



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA**

**INSTITUTO DE QUÍMICA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**LARISSA DE SÃO BERNARDO DE CARVALHO**

**AVALIAÇÃO DE ESTRATÉGIAS PARA DETERMINAÇÃO DE CONSTITUINTES  
INORGÂNICOS EM SOPAS INSTÂNTANEAS POR TÉCNICAS  
ESPECTROMÉTRICAS DE EMISSÃO POR PLASMA**

**SALVADOR - BAHIA**

**2022**

**LARISSA DE SÃO BERNARDO DE CARVALHO**

**AVALIAÇÃO DE ESTRATÉGIAS PARA DETERMINAÇÃO DE CONSTITUINTES  
INORGÂNICOS EM SOPAS INSTÂNTANEAS POR TÉCNICAS  
ESPECTROMÉTRICAS DE EMISSÃO POR PLASMA**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal da Bahia como parte dos requisitos para a obtenção do grau de DOUTORA EM QUÍMICA.

Área de concentração: Química Analítica

Orientadora: Profa. Dra. Maria das Graças Andrade Korn

Coorientadora: Profa. Dra. Daniele Cristina Muniz Batista dos Santos

**SALVADOR - BAHIA**

**2022**

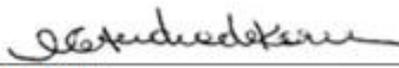


## TERMO DE APROVAÇÃO

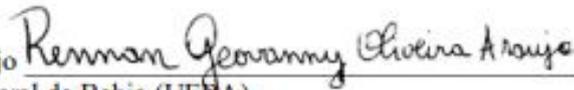
LARISSA DE SÃO BERNARDO DE CARVALHO

AVALIAÇÃO DE ESTRATÉGIAS PARA DETERMINAÇÃO DE CONSTITUINTES  
INORGÂNICOS EM SOPAS INSTANTÂNEAS POR TÉCNICAS ESPECTROMÉTRICAS  
DE EMISSÃO POR PLASM

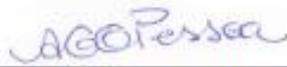
Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor(a) em Química,  
Universidade Federal da Bahia, pela seguinte banca examinadora:

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria das Graças Andrade Korn   
Doutorado em Química, Universidade de São Paulo (USP)  
Universidade Federal da Bahia

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Daniele Cristina Muniz Batista Santos   
Doutorado em Química, Universidade Federal da Bahia (UFBA)  
Universidade Federal da Bahia

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

Prof. Dr. Valfredo Azevedo Lemos   
Doutorado em Química, Universidade Federal da Bahia (UFBA)  
Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Amália Geiza Gama Pessoa   
Doutorado em Química, Universidade Federal de São Carlos (UFSCar)  
Universidade Federal da Paraíba

Prof. Dr. Cleber Galvão Novaes   
Doutorado em Química, Universidade Federal da Bahia (UFBA)  
Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia

Salvador, 10 de março de 2022.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Universitária de Ciências e  
Tecnologias Prof. Omar Catunda, SIBI - UFBA.

C331 Carvalho, Larissa de São Bernardo de

Avaliação de estratégias para a determinação de constituintes inorgânicos em sopas instantâneas por técnicas espectrométricas de emissão por plasma / Larissa de São Bernardo de Carvalho. – Salvador, 2012.

121 f.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Maria das Graças Andrade Korn  
Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Daniele Cristina Muniz Batista dos Santos

Tese (Doutorado) – Universidade Federal da Bahia.  
Instituto de Química, 2022.

1. Química Inorgânica. 2. Alimentos. 3. Análise espectral. I. Korn, Maria das Graças Andrade. II. Santos, Daniele Cristina Muniz Batista dos. III. Universidade Federal da Bahia. IV. Título.

CDU 546

*Dedico este trabalho à minha querida avó Nilza, pelo apoio, incentivo, ensinamentos, orações e esforços imensuráveis para minha formação. Meu exemplo de amor e fé. E à minha filha Melissa, amor da minha vida.*

## AGRADECIMENTOS

À Deus, que com Sua infinita bondade, me conduziu para a conclusão dessa etapa em minha vida.

À Professora Dra. Maria das Graças Andrade Korn, pela orientação e pelas oportunidades de aprendizado.

À Professora Dra. Daniele Cristina Muniz Batista dos Santos, pela coorientação, apoio e ensinamentos passados na realização deste trabalho.

Ao Prof. Joaquim de Araújo Nóbrega pela atenção e paciência durante o período de estágio que passei na UFSCAR, com o grupo GAIA.

À Prof.<sup>a</sup> Elane Santos da Boa Morte pela parceria que possibilitou a realização do trabalho com o MIP OES, instalado no IFBaiano de Catu.

Aos membros da banca examinadora por aceitarem com prontidão ao convite para a composição da avaliação deste trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal da Bahia e ao CNPq pela oportunidade de realização deste trabalho.

À todos os colegas de laboratório do GPQA. Em especial, à Isa, Milena, Thaís e Wellington, pelas contribuições na execução do trabalho e pelas risadas e momentos de descontração.

Aos colegas do grupo GAIA que tive o prazer de conviver durante o período que estive na UFSCAR. A troca de conhecimento foi importante para meu desenvolvimento profissional, em especial à querida Carol que se tornou uma amiga.

À minha família, pelo incansável apoio e compreensão, especialmente a minha vó Nilza e a minha mãe, Siomara. À Danilo Leão, pelo companheirismo em mais essa etapa e ao meu amor, Melissa.

