization and GFAAS, *Atomic Spectroscopy*, 37 (2016) 72-82.
- [95] H. Matusiewicz, M. Kopras, Methods for improving the sensitivity in atom trapping flame atomic absorption spectrometry: analytical scheme for the direct determination of trace elements in beer, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 12 (1997) 1287-1291.
- [96] E.M. Branco, Estudo da migração do ferro das latas para a cerveja. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade de Aveiro - Aveiro, 2010.
- [97] J. Cheng, X. Ma, Y. Wu, Silica gel chemically modified with ionic liquid as novel sorbent for solid-phase extraction and preconcentration of lead from beer and tea drink samples followed by flame atomic absorption spectrometric determination, *Food Analytical Methods*, 7 (2014) 1083-1089.

- [98] M. Tefera, D. Ayele, Investigation of total polyphenol, antioxidant activity, and levels of metals in Ethiopian commercial beers, *Cogent Chemistry*, 6 (2020) 1824336.
- [99] E. Zambrzycka-Szelewa, E. Nalewajko-Sieliwoniuk, M. Zaremba, A. Bajguz, B. Godlewska-Żyłkiewicz, The Mineral Profile of Polish Beers by Fast Sequential Multielement HR CS FAAS Analysis and Its Correlation with Total Phenolic Content and Antioxidant Activity by Chemometric Methods, *Molecules*, 25 (2020) 3402.
- [100] L.M.V. Soares, A.M.M. Moraes, Lead and cadmium content of Brazilian beers, *Food Science Technology*, 23 (2003) 285-289.
- [101] R. Svendsen, W. Lund, Speciation of Cu, Fe and Mn in beer using ion exchange separation and size-exclusion chromatography in combination with electrothermal atomic absorption spectrometry, *Analyst*, 125 (2000) 1933-1937.
- [102] E. Vieira, M.E. Soares, M. Koziar, Z. Krejpcio, I.M. Ferreira, M.L. Bastos, f. chemistry, Quantification of total and hexavalent chromium in lager beers: Variability between styles and estimation of daily intake of chromium from beer, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62 (2014) 9195-9200.
- [103] G.M. dos Santos, D. Pozebon, C. Cerveira, D.P. de Moraes, Inorganic arsenic speciation in rice products using selective hydride generation and atomic absorption spectrometry (AAS), *Microchemical Journal*, 133 (2017) 265-271.
- [104] R. Thomas, *Practical Guide to ICP-MS: A Tutorial for Beginners*. New York: CRC Press, Taylor and Francis Group, 3 ed.2013.
- [105] Q. Jin, Y. Duan, J.A. Olivares, Development and investigation of microwave plasma techniques in analytical atomic spectrometry, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 52 (1997) 131-161.
- [106] T.A. Anunciação, W.C. de Carvalho, M.G. Korn, J.S. Almeida, A.F. Dantas, L.S. Teixeira, Evaluation of slurry sampling preparation of enteral nutrition formulations for multielement determination using inductively coupled plasma optical emission spectrometry, *Food Chemistry*, 365 (2021) 130474.
- [107] E.S. da Boa Morte, I. dos Santos Barbosa, E.C. Santos, J.A. Nóbrega, M.d.G.A. Korn, Axial view inductively coupled plasma optical emission spectrometry for monitoring tin concentration in canned tomato sauce samples, *Food Chemistry*, 131 (2012) 348-352.
- [108] B. Feist, B. Mikula, Preconcentration of heavy metals on activated carbon and their determination in fruits by inductively coupled plasma optical emission spectrometry, *Food Chemistry*, 147 (2014) 302-306.
- [109] L.S.B. Carvalho, C.S. Silva, J.A. Nobrega, E.S.B. Morte, D.C.M.B. Santos, M.G.A. Korn, Microwave induced plasma optical emission spectrometry for multielement determination in instant soups, *Journal of Food Composition Analysis*, 86 (2020) 103376.

- [110] A. Montaser, D. Golightly, *Inductively Coupled Plasmas in Analytical Atomic Spectrometry*, 2. ed. New York: Wiley-VCH, (1992).
- [111] L.S.B. Carvalho, *Determinação da composição elementar em amostras de alimentos com alto teor salino por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado*. 2015. Dissertação (Mestrado em Química) - Instituto de Química- Universidade Federal da Bahia, Salvador, , (2015).
- [112] K.J.F. C.B. Boss, *Concept, Instrumentation and Techniques in Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*, Shelton: Perkin-Elmer, 2 ed.2004.
- [113] J.S. Becker, *Inorganic Mass Spectrometry—Principles and Applications*, Nova Jersey: Wiley-Interscience, 1 ed.2007.
- [114] A.L.G. K.E. Jarvis, R.S. Houk, *Handbook of Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*, New York: Blackie., 1 ed.1992.
- [115] A.A. Ammann, *Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP MS): a versatile tool*, *Journal of Mass Spectrometry*, 42 (2007) 419-427.
- [116] E.R. J. Jankowski, *Microwave Induced Plasma Analytical Spectrometry*, RSC Publishing, Cambridge, 1 ed.2011.
- [117] L.M.D. Rosario, H. Lee, E. Penafiel, H.J. Ramos, L.M.T. Bo-ot, R.V. Fischer, R.B. Tumlos, *Characterization of a Microwave-Induced Atmospheric-Pressure Ar–N₂ Plasma Pencil*, *IEEE Transactions on Plasma Science*, 45 (2017) 301-309.
- [118] P.R. Leão, A.L. Medina, M.A. Vieira, A.S. Ribeiro, *Beer sample decomposition using a reflux system for the monoelementar determination by F AAS/AES and multielementar determination by MIP OES*, *Brazilian Journal of Food Technology*, 21 (2018).
- [119] D.A. Goncalves, T. McSweeney, M.C. Santos, B.T. Jones, G.L. Donati, *Standard dilution analysis of beverages by microwave-induced plasma optical emission spectrometry*, *Analytica Chimica Acta*, 909 (2016) 24-29.
- [120] Á. Alcázar, J.M. Jurado, A. Palacios-Morillo, F. de Pablos, M.J. Martín, *Recognition of the geographical origin of beer based on support vector machines applied to chemical descriptors*, *Food Control*, 23 (2012) 258-262.
- [121] A. Asfaw, G. Wibetoe, *Direct analysis of beer by ICP-AES: a very simple method for the determination of Cu, Mn and Fe*, *Microchimica Acta*, 152 (2005) 61-68.
- [122] A. Virgilio, D. Schiavo, J.A. Nóbrega, G.L. Donati, *Evaluation of standard dilution analysis (SDA) of beverages and foodstuffs by ICP OES*, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 31 (2016) 1216-1222.