## RESUMO

Este trabalho de Tese de Doutorado descreve a avaliação de estratégias para a determinação química inorgânica por espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas (MIP OES) e espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) em sopas instantâneas. No primeiro estudo, avaliou-se análise por MIP OES empregando um plasma de N<sub>2</sub> para a determinação de Cu, K, Mg, Mn, P e Zn em sopas, após decomposição ácida assistida por radiação micro-ondas. O procedimento de preparo de amostra consistiu na utilização de solução de ácido nítrico diluída, 2 mol L<sup>-1</sup>, e 1 mL de peróxido de hidrogênio. Todas as determinações foram efetuadas utilizando-se da calibração externa. A exatidão do método foi avaliada através da análise de três materiais de referência certificados: folhas de maçã (NIST 1515), farinha de arroz (NIST 1568b) e farinha de soja ( NIST 3234 ). Os percentuais de concordâncias variaram numa faixa de 83,3 a 107,5 % para os analitos. Ensaio de adição e recuperação também foram realizados e os percentuais de recuperações obtidos variaram de 86,0 a 106,0 %. Os limites de detecção obtidos para Cu, K, Mg, Mn, P e Zn foram de 0,09; 4,9; 1,0; 0,04; 5,4 e 0,9 mg kg<sup>-1</sup>, respectivamente. As faixas de concentração obtidas para Cu, K, Mg, Mn, P e Zn em 19 amostras de sopas instantâneas foram de: 1,31-13,8, 1135-17824, 172-567, 1,72-12,1, 608-1826 e 2,90-12,1 mg kg<sup>-1</sup>, respectivamente. O emprego do plasma de N<sub>2</sub> induzido por micro-ondas mostrou ser uma alternativa de baixo custo para análises químicas de rotina. Em outro estudo, avaliou-se o desenvolvimento e aplicabilidade de um procedimento de extração para a determinação de Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, P, Sr e Zn em sopas instantâneas por ICP OES. Inicialmente, utilizou-se a solução extratora de ácido clorídrico 8 % (v v<sup>-1</sup>) para os estudos. Os seguintes parâmetros foram avaliados: (1) proporção massa de amostra e volume de solução extratora e (2) utilização de aquecimento em banho maria. Os resultados foram avaliados com base nas eficiências de extração, em %, e não foram satisfatórios, com valores abaixo de 80 % e/ou acima de 120 %. A avaliação de possíveis efeitos de matriz foi realizada a partir da técnica de adição e recuperação. Diante dos resultados obtidos, investigou-se a utilização das técnicas de padronização interna (IS) e de adição de padrão (SA) comparativamente à de calibração externa (EC). Adotou-se, então, uma diferente estratégia para o procedimento de extração, a utilização de solução extratora alcalina de hidróxido de tetrametilamônio (TMAH, 25 % m v<sup>-1</sup>). Foram otimizados os parâmetros operacionais do plasma, como vazão do gás de nebulização e potência de radiofrequência. Os resultados foram avaliados também pelas eficiências de extração (%) dos analitos, os quais foram abaixo de 80 % para alguns analitos e pouco repetitivos. Desta forma e possivelmente, pelas diferentes composições das amostras de sopas, a proposta de um procedimento de extração único para todas as amostras analisadas não foi alcançada.

**Palavras-chave:** sopas instantâneas, preparo de amostra, alimentos processados, MIP OES e ICP OES.

## ABSTRACT

This Doctoral Thesis work describes the evaluation of strategies for inorganic chemical determination by microwave-induced plasma optical emission spectrometry (MIP OES) and inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES) in instant soups. In the first study, analysis by MIP OES using an N<sub>2</sub> plasma was evaluated for the determination of Cu, K, Mg, Mn, P and Zn in soups, after acid decomposition assisted by microwave radiation. The sample preparation procedure consisted of the use of dilute nitric acid solution, 2 mol L<sup>-1</sup>, and 1 mL of hydrogen peroxide. All determinations were performed using external calibration. The accuracy of the method was evaluated by analyzing three certified reference materials: apple leaves (NIST 1515), rice flour (NIST 1568b) and soy flour (NIST 3234). The percentages of agreement ranged from 83.3 to 107.5% for the analytes. Addition and recovery tests were also performed, and the percentages of recoveries obtained ranged from 86.0 to 106.0%. The detection limits obtained for Cu, K, Mg, Mn, P and Zn were 0.09; 4.9; 1.0; 0.04; 5.4 and 0.9 mg kg<sup>-1</sup>, respectively. The concentration ranges obtained for Cu, K, Mg, Mn, P and Zn in 19 samples of instant soups were: 1.31-13.8, 1135-17824, 172-567, 1.72-12.1, 608-1826 and 2.90-12.1 mg kg<sup>-1</sup>, respectively. The use of microwave induced N<sub>2</sub> plasma proved to be a low-cost alternative for routine chemical analysis. In another study, we evaluated the development and applicability of an extraction procedure for the determination of Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, P, Sr and Zn in instant soups by ICP OES. Initially, 8% hydrochloric acid extracting solution (v v<sup>-1</sup>) was used for the studies. The following parameters were evaluated: (1) proportion of sample mass and volume of extracting solution and (2) use of heating in a water bath. The results were evaluated based on the extraction efficiencies, in %, and were not satisfactory, with values below 80% and/or above 120%. The evaluation of possible matrix effects was performed using the addition and recovery technique. In view of the results obtained, the use of internal standardization (IS) and standard addition (SA) techniques was investigated compared to external calibration (EC). A different strategy was then adopted for the extraction procedure, the use of an alkaline extracting solution of tetramethylammonium hydroxide (TMAH, 25 % m v<sup>-1</sup>). The operational parameters of the plasma, such as nebulization gas flow and radiofrequency power, were optimized. The results were also evaluated by the extraction efficiencies (%) of the analytes, which were below 80% for some analytes and not very repetitive. In this way, and possibly due to the different compositions of the soup samples, the proposal of a single extraction procedure for all analyzed samples was not achieved.

**Keywords:** instant soups, sample preparation, food, MIP OES and ICP OES.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- ABIA: Associação Brasileira das Indústrias de Alimento
- AED: Detector de emissão atômica, do inglês *Atomic Emission Detector*
- ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária
- ANOVA: Análise da Variância
- AVC: Acidente Vascular Cerebral
- CCD: Dispositivo de carga acoplada, do inglês *Charge Coupled Device*
- DCP: Plasma de corrente contínua, do inglês *Direct Current Plasma*
- EGCM: Módulo de controle de gás externo, do inglês *External Gas Control Module*
- EIE: Elementos facilmente ionizáveis, do inglês *Easily Ionized Elements*
- F AAS: Espectrometria de absorção atômica com chama, do inglês *Flame Atomic Absorption Spectrometry*
- F AES: Espectrometria de emissão atômica com chama, do inglês *Flame Atomic Emission Spectrometry*
- FBMN: Múltiplo nebulizador *Flow-Blurring*, do inglês *Flow-Blurring Multiple Nebulizer*)
- GC: Cromatografia Gasosa, do inglês *Gas Chromatography*
- GF AAS: Espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica com forno de grafite, do inglês *Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*
- HFBA: Ácido heptafluorobutírico
- HG: Geração de hidretos, do inglês *Hydride Generation*
- HPLC: Cromatografia líquida de alta eficiência, do inglês *High Pressure Liquid Chromatography*
- HPLC-ICP-MS: Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada com espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado, do inglês *High Pressure Liquid Chromatography coupled to Inductively Coupled Plasma Spectrometry Mass*
- ICP OES: Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado, do inglês *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*
- ICP: Plasma indutivamente acoplado, do inglês *Inductively Coupled Plasma*
- ICP-MS: Espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado, do inglês *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*
- IS: Padrão interno, do inglês *Internal Standard*

- IUPAC: União Internacional de Química Pura e Aplicada, do inglês *International Union of Pure and Applied Chemistry*
- LDR: Faixa linear dinâmica, do inglês *Linear Dynamic Range*
- LOD: Limites de Detecção, do inglês *Limits of Detection*
- LOQ: Limites de Quantificação, do inglês *Limits of Quantification*
- MAE: Extração Assistida por Micro-ondas do inglês *Microwave Assisted Extraction*
- MEC: Calibração por multi-energia, do inglês *Multi-energy Calibration*
- MIP OES: Espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas, do inglês *Microwave Induced Plasma Optical Emission Spectrometry*
- MIP: Plasma induzido por micro-ondas, do inglês *Microwave Induced Plasma*
- MIP-MS: Espectrometria de massas com plasma induzido por micro-ondas, do inglês *Microwave Induced Plasma Mass Spectrometry*
- MS: Espectrometria de massa, do inglês *Mass Spectrometry*
- SA: adição de analito, do inglês *Standard Additions*
- SDA: análise por diluição de padrão, inglês *Standard Dilution Analysis*
- SFC: cromatografia supercrítica, do inglês *Supercritical Fluid Chromatography*
- TDAH: Transtorno de déficit de atenção e hiperatividade
- TDS: Total de sólidos dissolvidos, do inglês *Total Dissolved Solids*
- TMAH: hidróxido de tetrametilamônio, do inglês *Tetramethylammonium Hydroxide*
- XRF: Fluorescência de Raios-X, do inglês *X-Ray Fluorescence*

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 3.1.</b> Trabalhos descritos na literatura empregando a espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas (MIP OES) em alimentos. ....	48
<b>Tabela 3.2.</b> Código das amostras e respectivos sabores e marcas. ....	52
<b>Tabela 3.3.</b> Condições operacionais empregadas nas análises de sopas instantâneas por MIP OES. ....	53
<b>Tabela 3.4.</b> Programa de aquecimento do forno de micro-ondas utilizado na decomposição ácida das amostras de sopas instantâneas.....	54
<b>Tabela 3.5.</b> Comprimentos de ondas e condições operacionais otimizadas dos parâmetros de posição de observação do plasma e taxa do fluxo de gás de nebulização empregados nas análises de sopas instantâneas.....	56
<b>Tabela 3.6.</b> Recuperações de Cu, Mn e Zn (em porcentagem, %) utilizando as técnicas de calibração externa e de adição de analitos.....	57
<b>Tabela 3.7.</b> Recuperações de Mn (em porcentagem, %) utilizando as técnicas de calibração externa e de adição de analitos e diferentes comprimentos de onda. ....	58
<b>Tabela 3.8.</b> LODs e LOQs estimados em mg kg <sup>-1</sup> . ....	59
<b>Tabela 3.9.</b> Repetibilidade (em porcentagem, %) obtidas para Cu, K, Mg, Mn, P e Zn por MIP OES.....	60
<b>Tabela 3.10.</b> Coeficiente de correlação linear (R <sup>2</sup> ) e faixa linear para Cu, K, Mg, Mn, P e Zn obtidos a partir da técnica de calibração externa por MIP OES.....	61
<b>Tabela 3.11.</b> Determinações de Cu, K, Mg, Mn, P e Zn nos materiais de referência certificados (média ± desvio padrão; n = 3).....	62
<b>Tabela 3.12.</b> Recuperações de Cu, K, Mg, Mn, P e Zn (em porcentagem, %) adicionadas a amostra de sopa instantânea previamente a digestão ácida assistida por micro-ondas (média ± desvio padrão; n = 3).....	63
<b>Tabela 3.13.</b> Concentrações dos analitos (mg kg <sup>-1</sup> ) em amostras de sopas instantâneas determinadas por MIP OES (média ± desvio padrão; n = 3).....	65
<b>Tabela 4.1.</b> Valores de referência certificados e obtidos por ICP OES.....	84
<b>Tabela 4.2.</b> Resultados de extração e eficiências de extração de Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, P, Sr e Zn, em %, obtidos após determinação por ICP OES para avaliação da proporção de massa de amostra e volume de solução extratora (média de recuperação, n=3) .....	86