- [123] B. Wyrzykowska, K. Szymczyk, H. Ichichashi, J. Falandysz, B. Skwarzec, S.-i. Yamasaki, Application of ICP sector field MS and principal component analysis for studying interdependences among 23 trace elements in Polish beers, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49 (2001) 3425-3431.
- [124] C. Voica, D.-A. Magdas, I. Feher, Metal content and stable isotope determination in some commercial beers from Romanian markets, *Journal of Chemistry*, 2015 (2015).
- [125] N. Mahmood, N. Petraco, Y. He, Elemental fingerprint profile of beer samples constructed using 14 elements determined by inductively coupled plasma–mass spectrometry (ICP-MS): multivariation analysis and potential application to forensic sample comparison, *Analytical bioanalytical chemistry*, 402 (2012) 861-869.
- [126] G. Donadini, S. Spalla, G. Beone, Arsenic, cadmium and lead in beers from the Italian market, *Journal of the Institute of Brewing*, 114 (2008) 283-288.
- [127] S. Rodrigo, S.D. Young, M. Talaverano, M.R. Broadley, Technology, The influence of style and origin on mineral composition of beers retailing in the UK, *J European Food Research Technology*, 243 (2017) 931-939.
- [128] D.W.G. A. Montaser, *Inductively Coupled Plasmas in Analytical Atomic Spectrometry*, 2 ed.1992.
- [129] D.A. Gonçalves, Desenvolvimento de métodos analíticos empregando à espectrometria de emissão óptica para avaliação dos níveis de contaminantes elementares em amostras de diversas origens. 2015. Tese (Doutorado em Química) - Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Ilha Solteira, (2015).
- [130] H. Filik, D. Giray, Cloud point extraction for speciation of iron in beer samples by spectrophotometry, *Food Chemistry*, 130 (2012) 209-213.
- [131] S. Rodrigo, O. Santamaria, Y. Chen, S.P. McGrath, M.J. Poblaciones, Selenium speciation in malt, wort, and beer made from selenium-biofortified two-rowed barley grain, *Journal of agricultural and food chemistry* 62 (2014) 5948-5953.
- [132] S.O. Souza, D.V.L. Ávila, V. Cerdà, R.G.O. Araujo, Selenium inorganic speciation in beers using MSFIA-HG-AFS system after multivariate optimization, *Food Chemistry*, 367 (2022) 130673.
- [133] T. Bertuzzi, A. Mulazzi, S. Rastelli, G. Donadini, F. Rossi, G. Spigno, Targeted healthy compounds in small and large-scale brewed beers, *Food Chemistry*, 310 (2020).
- [134] L. Khalafi, P. Doolittle, J. Wright, Speciation and Determination of Low Concentration of Iron in Beer Samples by Cloud Point Extraction, *Journal of Chemical Education*, 95 (2018) 463-467.

- [135] H. Robberecht, R. Van Cauwenbergh, V. Van Vlaslaer, N. Hermans, Dietary silicon intake in Belgium: Sources, availability from foods, and human serum levels, *Science of the Total Environment*, 407 (2009) 4777-4782.
- [136] J.H. Lee, K.H. Choi, S.R. Park, S.A. Shin, S.A. Kang, K.H. Jang, Silicon content in Beers From Korean Market and Estimation of its Alimentary Uptake, *Czech Journal of Food Sciences*, 31 (2013) 382-389.
- [137] M. Resano, L. Rello, M. Flórez, M. Belarra, On the possibilities of high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry for the simultaneous or sequential monitoring of multiple atomic lines, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 66 (2011) 321-328.
- [138] J. Bruce, Analysis of anions in beer using ion chromatography, *Journal of Automated Methods & Management in Chemistry*, 24 (2002) 127-130.
- [139] D. Kozaki, S. Tanihata, A. Yamamoto, N. Nakatani, M. Mori, K.J.F.c. Tanaka, Single injection ion-exclusion/cation-exchange chromatography for simultaneous determination of organic/inorganic anions, inorganic cations, and ethanol in beer samples, 274 (2019) 679-685.
- [140] T. Soga, M. Wakaura, Determination of inorganic and organic anions in beer and wort by capillary electrophoresis, *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 55 (1997) 44-46.
- [141] C.W. Klampfl, Analysis of organic acids and inorganic anions in different types of beer using capillary zone electrophoresis, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47 (1999) 987-990.
- [142] G.A. Howard, P. Gjertsen, Determination of chloride in beer, wort and water, *Journal of the Institute of Brewing*, 83 (1977) 161-162.
- [143] M. Preen, J. Woodward, Potentiometric titration of chloride in beer and wort using an ion-selective electrode *Journal of the Institute of Brewing*, 81 (1975) 307-308.
- [144] J. Skowronski, D. Wedl, Automated determination of chloride concentration in wort and beer, *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 40 (1982) 75-77.
- [145] B. Welz, F.G. Lepri, R.G. Araujo, S.L. Ferreira, M.-D. Huang, M. Okruss, H. Becker-Ross, Determination of phosphorus, sulfur and the halogens using high-temperature molecular absorption spectrometry in flames and furnaces - a review, *Analytica Chimica Acta*, 647 (2009) 137-148.
- [146] H. Tinas, S. Akman, Method development for the determination of chlorine by high-resolution graphite furnace molecular absorption spectrometry via GaCl, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 148 (2018) 60-64.

- [147] R.L.S. Medeiros, S.O. Souza, R.G.O. Araújo, D.R. da Silva, T.A. Maranhão, Chlorine determination via MgCl molecule in environmental samples using high resolution continuum source graphite furnace molecular absorption spectrometry, *Talanta*, 176 (2018) 227-233.
- [148] M. Fechetia, A.L. Tognon, M.A. da Veiga, Determination of chlorine in food samples via the AlCl molecule using high-resolution continuum source molecular absorption spectrometry in a graphite furnace, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 71 (2012) 98-101.
- [149] U. Heitmann, H. Becker-Ross, S. Florek, M.D. Huang, M. Okruss, Determination of non-metals via molecular absorption using high-resolution continuum source absorption spectrometry and graphite furnace atomization, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 21 (2006) 1314-1320.
- [150] N. Ozbek, S. Akman, f. chemistry, Determination of chlorine in milk via molecular absorption of SrCl using high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry, *Journal of Agricultural*, 64 (2016) 5767-5772.
- [151] É.R. Pereira, J. Merib, H.R. Cadorim, M. Schneider, G.S. Carvalho, F.A. Duarte, B. Welz, J. del Campo Menoyo, J. Feldmann, Development of a fast screening method for the direct determination of chlorinated persistent organic pollutants in fish oil by high-resolution continuum source graphite furnace molecular absorption spectrometry, *Food Control*, 78 (2017) 456-462.
- [152] M.A. Bechlin, E.C. Ferreira, J.A.G. Neto, Determination of chlorine in cement via CaCl molecule by high-resolution continuum source graphite furnace molecular absorption spectrometry with direct solid sample analysis, *Microchemical Journal*, 132 (2017) 130-135.
- [153] A. Guarda, M. Aramendía, I. Andrés, E. García-Ruiz, P.C. do Nascimento, M. Resano, Determination of chlorine via the CaCl molecule by high-resolution continuum source graphite furnace molecular absorption spectrometry and direct solid sample analysis, *Talanta*, 162 (2017) 354-361.
- [154] M.S. Enders, A.O. Gomes, R.F. Oliveira, R.C. Guimaraes, M.F. Mesko, E.M. Flores, E.I. Müller, Fuels, Determination of chlorine in crude oil by high-resolution continuum source graphite furnace molecular absorption spectrometry using AlCl, InCl, and SrCl molecules, *Energy*, 30 (2016) 3637-3643.
- [155] W. Boschetti, A.R. Borges, A.T. Duarte, M.B. Dessuy, M.G.R. Vale, J.B. de Andrade, B. Welz, Simultaneous determination of Mo and Ni in wine and soil amendments by HR-CS GF AAS, *Analytical Methods*, 6 (2014) 4247-4256.
- [156] N. Ozbek, Simultaneous determination of Co, Fe, Ni and K with HR CS GFAAS, *Microchemical Journal*, 145 (2019) 1066-1069.
- [157] F.R. Adolfo, P.C. do Nascimento, L. Brudi, D. Bohrer, L.M. de Carvalho, Simultaneous determination of Ba, Co, Fe, and Ni in nuts by high-resolution continuum source atomic

absorption spectrometry after extraction induced by solid-oil-water emulsion breaking, *Food Chemistry*, 345 (2021) 128766.

[158] A.L. Vieira, E.C. Ferreira, S.R. Oliveira, F. Barbosa, J.A.G. Neto, Simultaneous determination of Fe and Zn in dried blood spot by HR-CS GF AAS using solid sampling, *Microchemical Journal*, 160 (2021) 105637.

[159] D.J. Leao, M.M. Junior, G.C. Brandao, S.L. Ferreira, Simultaneous determination of cadmium, iron and tin in canned foods using high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry, *Talanta*, 153 (2016) 45-50.

[160] M. Resano, E. Bolea-Fernández, E. Mozas, M.R. Flórez, P. Grinberg, R.E. Sturgeon, Simultaneous determination of Co, Fe, Ni and Pb in carbon nanotubes by means of solid sampling high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 28 (2013) 657-665.

[161] O. Zvěřina, J. Kuta, P. Coufalík, P. Kosečková, J. Komárek, Simultaneous determination of cadmium and iron in different kinds of cereal flakes using high-resolution continuum source atomic absorption spectrometry, *Food Chemistry*, 298 (2019) 125084.

[162] D.P. Quadros, E.S. Chaves, F.G. Lepri, D.L. Borges, B. Welz, H. Becker-Ross, A.J. Curtius, Evaluation of Brazilian and Venezuelan crude oil samples by means of the simultaneous determination of Ni and V as their total and non-volatile fractions using high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry, *Energy*, 24 (2010) 5907-5911.

[163] L. Rello, A. Lapeña, M. Aramendía, M. Belarra, M. Resano, A dried urine spot test to simultaneously monitor Mo and Ti levels using solid sampling high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 81 (2013) 11-19.

[164] N. Ozbek, M. Ozcan, Simultaneous determination of Co, Al and Fe by HR CS-GFAAS, *Talanta*, 148 (2016) 17-21.

[165] F.R. Adolfo, P.C. do Nascimento, D. Bohrer, C. Viana, L.M. de Carvalho, M.C.C. Cravo, L. Nascimento, Extraction induced by emulsion breaking for simultaneous determination of Co, Fe and Ni in petroleum asphalt cement by high-resolution continuum source atomic absorption spectrometry, *Fuel*, 277 (2020) 118098.

[166] A.C. Aleluia, F.A. de Santana, G.C. Brandao, S.L. Ferreira, Sequential determination of cadmium and lead in organic pharmaceutical formulations using high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry, *Microchemical Journal*, 130 (2017) 157-161.

[167] A.T. Duarte, M.B. Dessuy, M.G.R. Vale, B. Welz, J.B. de Andrade, Sequential determination of Cd and Cr in biomass samples and their ashes using high-resolution continuum

source graphite furnace atomic absorption spectrometry and direct solid sample analysis, *Talanta*, 115 (2013) 55-60.

[168] A.R. Borges, D.N. Bazanella, Á.T. Duarte, A.V. Zmozinski, M.G.R. Vale, B. Welz, Development of a method for the sequential determination of cadmium and chromium from the same sample aliquot of yerba mate using high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry, *Microchemical Journal*, 130 (2017) 116-121.

[169] B. Gómez-Nieto, V. Motyzhov, M.J. Gismera, J.R. Procopio, M.T. Sevilla, Fast-sequential determination of cadmium and copper in milk powder and infant formula by direct solid sampling high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry, *Microchemical Journal*, 159 (2020) 105335.

[170] R.A. Cruz, A.V.B. Chagas, C.S.A. Felix, R.C. Souza, L.A. Silva, V.A. Lemos, S.L.C. Ferreira, A closed inline system for sample digestion using 70% hydrogen peroxide and UV radiation. Determination of lead in wine employing ETAAS, *Talanta*, 191 (2019) 479-484.

[171] C.S.A. Felix, D.L.F. da Silva, A.V.B. Chagas, M.B. de Melo, R.A. Cruz, J.M. David, S.L.C. Ferreira, A green on-line digestion system using 70% hydrogen peroxide and UV radiation for the determination of chromium in beer employing ETAAS, *Microchemical Journal*, 146 (2019) 1204-1208.

[172] M.D. Huang, H. Becker-Ross, S. Florek, U. Heitmann, M. Okruss, Determination of halogens via molecules in the air-acetylene flame using high-resolution continuum source absorption spectrometry, Part II: Chlorine, *Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy*, 61 (2006) 959-964.

[173] D.R. Lide, *CRC Handbook of Chemistry and Physics*, 100 ed.2019.

[174] K. Dittrich, B. Vorberg, J. Funk, V. Beyer, Determination of some nonmetals by using diatomic molecular absorbance in a hot graphite-furnace, *Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy*, 39 (1984) 349-363.

[175] L. Machynak, F. Cacho, M. Nemecek, E. Beinrohr, Determination of trace concentrations of chlorine in aqueous solutions by high-resolution continuum source graphite furnace molecular absorption spectrometry, *Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy*, 125 (2016) 140-145.

[176] H. Haraguchi, K. Fuwa, Atomic and molecular absorption-spectra of indium in air-acetylene flame, *Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy*, 30 (1975) 535-545.

[177] A.S. dos Passos, M.B. Dessuy, F.V. Nakadi, J.B. de Andrade, M.G.R. Vale, Investigation of different chemical modifiers based on the Pd/Mg mixture for the determination of sulfur in shale oil by high resolution continuum source graphite furnace molecular absorption spectrometry, *Talanta*, 204 (2019) 206-212.

- [178] Z. Kowalewska, J. Pilarczyk, L. Gosciniak, Spectral aspects of the determination of Si in organic and aqueous solutions using high-resolution continuum source or line source flame atomic absorption spectrometry, *Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy*, 120 (2016) 45-56.
- [179] M. Resano, M. Aramendia, A.B. Volynsky, M.A. Belarra, Solid sampling-graphite furnace atomic absorption spectrometry for the direct determination of trace amounts of silicon in polyamide. Comparison of the performance of platinum and palladium as chemical modifiers, *Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy*, 59 (2004) 523-531.
- [180] W. Boschetti, L.M.G. Dalagnol, M. Dullius, A.V. Zmozinski, E.M. Becker, M.G.R. Vale, J.B. de Andrade, Determination of silicon in plant materials using direct solid sample analysis with high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry, *Microchemical Journal*, 124 (2016) 380-385.
- [181] L.O. dos Santos, G.C. Brandao, A.M.P. dos Santos, S.L.C. Ferreira, V.A. Lemos, Direct and Simultaneous Determination of Copper and Iron in Flours by Solid Sample Analysis and High-Resolution Continuum Source Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry, *Food Analytical Methods*, 10 (2017) 469-476.
- [182] B. Gomez-Nieto, M.J. Gismera, M.T. Sevilla, J.R. Procopio, Simultaneous and direct determination of iron and nickel in biological solid samples by high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry, *Talanta*, 116 (2013) 860-865.
- [183] D. Kozaki, S. Tanihata, A. Yamamoto, N. Nakatani, M. Mori, K. Tanaka, Single injection ion-exclusion/cation-exchange chromatography for simultaneous determination of organic/inorganic anions, inorganic cations, and ethanol in beer samples, *Food Chemistry*, 274 (2019) 679-685.
- [184] K. Mojsiewicz-Pienkowska, J. Lukasiak, Analytical fractionation of silicon compounds in foodstuffs, *Food Control*, 14 (2003) 153-162.
- [185] R. Cejnar, O. Mestek, P. Dostalek, Determination of Silicon in Czech Beer and its Balance During the Brewing Process, *Czech Journal of Food Sciences*, 31 (2013) 166-171.
- [186] J.P. Bellia, J.D. Birchall, N.B. Roberts, Beer - A dietary source of silicon, *Lancet*, 343 (1994) 235-235.
- [187] R. Serrano, G. Grindlay, P. Niedzielski, L. Gras, J. Mora, Evaluation of MIP-OES as a detector in DLLME procedures: application to Cd determination in water samples, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 35 (2020) 1351-1359.
- [188] C.B. Williams, T.G. Wittmann, T. McSweeney, P. Elliott, B.T. Jones, G.L. Donati, Dry ashing and microwave-induced plasma optical emission spectrometry as a fast and cost-effective strategy for trace element analysis, *Microchemical Journal*, 132 (2017) 15-19.