<b>Tabela 4.3.</b> Resultados de extração e eficiências de extração de Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, P, Sr e Zn, em %, obtidos após determinação por ICP OES para avaliação do banho-maria como forma de aquecimento (média de recuperação, n=3) .....	89
<b>Tabela 4.4.</b> Resultados de extração e eficiências de extração de Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, P, Sr e Zn, em %, obtidos após determinação por ICP OES para avaliação dos diferentes tipos de moagem (média de recuperação, n=3) .....	92
<b>Tabela 4.5.</b> Resultados de recuperação de Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, P, Sr e Zn, em %, obtidos após determinação por ICP OES a partir de teste de adição e recuperação (média de recuperação $\pm$ desvio padrão, n=3) .....	94
<b>Tabela 4.6.</b> Resultados de eficiências de extração de Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, P, Sr e Zn, em %, obtidos após determinação por ICP OES a partir de calibração externa e padronização interna (média de recuperação, n=3) .....	96
<b>Tabela 4.7.</b> Resultados de eficiências de extração de Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, P, Sr e Zn, em %, obtidos após determinação por ICP OES a partir das técnicas de calibração externa, adição de padrão e adição de padrão com a padronização interna (média de recuperação, n=3) .....	99
<b>Tabela 4.8.</b> Eficiências de extração de amostras de sopas instantâneas utilizando TMAH como solução extratora por ICP OES (média $\pm$ desvio padrão; n = 3).....	104

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 2.1</b> Diagrama esquemático do espectrômetro MP-AED 4100.....	32
<b>Figura 2.2.</b> Diagrama esquemático do sistema multimodo de introdução da amostra empregado em MIP OES.....	37
<b>Figura 2.3.</b> Diagrama esquemático do acoplamento HPLC-HG-MIP OES.....	39
<b>Figura 2.4.</b> Número de publicações empregando MIP OES no período de 2010 – 2022.....	42
<b>Figura 2.5.</b> Porcentagem das diferentes matrizes analisadas empregando MIP OES no período de 2010 até 2022.....	42
<b>Figura 4.1.</b> Otimização da vazão do gás de nebulização ( $L\ min^{-1}$ ) empregando 1300 W de potência do plasma e $0,5\ L\ min^{-1}$ de vazão do gás auxiliar.....	101
<b>Figura 4.2.</b> Otimização da potência do plasma (W) empregando $0,5\ L\ min^{-1}$ de vazão de gás de nebulização e $0,5\ L\ min^{-1}$ de vazão do gás auxiliar.....	102

## SUMÁRIO

<b>Capítulo 1.....</b>	<b>17</b>
<b>1. Introdução e Justificativa do Trabalho.....</b>	<b>18</b>
1.1 Alimentos Processados/Industrializados e a Legislação.....	18
1.2 Análise de alimentos processados/industrializados por técnicas espectrométricas.....	20
1.3 Objetivos Gerais.....	22
1.4 Justificativa do Trabalho.....	23
<b>Capítulo 2.....</b>	<b>24</b>
<b>2. Revisão sistemática sobre a técnica MIP OES.....</b>	<b>25</b>
2.1 Introdução, Fundamentos, Histórico e Instrumentação para MIP OES.....	25
2.2 Plasma: Definição e Formas de Geração.....	27
2.3 Instrumentação e introdução de amostras para MIP OES.....	28
2.4 Histórico da técnica espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas.....	31
2.5 Efeitos de matriz em MIP OES.....	33
2.6 Aplicações analíticas.....	36
2.6.1 Aplicações envolvendo geração de espécies voláteis.....	36
2.6.2 Aplicações envolvendo análises de especiação química.....	38
2.6.3 Aplicações em amostras ambientais.....	40
2.6.4 Aplicações em amostras geológicas.....	40
2.6.5 Estudos e novas aplicações empregando o MIP OES.....	41
<b>Capítulo 3.....</b>	<b>43</b>
<b>3. Determinação multielementar em sopas instantâneas por MIP OES.....</b>	<b>43</b>
3.1 Introdução e Revisão Bibliográfica.....	44
3.1.1. Aplicações analíticas empregando MIP OES em alimentos.....	44
3.1.2 Estudos envolvendo sopas instantâneas empregando diferentes técnicas.....	50
<b>3.2 Objetivos Específicos.....</b>	<b>51</b>
<b>3.3 Parte Experimental.....</b>	<b>51</b>
3.3.1 Reagentes, soluções e materiais.....	51