- [189] D.A. Goncalves, T. McSweeney, M.C. dos Santos, M.A. Utrera Martines, L.F. Malmonge, G.L. Donati, Trace element analysis of fusel oil by microwave-induced plasma optical emission spectrometry, *Current Analytical Chemistry*, 13 (2017) 474-479.
- [190] N. Ozbek, M. Koca, S. Akman, A practical method for the determination of Al, B, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Pb, and Zn in different types of vinegars by microwave induced plasma optical emission spectrometry, *Food Analytical Methods*, 9 (2016) 2246-2250.
- [191] A.M.T. Pinto, A.C.S. Boeira, M.T. Lisboa, A.L. Medina, A.S. Ribeiro, M.A. Vieira, Development of an analytical method for the determination of metals in chicken breast by Microwave Induced Plasma Optical Emission Spectrometry (MIP-OES), *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 30 (2019) 2395-2403.
- [192] M.S. Lemos, A.S. Cruz, K.G.F. Dantas, Microwave-Assisted Digestion Procedures Using Diluted Oxidant Mixture for Elemental Analysis of Crustaceans by MIP OES, *Biological Trace Element Research*, 191 (2019) 224-230.
- [193] L.B. Oliveira, J.C. de Melo, E.S.D. Morte, R.M. de Jesus, L.S.G. Teixeira, M.G.A. Korn, Multi-element determination in chocolate bars by microwave-induced plasma optical emission spectrometry, *Food Chemistry*, 351 (2021).
- [194] A.G. Althoff, C.B. Williams, T. McSweeney, D.A. Gonçalves, G.L. Donati, Microwave-induced plasma optical emission spectrometry (MIP OES) and standard dilution analysis to determine trace elements in pharmaceutical samples, *Applied Spectroscopy*, 71 (2017) 2692-2698.
- [195] P. Niedzielski, L. Kozak, M. Wachelka, K. Jakubowski, J. Wybieralska, The microwave induced plasma with optical emission spectrometry (MIP-OES) in 23 elements determination in geological samples, *Talanta*, 132 (2015) 591-599.
- [196] R. Serrano, G. Grindlay, L. Gras, J. Mora, Evaluation of calcium, carbon and sulfur based non spectral interferences in high power MIP-OES: comparison with ICP-OES, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 34 (2019) 1611-1617.
- [197] D.A. Goncalves, T. McSweeney, G.L. Donati, Characteristics of a resonant iris microwave-induced nitrogen plasma, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 31 (2016) 1097-1104.
- [198] A. Müller, D. Pozebon, V.L. Dressler, Advances of nitrogen microwave plasma for optical emission spectrometry and applications in elemental analysis: a review, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 35 (2020) 2113-2131.
- [199] Z. Zhang, K. Wagatsuma, Matrix effects of easily ionizable elements and nitric acid in high-power microwave-induced nitrogen plasma atomic emission spectrometry, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 57 (2002) 1247-1257.

- [200] E. Baranyai, C.N. Tóth, I. Fábrián, Elemental Analysis of Human Blood Serum by Microwave Plasma-Investigation of the Matrix Effects Caused by Sodium Using Model Solutions, *Biological Trace Element Research*, 194 (2020) 13-23.
- [201] A.B.S. Silva, J.M. Higuera, A.R.A. Nogueira, Internal standardization and plasma molecular species: signal correction approaches for determination of phosphorus from phospholipids in meat by MIP OES, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 34 (2019) 782-787.
- [202] A.F. Carneiro, C.N. Carneiro, L. de N Pires, L.S. Teixeira, S.M. Azcarate, F. de S Dias, D-optimal mixture design for the optimization of extraction induced by emulsion breaking for multielemental determination in edible vegetable oils by microwave-induced plasma optical emission spectrometry, *Talanta*, 219 (2020) 121218.
- [203] A. Hewavitharana, Internal standard-friend or foe?, *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 39 (2009) 272-275.
- [204] G.L. Scheffler, D. Pozebon, Internal standardization in axially viewed inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES) combined with pneumatic nebulization and aerosol desolvation, *Analytical Methods*, 5 (2013) 4371-4377.
- [205] A.I. Barros, F.C. Pinheiro, J.A. Nobrega, Space charge effects and internal standardization in a four ion lenses interface: What is changing in quadrupole inductively coupled plasma mass spectrometry?, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 167 (2020) 105825.
- [206] H. Kola, P. Perämäki, The study of the selection of emission lines and plasma operating conditions for efficient internal standardization in inductively coupled plasma optical emission spectrometry, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 59 (2004) 231-242.
- [207] K.G. Fernandes, M.d. Moraes, J.A. Gomes Neto, J.A. Nóbrega, P.V. Oliveira, Padronização interna em espectrometria de absorção atômica, *Química Nova*, 26 (2003) 249-252.
- [208] G. Zachariadis, C. Vogiatzis, An overview of the use of yttrium for internal standardization in inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry, *Applied Spectroscopy Reviews*, 45 (2010) 220-239.
- [209] M.A. Bechlin, F.M. Fortunato, E.C. Ferreira, J.A.G. Neto, J.A. Nóbrega, G.L. Donati, B.T. Jones, Bismuth as a general internal standard for lead in atomic absorption spectrometry, *Analytica chimica acta*, 831 (2014) 24-30.
- [210] J.L. Raposo Jr, A.P. de Oliveira, B.T. Jones, J.A.G. Neto, Internal standardization combined with dilute-and-shoot preparation of distilled alcoholic beverages for Cu determination by high-resolution continuum source flame atomic absorption spectrometry, *Talanta*, 92 (2012) 53-57.

- [211] N.M. Caldas, S.R. Oliveira, J.A.G. Neto, Feasibility of internal standardization in the direct and simultaneous determination of As, Cu and Pb in sugar-cane spirits by graphite furnace atomic absorption spectrometry, *Analytica chimica acta*, 636 (2009) 1-5.
- [212] K. Barkonikos, I.N. Pasiás, N.S. Thomaidis, Evaluation of internal standardization for the determination of semivolatile analytes in difficult matrices by simultaneous multielement atomic absorption spectrometry, *Talanta*, 129 (2014) 165-170.
- [213] J. Mutic, D. Manojlovic, R. Kovacevic, J. Trifunovic, N.R. Amaizah, L. Ignjatovic, Feasibility of the internal standardization in direct determination of arsenic in wine samples by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry, *Microchemical Journal*, 98 (2011) 11-14.
- [214] D.A. Garzón, D.A. Ahumada, J.P.A. Gamba, J. Ágrede, E. Castillo, Quantification of Arsenic, Cadmium, Mercury and Lead in Pineapple: Method Development, Validation and Evaluation of In-House Reference Materials, *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 31 (2020) 1296-1305.
- [215] I.B. Brenner, A. Le Marchand, C. Daraed, L. Chauvet, Compensation of Ca and Na interference effects in axially and radially viewed inductively coupled plasmas, *Microchemical Journal*, 63 (1999) 344-355.
- [216] L.C. Trevizan, J.A. Nobrega, Inductively coupled plasma optical emission Spectrometry with axially viewed configuration: an overview of applications, *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 18 (2007) 678-690.
- [217] S.L.C. Ferreira, A.S. Souza, G.C. Brandao, H.S. Ferreira, W.N.L. dos Santos, M.F. Pimentel, M.G.R. Vale, Direct determination of iron and manganese in wine using the reference element technique and fast sequential multi-element flame atomic absorption spectrometry, *Talanta*, 74 (2008) 699-702.
- [218] J.A. Carter, A.I. Barros, J.A. Nobrega, G.L. Donati, Traditional Calibration Methods in Atomic Spectrometry and New Calibration Strategies for Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry, *Frontiers in Chemistry*, 6 (2018).
- [219] T.T. Chiweshe, W. Purcell, J.A. Venter, Evaluation of different internal standards for precious metals quantification, *Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia*, 30 (2016) 55-70.
- [220] M. Thompson, S.L.R. Ellison, R. Wood, Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis - (IUPAC technical report), *Pure and Applied Chemistry*, 74 (2002) 835-855.
- [221] L.C. de Azevedo, M.M. Reis, G.E. Pereira, G.O. da Rocha, L.A. Silva, J.B. de Andrade, A liquid chromatographic method optimization for the assessment of low and high molar mass carbonyl compounds in wines, *Journal of Separation Science*, 32 (2009) 3432-3440.

- [222] L. Cuadros-Rodríguez, L. Gámiz-Gracia, E.M. Almansa-López, J.M. Bosque-Sendra, Calibration in chemical measurement processes. II. A methodological approach, *Trends in Analytical Chemistry*, 20 (2001) 620-636.
- [223] P.R. Correia, P.V. Oliveira, J.A. Neto, J.A. Nóbrega, Silver as internal standard for simultaneous determination of Cd and Pb in whole blood by electrothermal atomic absorption spectrometry, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 19 (2004) 917-922.
- [224] Z. Benzo, M. Matos-Reyes, M. Cervera, M.d.l. Guardia, Simultaneous determination of hydride and non-hydride forming elements by inductively coupled plasma optical emission spectrometry, *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 22 (2011) 1782-1787.
- [225] R.F. Salazar, M.B. Guerra, E.R. Pereira-Filho, J.A. Nóbrega, Performance evaluation of collision–reaction interface and internal standardization in quadrupole ICP-MS measurements, *Talanta*, 86 (2011) 241-247.
- [226] S. Chen, Z. Zhang, H. Yu, W. Liu, M. Sun, Determination of trace lead by hydride generation–inductively coupled plasma–mass spectrometry, *Analytica Chimica Acta*, 463 (2002) 177-188.
- [227] A.I. Barros, F.C. Pinheiro, J.A. Nóbrega, Aerosol dilution as a simple strategy for analysis of complex samples by ICP-MS, *Talanta*, 178 (2018) 805-810.
- [228] M.A. Bechlin, E.C. Ferreira, J.A. Gomes, J.C. Ramos, D.L. Borges, Contributions on the use of bismuth as internal standard for lead determinations using ICP-based techniques, *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 26 (2015) 1879-1886.
- [229] H.J. Finley-Jones, J.L. Molloy, J.A. Holcombe, Choosing internal standards based on a multivariate analysis approach with ICP (TOF) MS, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 23 (2008) 1214-1222.
- [230] P. Niedzielski, L. Kozak, K. Jakubowski, W. Wachowiak, J. Wybieralska, Microwave induced plasma optical emission spectrometry in agricultural analysis, *Plant. Soil and Environment*, 62 (2016) 215-221.
- [231] J.-M. Mermet, J.C. Ivaldi, Real-time internal standardization for inductively coupled plasma atomic emission spectrometry using a custom segmented-array charge coupled device detector, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 8 (1993) 795-801.
- [232] A. Biancolillo, R. Bucci, A.L. Magrì, A.D. Magrì, F. Marini, Data-fusion for multiplatform characterization of an Italian craft beer aimed at its authentication, *Analytica Chimica Acta*, 820 (2014) 23-31.
- [233] C.C. Nascentes, M.Y. Kamogawa, K.G. Fernandes, M.A. Arruda, A.R.A. Nogueira, J.A. Nóbrega, Direct determination of Cu, Mn, Pb, and Zn in beer by thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry, *Spectrochimica Acta Part B-Atomic Spectroscopy*, 60 (2005) 749-753.

APÊNDICES

Tabela 3.11 Parâmetros analíticos para a determinação multielementar em amostras de cervejas por MIP OES com diferentes candidatos a PI. (continua)

Analito	Padrão interno	LD, $\mu\text{g L}^{-1}$	LQ, $\mu\text{g L}^{-1}$	Equação de calibração ($n=5$)	R ²
Al	Sem PI	6,00	19,7	$I_c = 47144x - 3524$	0,9989
	Be (313,107 nm)	4,60	15,4	$I_c = 48737x - 7451$	0,9996
	Be (234,861 nm)	4,30	15,0	$I_c = 46015x - 2734$	0,9994
	Be (265,062 nm)	4,50	15,8	$I_c = 52369x - 3616$	0,9905
	Ga (417,204 nm)	5,00	16,0	$I_c = 40868x - 1838$	0,9996
	Ga (294,364 nm)	4,70	15,5	$I_c = 59253x - 14745$	0,9864
	In (230,606 nm)	5,70	20,4	$I_c = 41304x - 2022$	0,9992
	In (325,608 nm)	5,80	19,5	$I_c = 43207x - 2239$	0,9994
Ba	Sem PI	4,60	1,50	$I_c = 354129x + 574$	0,9999
	Be (313,107 nm)	6,60	2,22	$I_c = 366242x - 30274$	0,9989
	Be (234,861 nm)	5,02	1,63	$I_c = 345667x + 6237,04$	0,9996
	Be (265,062 nm)	6,50	2,01	$I_c = 366242x - 30274$	0,9986
	Ga (417,204 nm)	6,80	2,25	$I_c = 306975x + 10649$	0,9995
	Ga (294,364 nm)	4,80	1,60	$I_c = 445339x - 83046$	0,9928
	In (230,606 nm)	4,20	1,40	$I_c = 342227x - 5734$	0,9998
	In (325,608 nm)	7,95	2,75	$I_c = 324535x + 8823,1$	0,9997
Co	Sem PI	1,12	4,00	$I_c = 12185x - 12$	0,9998
	Be (313,107 nm)	2,84	9,47	$I_c = 8966,1x - 1160,5$	0,9966
	Be (234,861 nm)	2,52	8,42	$I_c = 8463,9x - 278,13$	0,9998
	Be (265,062 nm)	1,30	4,45	$I_c = 8111x - 479$	0,9992
	Ga (417,204 nm)	10,8	35,0	$I_c = 751,7x - 131,99$	0,9998
	Ga (294,364 nm)	0,91	3,50	$I_c = 10902x - 2487,8$	0,9880
	In (230,606 nm)	1,20	4,00	$I_c = 8379x - 554$	0,9991
	In (325,608 nm)	2,46	8,13	$I_c = 7947,1x - 197,23$	0,9998
Cr	Sem PI	0,25	0,85	$I_c = 44675x - 2577$	0,9993
	Be (313,107 nm)	0,56	1,87	$I_c = 46188x - 6328,9$	0,9963
	Be (265,062 nm)	0,25	0,84	$I_c = 41790x - 2842$	0,9990
	Ga (417,204 nm)	0,10	0,36	$I_c = 38730x - 1047,3$	0,9999

Tabela 3.11 Parâmetros analíticos para a determinação multielementar em amostras de cervejas por MIP OES com diferentes candidatos a PI. (continua)