3.3.2 Amostras de sopas instantâneas.....	52
3.3.3 Instrumentação.....	53
3.3.4 Procedimento de decomposição ácida assistida por radiação micro-ondas.....	53
3.3.5 Validação.....	54
3.3.5.1 Limites de detecção e quantificação.....	55
<b>3.4 Resultados e Discussão.....</b>	<b>55</b>
3.4.1 Otimização do MIP OES.....	55
3.4.1.1 Avaliação da técnica de calibração.....	57
3.4.2 Validação.....	58
3.4.2.1 Limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ).....	58
3.4.2.2 Repetibilidade.....	60
3.4.2.3 Curvas de calibração.....	60
3.4.2.4 Exatidão.....	61
3.4.2.5 Teste de adição e recuperação.....	63
3.4.3 Concentração dos elementos nas amostras de sopas instantâneas.....	64
<b>3.5 Conclusões Parciais.....</b>	<b>68</b>
<b>Capítulo 4.....</b>	<b>69</b>
<b>4. Avaliação de procedimentos de extração para determinação multielementar em sopas instantâneas por ICP OES.....</b>	<b>70</b>
<b>4.1 Introdução e Revisão Bibliográfica.....</b>	<b>70</b>
4.1.1 Preparo de amostra para análises por ICP OES.....	70
4.1.2 Procedimentos de Decomposição de amostras de alimentos.....	71
4.1.3 Procedimentos para decomposição com ácidos inorgânicos.....	72
4.1.4 Procedimentos de Extração.....	74
4.1.4.1 Extração Alcalina.....	75
4.1.5 Espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente.....	76
4.1.6 Técnicas convencionais de calibração.....	77
<b>4.2 Objetivos Específicos.....</b>	<b>78</b>
<b>4.3 Parte Experimental.....</b>	<b>78</b>
4.3.1 Equipamentos e Aparatos.....	78
4.3.2 Reagentes e Soluções.....	80
4.3.3 Amostras.....	80
4.3.4 Preparo das amostras de sopas instantâneas.....	80

4.3.5	Otimização dos parâmetros de extração.....	81
4.3.6	Investigação sobre possíveis efeitos de matriz e diferentes técnicas de correção.....	81
<b>4.4</b>	<b>Resultados e Discussão.....</b>	<b>82</b>
4.4.1	Análise dos materiais de referência certificados.....	82
4.4.2	Otimização dos parâmetros de extração.....	85
4.4.2.1	Avaliação da proporção de massa de amostra e volume de solução extratora.....	85
4.4.2.2	Avaliação da utilização do banho-maria como forma de aquecimento.....	88
4.4.2.3	Avaliação da utilização da técnica de moagem criogênica e de mesa agitadora orbital no procedimento de extração ácida.....	90
4.4.2.4	Teste de Adição e Recuperação.....	93
4.4.2.5	Investigação e correção de possíveis efeitos de matriz com a técnica de padronização interna.....	95
4.4.2.6	Investigação e correção de possíveis efeitos de matriz com as técnicas de padronização interna e adição de padrão.....	97
4.4.2.7	Avaliação da solução extratora alcalina de hidróxido de tetrametilamônio (TMAH)..	100
4.4.2.7.1	Otimização dos Parâmetros Instrumentais do Plasma.....	100
4.4.2.7.2	Eficiências de Extração obtidas a partir da extração com solução extratora de hidróxido de tetrametilamônio (TMAH).....	102
<b>4.5</b>	<b>Conclusões Parciais.....</b>	<b>103</b>
<i>Capítulo 5</i>	.....	<i>105</i>
<b>5</b>	<b>Conclusões Finais.....</b>	<b>106</b>
<b>Referências Bibliográficas</b>	.....	<b>109</b>

# ***CAPÍTULO 1***

---

## *Introdução e Justificativa do Trabalho*

## **CAPÍTULO 1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA DO TRABALHO**

### **1.1 Alimentos Processados/Industrializados e Legislação**

Ao longo das últimas décadas, a relação entre os seres humanos e os alimentos mudou drasticamente. Alguns fatores contribuíram para essa mudança tais como, inserção da mulher no mercado de trabalho, alterações nos estilos de vida e a concentração da população nas grandes cidades. Como consequência, o consumo de alimentos processados cresceu vertiginosamente nas últimas décadas.<sup>1,2</sup> Em um estudo transversal sobre como esse tipo de consumo impacta o perfil nutricional da dieta de uma amostra de cerca de 32 mil indivíduos da população brasileira, os resultados indicaram que há uma substituição das refeições tradicionais contendo alimento *in natura* ou minimamente processados por alimentos processados.<sup>3</sup>

Alimentos ultra processados são formulações industriais elaboradas para o consumo, e geralmente, construídas com o intuito de facilitar os processos de cozimento dos alimentos ou até mesmo de facilitar o próprio consumo. Elas são feitas inteiramente ou majoritariamente de substâncias extraídas de alimentos como óleos, gorduras, açúcar, proteínas ou podem ser derivadas de constituintes de alimentos tais como gorduras hidrogenadas e amido modificado. Uma outra forma é a sintetização em laboratório com base em matérias orgânicas. Os exemplos são os corantes, aromatizantes, realçadores de sabor e outros aditivos usados para alterar propriedades sensoriais.<sup>4</sup>

Dentro dessa categoria de alimentos, no Brasil, o setor de alimentos secos, em especial das sopas, vêm ganhando cada vez mais consumidores.<sup>3,5</sup> A sopa instantânea é um tipo de alimento processado feito a partir da mistura de ingredientes, tais como vegetais e carne desidratados, especiarias, farinhas, massa alimentícia, leite em pó e outros. Este tipo de comida é prático, muito simples de se preparar e se encaixa nos estilos de vida atuais. Trata-se de um alimento processado em pó, que ao ser misturado com água e aquecido através do uso de um aparelho de micro-ondas doméstico ou fogão, encontra-se pronto para o consumo. Esses fatores e os atraentes e diversificados sabores, fizeram com que esse tipo de alimento se popularizasse.