Analito	Padrão interno	LD, $\mu\text{g L}^{-1}$	LQ, $\mu\text{g L}^{-1}$	Equação de calibração ($n=5$)	R ²
Cr	Ga (294,364 nm)	0,45	1,50	$I_c = 56115x - 13189$	0,9876
	In (230,606 nm)	0,35	1,18	$I_c = 4170x - 3211,4$	0,9989
	In (325,608 nm)	0,32	1,03	$I_c = 40945x - 1372,9$	0,9997
Cu	Sem PI	0,79	2,70	$I_c = 108423x - 1377$	0,9999
	Be (313,107 nm)	0,72	2,40	$I_c = 112165x - 10217$	0,9981
	Be (234,861 nm)	0,66	2,22	$I_c = 105823x + 369,57$	0,9999
	Be (265,062 nm)	0,72	2,34	$I_c = 112165x - 10217$	0,9981
	Ga (417,204 nm)	0,78	2,60	$I_c = 91377x + 12726$	0,9950
	Ga (294,364 nm)	0,87	2,97	$I_c = 136443x - 83046$	0,9928
	In (230,606 nm)	0,80	2,62	$I_c = 104787x - 3238$	0,9998
	In (325,608 nm)	0,95	3,15	$I_c = 99351x + 1890,2$	0,9999
Fe	Sem PI	4,30	14,30	$I_c = 8875x - 175$	0,9997
	Be (313,107 nm)	3,35	11,10	$I_c = 9239x - 983,56$	0,9913
	Be (234,861 nm)	3,03	10,10	$I_c = 8670x - 64$	0,9998
	Be (265,062 nm)	3,80	12,70	$I_c = 8376x - 361,23$	0,9993
	Ga (417,204 nm)	3,60	12,00	$I_c = 7697x + 62,12$	0,9999
	Ga (294,364 nm)	3,40	11,50	$I_c = 11104x - 2001$	0,9933
	In (230,606 nm)	4,10	14,50	$I_c = 8030,4x + 32,10$	0,9980
	In (325,608 nm)	4,30	14,30	$I_c = 8180,4x + 33,13$	0,9998
Mn	Sem PI	0,34	1,14	$I_c = 47064x - 1155,6$	0,9999
	Be (313,107 nm)	0,34	1,13	$I_c = 46808x + 2168,3$	0,9883
	Be (234,861 nm)	0,23	0,78	$I_c = 45937x - 389$	0,9998
	Be (265,062 nm)	0,30	0,98	$I_c = 44026x - 1501,9$	0,9998
	Ga (417,204 nm)	0,30	1,00	$I_c = 39680x + 4747,3$	0,9951
	Ga (294,364 nm)	0,27	0,89	$I_c = 59189x - 12339$	0,9902
	In (230,606 nm)	0,37	1,24	$I_c = 39680x + 4747,3$	0,9880
	In (325,608 nm)	0,34	1,15	$I_c = 43151x + 46,856$	0,9999

Tabela 3.11 Parâmetros analíticos para a determinação multielementar em amostras de cervejas por MIP OES com diferentes candidatos a PI. (continua)

Analito	Padrão interno	LD, $\mu\text{g L}^{-1}$	LQ, $\mu\text{g L}^{-1}$	Equação de calibração ($n=5$)	R ²
Ni	Sem PI	1,15	3,50	$I_c = 16736x - 531$	0,9998
	Be (313,107 nm)	1,15	3,81	$I_c = 14310x - 1871,7$	0,9974
	Be (234,861 nm)	0,88	3,00	$I_c = 16335x - 257,99$	1
	Be (265,062 nm)	1,54	5,13	$I_c = 15656x - 559,4$	0,9996
	Ga (417,204 nm)	1,17	3,90	$I_c = 14506x - 5$	0,9998
	Ga (294,364 nm)	1,45	4,86	$I_c = 21053x - 4408$	0,9896
	In (230,606 nm)	1,36	4,53	$I_c = 16174x - 696,11$	0,9995
	In (325,608 nm)	1,34	4,48	$I_c = 15337x - 5,7005$	0,9998
Sr	Sem PI	0,54	1,81	$I_c = 469438x + 15291$	0,9997
	Be (313,107 nm)	0,46	1,50	$I_c = 485667x - 27046$	0,9995
	Be (234,861 nm)	1,08	3,62	$I_c = 44870x + 59934$	0,9965
	Be (265,062 nm)	0,65	2,18	$I_c = 439118x + 9120,4$	0,9980
	Ga (417,204 nm)	0,95	3,17	$I_c = 395960x + 69699$	0,9944
	Ga (294,364 nm)	0,96	3,20	$I_c = 590853x - 95809$	0,9943
	In (230,606 nm)	0,71	0,23	$I_c = 453662x + 5975,5$	0,9996
	In (325,608 nm)	2,72	9,07	$I_c = 430107x + 24988$	0,9991
Zn	Sem PI	6,60	22,0	$I_c = 967x + 201$	0,9906
	Be (313,107 nm)	4,20	13,5	$I_c = 912x + 242$	0,9983
	Be (234,861 nm)	3,80	12,6	$I_c = 930x + 238$	0,9992
	Be (265,062 nm)	11,71	12,78	$I_c = 901,25x + 1092,8$	0,9904
	Ga (417,204 nm)	18,60	62,20	$I_c = 814,19x + 1145,6$	0,9873
	Ga (294,364 nm)	18,70	29,20	$I_c = 1275x - 1,021$	0,9998
	In (230,606 nm)	19,43	64,78	$I_c = 942,33x + 1075$	0,9919
	In (325,608 nm)	17,84	26,10	$I_c = 891,88x + 1080,4$	0,9858
Ca	Sem PI	337	950	$I_c = 882x - 156$	0,9998
	Be (313,107 nm)	201	670	$I_c = 909,3x - 760,31$	0,9988
	Be (234,861 nm)	230	743	$I_c = 875,28x - 521,8$	0,9974
	Be (265,062 nm)	330	975	$I_c = 832 - 482$	0,9991
	Ga (417,204 nm)	300	970	$I_c = 762x + 234$	0,9996
	Ga (294,364 nm)	310	965	$I_c = 763x + 230$	0,9993

Tabela 3.11 Parâmetros analíticos para a determinação multielementar em amostras de cervejas por MIP OES com diferentes candidatos a PI. (conclusão).

Analito	Padrão interno	LD, $\mu\text{g L}^{-1}$	LQ, $\mu\text{g L}^{-1}$	Equação de calibração ($n=5$)	R²
Ca	In (230,606 nm)	821	2738	$I_c = 852,75x - 267,47$	0,9999
	In (325,608 nm)	578	692	$I_c = 8134,7x - 94,1$	0,9992
Mg	Sem PI	10	33	$I_c = 4863-2021$	0,9989
	Be (313,107 nm)	19	63	$I_c = 129194x + 85243$	0,9904
	Be (234,861 nm)	53	177	$I_c = 4821,2x - 4130$	0,9978
	Be (265,062 nm)	48	16	$I_c = 4584-3750$	0,9983
	Ga (417,204 nm)	10	30	$I_c = 4211x - 292$	0,9994
	Ga (294,364 nm)	42	134	$I_c = 6079,1x - 12047$	0,9877
	In (230,606 nm)	27	92	$I_c = 100000x + 188277$	0,9865
	In (325,608 nm)	32	18	$I_c = 4085x - 123$	0,9986
Na	Sem PI	430	635	$I_c = 334,47x - 3045$	0,9985
	Be (313,107 nm)	442	626	$I_c = 334,24x - 3025$	0,9952
	Be (234,861 nm)	445	632	$I_c = 345,30x - 3085$	0,9956
	Be (265,062 nm)	450	630	$I_c = 325,42x - 3024$	0,9866
	Ga (417,204 nm)	434	626	$I_c = 325,47x - 3021$	0,9980
	Ga (294,364 nm)	420	620	$I_c = 328,72x - 3081$	0,9988
	In (230,606 nm)	448	640	$I_c = 267,62x - 3181$	0,9865
	In (325,608 nm)	436	638	$I_c = 284,23x - 3105$	0,9898
K	Sem PI	114	342	$I_c = 30371x+60021$	0,9934
	Be (313,107 nm)	115	340	$I_c = 12645x + 90147$	0,9953
	Be (234,861 nm)	110	335	$I_c = 12352x + 82293$	0,9923
	Be (265,062 nm)	114	337	$I_c = 11659x + 130533$	0,9963
	Ga (417,204 nm)	183	333	$I_c = 10438x + 132518$	0,9952
	Ga (294,364 nm)	186	335	$I_c = 38434x - 12037$	0,9992
	In (230,606 nm)	103	255	$I_c = 11910x + 11710$	0,9971
	In (325,608 nm)	100	260	$I_c = 11323x + 131253$	0,9916