Com isso, pesquisas associadas a importância na ingestão de certos elementos químicos e compostos orgânicos tornaram-se cada vez mais relevantes. Desta forma, os consumidores podem escolher apropriadamente quais alimentos consumir para que tenham uma dieta saudável. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) é o órgão responsável por regulamentar (agência reguladora) a ingestão diária de nutrientes para adultos, crianças, gestantes e lactantes no Brasil. Baseado no que foi proposto pelo Conselho de Alimentação e Nutrição da Academia Nacional de Ciências dos Estados Unidos, esse órgão regularizou a

ingestão diária recomendada (IDR) para vitaminas, nutrientes e minerais. Para os minerais, os seguintes valores de ingestão para adultos por dia foram recomendados, considerando uma ingestão diária de 2000 kcal: Ca (1000 mg), Cu (900 µg), Fe (14 mg), Mg (260 mg), Mn (2,3 µg), P (700 mg) e Zn (7 µg).<sup>6</sup> A ausência, deficiência ou até mesmo o excesso na ingestão desses elementos químicos pode causar alterações importantes no corpo humano.

Uma das maiores preocupações com o aumento no consumo de alimentos processados é a relação com o consumo exacerbado de sódio, gordura saturada, gorduras trans e açúcares como consequência. Em estudo realizado pela ANVISA, divulgado em 18 de novembro de 2010, foram encontrados altos teores de sódio, tanto em alimentos como em bebidas processadas. E que há uma variação grande nesses teores a depender da marca, o que indica que a indústria pode produzir alimentos mais saudáveis.<sup>7</sup> Com o intuito de assegurar a qualidade desses alimentos bem como prover produtos alimentícios processados mais saudáveis para a população brasileira, em 2017, o Ministério da Saúde juntamente com a Associação Brasileira das Indústrias de Alimento (ABIA) firmaram um acordo que determina a redução de sódio nos processados de forma gradual até 2020.

Em 2017, cerca de 17 mil toneladas de sal de consumo foram retiradas das prateleiras dos supermercados e da alimentação da população em mais de 30 tipos de alimentos.<sup>8</sup> O consumo em excesso do sódio está associado ao aumento da pressão arterial e como consequência, no aumento dos riscos de doenças cardiovasculares.<sup>9</sup> Logo, entende-se que com essa redução também haja uma diminuição nos casos de mortes por acidente vascular cerebral (AVC) e infarto, além também de uma redução do número de pessoas que usam medicamentos para hipertensão arterial.

Outra medida adotada pela ANVISA foi a limitação do uso de gorduras trans em alimentos processados através da Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) de nº 332 ocorrida em 17 de dezembro de 2019. O consumo elevado de gordura trans é nocivo à saúde uma vez que favorece o surgimento de doenças cardiovasculares, principal causa de mortes no Brasil e no mundo. Essa medida que visa proteger a saúde da população estabelece em três fases as limitações de gordura trans para indústrias e serviços de alimentação até o seu completo banimento até 2023. A primeira fase engloba o prazo de adequação da indústria alimentícia de 18 meses. A segunda fase contando a partir de 1º de julho de 2021 passará a vigorar a limitação de 2% desse tipo de gordura aos óleos refinados e aos demais alimentos até 1º de janeiro de 2023. Por fim, a partir dessa última data a norma prevê o banimento deste tipo de ingrediente.<sup>10</sup>

Neste sentido, a investigação da composição inorgânica em alimentos, em especial desses processados/industrializados, é também uma das preocupações da atualidade em termos

do ponto de vista nutricional e toxicológico, e tem sido um tema recorrente em termos de saúde pública. Isso torna indispensável o desenvolvimento bem como o estabelecimento de métodos analíticos para o conhecimento da composição elementar desses alimentos, garantindo a sua qualidade e a saúde da população.

## 1.2 Análise de alimentos processados/industrializados por técnicas espectrométricas

É vasta a quantidade de trabalhos científicos envolvendo a determinação da concentração de elementos-traço e majoritários em alimentos empregando diversas técnicas espectrométricas atômicas, tais como espectrometria de absorção atômica em chama (FAAS) e com atomização eletrotérmica em forno de grafite (GF AAS), espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP OES), espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente, fluorescência de raios-X (XRF) e análise por ativação neutrônica instrumental (INAA), entre outras. Recentemente, a técnica de espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas (MIP OES) também vem sendo empregada na análise de alimentos. Diante dessa ampla quantidade de trabalhos, serão enfatizados nesta revisão apenas os trabalhos mais relevantes dos últimos 10 anos, de modo que diferentes estratégias sejam abordadas para a análise da composição elementar dos alimentos processados empregando as diferentes técnicas mencionadas.

YILDIZ *et al*<sup>11</sup> desenvolveram um método de coprecipitação para a separação e pré concentração de Co(II), Cu(II), Fe(III), Pb(II) e Mn(II) em amostras de diferentes tipos de alimentos incluindo comidas de bebê, canela, cominho, entre outros, para a determinação elementar por FAAS, com chama ar/acetileno. O preparo de amostra foi realizado por digestão ácida em sistema aberto em placa aquecedora por 30 minutos. O reagente QAN foi usado como quelante na coprecipitação dos metais, os quais foram quantitativamente recuperados com o precipitado de Ni (II)/QAN numa faixa de pH de 8-10. Sob condições otimizadas estabelecidas experimentalmente, os limites de detecção analítica estavam na faixa de 0,03–0,83  $\mu\text{g L}^{-1}$ , a precisão (RSD) foi expressa como desvio padrão relativo (RSD) <3,5%, sendo o fator de enriquecimento de 100 vezes. As concentrações médias determinadas foram de 0,70-15,5, 0,08-14,7 e 1,05-4,20  $\mu\text{g g}^{-1}$  para Cu (II), Fe (II) e Mn (II) em diferentes amostras de alimentos, respectivamente. Para Co (II) e Pb (II), as concentrações foram abaixo do limite de detecção de 0,83 e 0,03  $\mu\text{g L}^{-1}$ , respectivamente.<sup>11</sup>

OZBEK e BAYSA<sup>12</sup> propuseram uma nova abordagem para determinar enxofre em diversos tipos de alimentos, entre eles, pó de alho, grão de bico torrado, sementes de girassol e

outros, empregando espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua com chama (HR CS FAAS), de ar/acetileno. As medidas foram realizadas no comprimento de onda de 258,056 nm através da molécula CS. A integração foi realizada com 5 pixels, central  $\pm$  2, para aumento da sensibilidade. As amostras foram previamente moídas de forma manual em almofariz. O preparo de amostra foi realizado em sistema fechado com aquecimento assistido por micro-ondas. A exatidão do método proposto foi avaliada a partir da análise dos materiais de referência certificado de galinha (NCS ZC 73016) e espinafre (NCS ZC 73013). O limite de detecção do método foi obtido em 0,03 mg g<sup>-1</sup> através de três vezes o desvio padrão da análise de 10 soluções do branco analítico. O teor de enxofre dos alimentos variou de menos que o limite de detecção de 1,5 mg g<sup>-1</sup>.

DE ANDRADE *et al.*<sup>13</sup> propuseram um método analítico para determinação de Cd, Cr, Cu e Pb em iogurtes utilizando amostragem em suspensão por GF AAS. O tipo e a concentração do ácido foram estudados, bem como o tempo de sonicação no preparo da suspensão. Elas foram homogêneas e estáveis com o uso de HCl (0,2 mol L<sup>-1</sup>) ou HNO<sub>3</sub> (0,6 mol L<sup>-1</sup>) empregando um minuto de tempo de sonicação. Nenhum modificador químico foi utilizado nas determinações. A técnica de calibração foi estabelecida com estudos realizados em comparação da calibração externa e por calibração por adição de padrão. Nenhuma diferença foi observada entre as inclinações das curvas de calibração obtidas, o que indica ausência de efeitos de matriz na determinação desses analitos. As concentrações variaram de 2,5  $\pm$  0,2 a 12,4  $\pm$  0,2 ng g<sup>-1</sup> para Cd; 34  $\pm$  3 a 899  $\pm$  7 ng g<sup>-1</sup> para Cu; <8,3 a 12  $\pm$  1 ng g<sup>-1</sup> para Cr; e < 35,4 a 210  $\pm$  16 ng g<sup>-1</sup> para Pb, em nove amostras de iogurte estudadas.

MULLAPUDI *et al.*<sup>14</sup> estudaram um procedimento simples e rápido de extração assistida por micro-ondas (MAE, do inglês *Microwave Assisted Extraction*) para quantificar Al, Ca, Cd, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P e Na, P e Zn em diversos alimentos por ICP OES. As variáveis composição do extrator e sua concentração, tempo de extração e temperatura foram estudadas. Inicialmente, somente o ácido perclórico (HClO<sub>4</sub>) foi avaliado como extrator, porém foram obtidos baixos percentuais de concordância dos elementos químicos nos materiais de referência certificados: farinha de trigo (*Wheat flour*, NIST 1567a) e leite em pó desgordurado (*Non-Fat Milk Powder*, NIST 1549). Verificou-se que o uso do extrator HClO<sub>4</sub> combinado com o peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) resultou em melhores percentuais de concordância das concentrações dos analitos. Foram as escolhidas concentrações de 2% e 4% (v/v) para o HClO<sub>4</sub> e o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, respectivamente. O tempo de 10 min e a temperatura de 140 °C foram usados para extração assistida por radiação micro-ondas. A precisão do método MAE proposto foi avaliada analisando mais dois materiais de referência certificados de pão integral (BCR-191) e dieta

total ( NIST-1548). A abordagem otimizada da extração assistida por micro-ondas proposta foi posteriormente aplicada a amostras de farinha de trigo de algumas marcas líderes compradas em supermercado local. As concentrações médias obtidas, em  $\text{mg kg}^{-1}$ , foram de: Zn, 24,6; P, 2960; Fe, 44,6; Mn, 38,1; Mg, 1228; Cu, 3,62; Ca, 511; Al, 2,33; Na, 169 e K, 3978. O procedimento de preparo da amostra desenvolvido fornece uma vantagem clara à solução extratora final, após o processo MAE, que pode passar pelo instrumento analítico sem uma etapa prévia de evaporação.