Tabela 3.12 Determinação multielementar em amostras de cervejas por MIP OES com diferentes candidatos a PI.

(continua)

Analito	Amostras													
	Sem PI						Be 313.107 nm							
	B ₁	B ₂	B ₃	B ₄	B ₅	C ₁	D ₁	B ₁	B ₂	B ₃	B ₄	B ₅	C ₁	D ₁
Co	190 ± 3	142 ± 3	130 ± 4	169 ± 1	96 ± 1	114 ± 2	192 ± 4	178 ± 1	135 ± 1	123 ± 1	155 ± 1	98 ± 1	110 ± 1	180 ± 1
Al	35 ± 1	30 ± 1	<LQ	<LQ	410 ± 1	300 ± 1	49 ± 1	41 ± 2	31 ± 1	<LQ	<LQ	402 ± 1	318 ± 2	55 ± 1
Sr	156 ± 1	345 ± 1	337 ± 11	486 ± 1	456 ± 1	52 ± 1	138 ± 5	131 ± 1	328 ± 3	331 ± 3	473 ± 1	446 ± 2	52 ± 1	129 ± 1
Cr	25 ± 1	28 ± 1	28 ± 1	30 ± 1	31 ± 1	25 ± 1	30 ± 2	35 ± 1	37 ± 1	37 ± 1	39 ± 1	41 ± 1	35 ± 1	39 ± 1
Fe	52 ± 2	9 ± 1	<LQ	<LQ	63 ± 2	<LQ	49 ± 3	15 ± 1	12 ± 1	<LQ	<LQ	60 ± 1	<LQ	52 ± 1
Mn	64 ± 1	128 ± 3	128 ± 5	71 ± 1	133 ± 1	69 ± 1	110 ±	68 ± 1	123 ± 1	123 ± 1	73 ± 1	133 ± 1	72 ± 1	108 ± 2
Zn	103 ± 2	58 ± 1	99 ± 1	143 ± 1	156 ± 1	69 ± 1	92 ± 1	90 ± 1	78 ± 1	70 ± 1	115 ± 1	152 ± 1	75 ± 1	85 ± 1
Ni	585 ± 6	444 ± 10	422 ± 10	577 ± 4	318 ± 20	340 ± 0.4	545 ± 50	53 ± 1	40 ± 1	38 ± 1	51 ± 1	30 ± 1	31 ± 1	50 ± 1
Ca	25 ± 1	79 ± 2	69 ± 2	83 ± 1	119 ± 1	13 ± 1	16 ± 1	22 ± 1	72 ± 2	62 ± 2	74 ± 1	115 ± 1	10 ± 1	14 ± 1
Mg	71 ± 1	80 ± 1	76 ± 3	74 ± 1	70 ± 1	24 ± 1	80 ± 2	64 ± 1	72 ± 1	68 ± 2	66 ± 1	66 ± 1	23 ± 1	73 ± 1
Na	41 ± 1	50 ± 1	55 ± 1	70 ± 1	170 ± 1	98 ± 1	93 ± 3	48 ± 1	58 ± 1	62 ± 1	74 ± 1	171 ± 1	102 ± 1	107 ± 1
Ba	<LQ	4 ± 1	4 ± 1	<LQ	118 ± 1	154 ± 1	12 ± 1	<LQ	7 ± 1	7 ± 1	2 ± 1	111 ± 1	135 ± 1	14 ± 1
Cu	47 ± 1	67 ± 1	65 ± 4	60 ± 1	58 ± 1	15 ± 1	48 ± 1	51 ± 1	70 ± 1	67 ± 1	61 ± 1	64 ± 1	24 ± 1	53 ± 1
K	512 ± 1	521 ± 4	497 ± 11	548 ± 4	511 ± 7	250 ± 2	512. ± 14	510 ± 1	512 ± 1	504 ± 2	542 ± 1	502 ± 1	304 ± 1	520 ± 2

*Concentração em µg L⁻¹ para Al, Ba, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Sr e Zn e em mg L⁻¹ para Ca, Mg, Na e K.

Tabela 3.12 Determinação multielementar em amostras de cervejas por MIP OES com diferentes candidatos a PI.

(continuação)

Analito	Amostras													
	Be 265,062 nm							Be 234.861 nm						
	B ₁	B ₂	B ₃	B ₄	B ₅	C ₁	D ₁	B ₁	B ₂	B ₃	B ₄	B ₅	C ₁	D ₁
Co	180 ± 1	140 ± 1	131 ± 1	167 ± 1	100 ± 1	115 ± 1	204 ± 10	190 ± 1	150 ± 1	141 ± 1	175 ± 1	111 ± 1	125 ± 1	197 ± 1
Al	41 ± 1	36 ± 1	25 ± 1	<LQ	402 ± 2	29 ± 1	56 ± 1	58 ± 1	54 ± 1	43 ± 1	17 ± 1	40 ± 1	287 ± 1	71 ± 1
Sr	147 ± 1	326 ± 1	33 ± 1	33 ± 1	445 ± 1	55 ± 1	151 ± 1	160 ± 1	323 ± 1	323 ± 1	453 ± 1	430 ± 1	71 ± 1	150 ± 1
Cr	31 ± 1	35 ± 1	34 ± 1	36 ± 1	31 ± 1	32 ± 1	35 ± 1	50 ± 1	52 ± 1	52 ± 1	54 ± 1	55 ± 1	50 ± 1	53 ± 1
Fe	50 ± 1	73 ± 1	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	62 ± 1	52 ± 1	83 ± 2	<LQ	<LQ	73 ± 1	<LQ	67 ± 1
Mn	66 ± 1	126 ± 1	13 ± 1	75 ± 1	135 ± 1	73 ± 1	120 ± 1	88 ± 1	150 ± 1	161 ± 1	90 ± 1	145 ± 1	91 ± 1	134 ± 2
Zn	110 ± 1	58 ± 1	97 ± 1	136 ± 1	170 ± 1	72 ± 1	90 ± 1	108 ± 1	57 ± 1	97 ± 1	140 ± 1	165 ± 1	66 ± 1	93 ± 1
Ni	54 ± 1	32 ± 1	41 ± 1	56 ± 1	31 ± 2	33 ± 1	57 ± 1	53 ± 1	41 ± 1	40 ± 1	53 ± 1	31 ± 1	32 ± 1	51 ± 1
Ca	24 ± 1	74 ± 2	66 ± 2	79 ± 2	115 ± 1	14 ± 1	18 ± 1	25 ± 2	73 ± 1	65 ± 1	78 ± 1	112 ± 1	15 ± 1	18 ± 1
Mg	66 ± 1	76 ± 1	74 ± 1	72 ± 1	68 ± 1	24 ± 1	83 ± 1	65 ± 1	73 ± 1	71 ± 1	70 ± 1	66 ± 1	26 ± 1	75 ± 1
Na	51 ± 1	61 ± 1	67 ± 1	81 ± 1	183 ± 1	110 ± 2	122 ± 1	50 ± 1	59 ± 1	65 ± 1	77 ± 1	66 ± 1	103 ± 1	109 ± 1
Ba	<LQ	5 ± 1	6 ± 1	<LQ	114 ± 1	115 ± 1	15 ± 1	16 ± 1	24 ± 1	25 ± 1	20 ± 1	125 ± 1	153 ± 1	32 ± 1
Cu	50 ± 1	70 ± 1	70 ± 1	64 ± 1	64 ± 1	22 ± 1	57 ± 1	67 ± 1	85 ± 1	84 ± 1	79 ± 1	79 ± 1	40 ± 1	70 ± 1
K	475 ± 1	658 ± 3	617 ± 2	504 ± 2	657 ± 2	270 ± 1	640 ± 1	465 ± 1	638 ± 3	631 ± 2	503 ± 1	627 ± 1	265 ± 1	644 ± 2

*Concentração em µg L⁻¹ para Al, Ba, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Sr e Zn e em mg L⁻¹ para Ca, Mg, Na e K.

Tabela 3.12 Determinação multielementar em amostras de cervejas por MIP OES com diferentes candidatos a PI.

(continuação)

Analito	Amostras													
	Ga 417,204 nm						Ga 294,364 nm							
	B1	B2	B3	B4	B5	C1	D1	B1	B2	B3	B4	B5	C1	D1
Co	165± 1	134± 1	126± 1	152± 3	103± 1	116± 1	180± 2	177± 1	138± 1	128± 1	157± 1	105± 1	116± 1	177± 1
Al	33± 1	28± 1	16± 2	<LQ	437± 2	315± 1	49± 1	58± 1	53± 2	43± 1	21± 1	358± 1	236± 1	68± 1
Sr	161± 2	356± 1	35± 1	497± 1	490± 1	518± 1	152± 1	147± 1	295± 1	286± 1	400± 1	390± 1	64± 1	132± 1
Cr	23± 1	26± 1	25± 1	27± 1	29± 1	23± 1	31± 1	50± 1	52± 1	51± 1	53± 1	54± 2	50± 1	53± 1
Fe	12± 1	<LQ	<LQ	<LQ	58± 1	<LQ	53± 1	30± 1	28± 1	10± 1	<LQ	70± 1	10± 1	63± 1
Mn	63± 1	13± 1	131± 1	71± 1	140± 1	70± 1	116± 1	78± 1	128± 1	130± 1	83± 1	135± 1	82± 1	114± 1
Zn	115± 1	58± 1	110± 1	142± 1	154± 1	72± 1	90± 1	116± 3	60± 2	112± 1	140± 1	158± 1	66± 1	95± 1
Ni	605 ± 4	405 ± 1	433 ± 3	610 ± 4	322 ± 2	347 ± 1	538 ± 2	490± 3	376± 2	360± 1	465± 3	282± 1	290± 1	455± 1
Ca	26 ± 1	77 ± 1	70 ± 1	83 ± 1	112 ± 1	13 ± 1	18 ± 1	23± 1	67± 2	58± 1	69± 2	102± 1	13± 1	15± 1
Mg	73± 1	75± 1	79± 1	76± 1	75± 1	25± 1	75± 1	61± 1	68± 1	65± 1	62± 1	61± 1	24± 1	68± 1
Na	53± 1	60± 3	64± 2	70± 3	174± 3	94± 1	98± 1	52± 1	63± 1	63± 1	74± 1	171± 1	94± 1	97± 1
Ba	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	118± 1	155± 1	7± 1	16± 1	23± 2	23± 1	18± 1	114± 2	138± 2	29± 1
Cu	47± 1	68± 1	66± 1	60± 1	61± 1	14± 1	51± 1	63± 1	80± 2	76± 1	72± 1	73± 1	38± 1	64± 1
K	425± 1	538± 1	570± 1	553± 1	544± 1	263± 1	547± 1	418± 1	572± 1	534± 1	434± 1	563± 1	235± 1	273± 1

*Concentração em µg L⁻¹ para Al, Ba, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Sr e Zn e em mg L⁻¹ para Ca, Mg, Na e K.

Tabela 3.12 Determinação multielementar em amostras de cervejas por MIP OES com diferentes candidatos a PI.

(conclusão)

Analito	Amostras													
	In 230,606 nm						In 325,608 nm							
	B1	B2	B3	B4	B5	C1	D1	B1	B2	B3	B4	B5	C1	D1
Co	185± 1	142± 1	130± 1	164± 1	96± 1	116± 1	184± 1	190± 1	145± 1	134± 1	168± 1	102± 1	116± 1	192± 1
Al	30± 1	13± 1	14± 1	14± 1	390± 1	143± 1	20± 1	43± 1	38± 1	30± 1	30± 1	40± 1	30± 1	56± 1
Sr	153± 2	320± 1	310± 1	441± 1	424± 1	60± 1	135± 1	<LQ						
Cr	39± 1	42± 1	42± 1	44± 1	45± 1	41± 1	44± 1	34± 1	37± 1	36± 1	38± 1	40± 1	34± 1	38± 1
Fe	21± 1	18± 1	<LQ	<LQ	65± 1	<LQ	58± 1	16± 1	12± 1	<LQ	<LQ	64± 1	<LQ	56± 1
Mn	73± 1	130± 2	130± 1	80± 1	136± 2	77± 1	113± 1	70± 1	132± 2	132± 1	77± 1	138± 1	74± 1	114± 1
Zn	111± 1	55± 1	112± 1	135± 2	150± 3	70± 1	92± 1	110± 2	54± 1	110± 1	132± 2	152± 1	72± 1	93± 2
Ni	534± 2	409± 1	387± 1	532± 1	301± 1	314± 1	493± 1	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	612± 1	247± 1	13± 1
Ca	23± 1	73± 1	63± 1	76± 1	112± 1	15± 1	12± 1	24± 2	78± 2	68± 1	81± 1	121± 1	11± 1	14± 1
Mg	77± 1	76± 1	71± 1	70± 1	67± 1	23± 1	75± 1	68± 1	78± 1	74± 1	72± 1	69± 1	24± 1	77± 1
Na	50± 2	59± 3	64± 1	76± 1	170± 1	103± 1	106± 1	51± 1	62± 2	67± 1	80± 1	183± 2	109± 1	114± 1
Ba	5 ± 1	13 ± 1	14 ± 1	14 ± 1	114 ± 1	147 ± 1	27 ± 1	<LQ	8± 1	8± 1	2± 1	117± 1	147± 1	15± 1
Cu	53 ± 1	79 ± 1	80 ± 1	68 ± 1	68 ± 1	29 ± 1	65 ± 1	54± 1	74± 2	72± 1	66± 1	66± 1	24± 1	55± 1
K	512± 1	544± 1	495± 3	546± 2	515± 1	247± 1	518± 1	515 ± 1	544 ± 1	491 ± 1	548 ± 1	515 ± 1	248 ± 1	519 ± 1

*Concentração em µg L⁻¹ para Al, Ba, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Sr e Zn e em mg L⁻¹ para Ca, Mg, Na e K.