LONDONIO *et al*<sup>15</sup> realizaram um estudo para quantificar As, Cd, Cr, Hg, Ni, Pb, Sb, Se e Zn em amostras de arroz, bolachas de arroz, macarrão de arroz, cereais infantis e vinagre de arroz empregando ICP-MS.<sup>15</sup> Ródio e Ho ( $10 \mu\text{g L}^{-1}$ ) foram utilizados como padrões internos bem como a calibração externa nas determinações de ICP-MS. As amostras foram moídas em moinho de aço inoxidável previamente à etapa de preparo da amostra. A digestão ácida consistiu em com aquecimento assistido por radiação micro-ondas em sistema fechado. A exatidão do método analítico foi confirmada através da análise do material de referência certificado (do inglês, *Certified Reference Material, CRM*) de farinha de arroz (NIST 1568a) e os resultados estavam de acordo com os valores certificados. As concentrações dos elementos químicos cobriram a faixa ( $\text{ng g}^{-1}$ ): As, 67-858; Cd, < 0,2-24,0; Cr, 36,6-937; Ni, 38,6-1040; Pb, < 2,0-139; Sb, < 3,0-24,7; Se, < 8,4-178 e Zn, 129-32400. Mercúrio não foi detectado em nenhuma das amostras analisadas.

### 1.3 Justificativa do Trabalho

A despeito do amplo número de trabalhos publicados, descrevendo diferentes abordagens para a análise inorgânica de alimentos, ainda existe uma demanda pelo desenvolvimento de métodos analíticos mais sensíveis, simples, exatos, precisos e de baixo custo relativo para esse tipo de amostra. Consequentemente, persiste a busca por novas alternativas para o controle de qualidade dos alimentos, em especial dos processados, visto que é considerado um tema de saúde pública. Neste contexto, nesta Tese de Doutorado foram avaliadas diferentes metodologias para a análise de sopas instantâneas em termos dos constituintes inorgânicos utilizando espectrometria de emissão com plasma. Assim, os resultados obtidos estão apresentados e discutidos em três capítulos, sendo eles:

- a. Capítulo 2: Revisão sistemática sobre a técnica MIP OES;
- b. Capítulo 3: Determinação multielementar em sopas instantâneas por MIP OES e;

- c. Capítulo 4: Avaliação de procedimentos de extração para a determinação multielementar em sopas instantâneas por ICP OES.

#### **1.4 Objetivo Geral**

Desenvolver estratégias para o preparo de amostras de sopas instantâneas visando determinação de constituintes inorgânicos por espectrometria de emissão atômica com plasma, com foco na proposição de análises de rotina.

Os objetivos específicos:

- a) Estabelecer uma revisão sistemática do emprego da técnica MIP OES para a análise de diferentes tipos de amostras;
- b) Determinação de constituintes inorgânicos em sopas instantâneas, por meio da digestão ácida assistida por micro-ondas, empregando MIP OES;
- c) Desenvolver metodologia simples para o preparo de amostras de sopas instantâneas através de procedimentos de extração, com foco na proposição de análises de rotina, visando determinação de constituintes inorgânicos por ICP OES.

## *CAPÍTULO 2*

---

*Revisão sistemática sobre MIP OES*

## CAPÍTULO 2. REVISÃO SISTEMÁTICA SOBRE MIP OES

### 2.1. Introdução, Fundamentos, Histórico e Instrumentação

Com o passar das últimas décadas, o desenvolvimento de técnicas analíticas cada vez mais sensíveis ganhou mais popularidade para a realização de análises químicas em diversas áreas. A espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS, do inglês *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*), por exemplo, se tornou uma das técnicas analíticas mais populares, devido à sua capacidade de análise multielementar a níveis de concentração de nanograma por grama ( $\text{ng g}^{-1}$ ) ou micrograma por litro ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ). Outras técnicas também se tornaram indispensáveis para análises elementares como a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES, do inglês *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*) e a espectrometria de fluorescência de raio-X (XRF, do inglês *X-Ray Fluorescence*). Ambas as técnicas também com capacidade multielementar, principalmente no que diz respeito à determinação de elementos químicos majoritários, minoritários e alguns elementos traço em diversas matrizes.<sup>19,119-121</sup>

A técnica de ICP OES é amplamente utilizada para análises multi-elementares de rotina em diferentes campos como a geoquímica, meio ambiente, alimentação e combustível. Essa técnica tornou-se a mais relevante entre as demais técnicas de emissão atômica por ser capaz de realizar análises multielementares simultâneas ou sequenciais a níveis de miligramas ou até mesmo microgramas por grama.<sup>121,122</sup>

O uso do plasma como fonte de atomização/ionização/excitação frente aos atomizadores de chama, por exemplo, oferece como vantagem menor interferência entre os elementos químicos, devido às elevadas temperaturas obtidas com o plasma além da própria robustez da técnica. Além disso, a temperatura da seção transversal do plasma é relativamente uniforme, o que confere à técnica a obtenção de faixa lineares de trabalho com ampla ordem de grandeza, uma consequência da eliminação de efeitos de autoabsorção e autoinversão, comumente encontrados nos atomizadores de chama.<sup>19</sup>

Ainda assim, as técnicas analíticas baseadas no princípio da absorção atômica continuam sendo muito empregadas, apesar da grande competitividade que as técnicas baseadas em plasma trouxeram ao mercado. Técnicas como a espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS, do inglês *Flame Atomic Absorption Spectrometry*) e com atomização eletrotérmica em forno de grafite (GF AAS, do inglês *Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry*) seguem relevantes na realização de análises quantitativas de diversos metais em

variadas matrizes, apresentando como vantagens principais o custo de aquisição e de operação, que são menores do que os das técnicas de ICP OES e ICP-MS, simplicidade, seletividade e robustez. Como desvantagem, o tempo de análise química é um infortúnio quando se tem como objetivo determinações de vários elementos químicos, uma vez que são técnicas sequenciais. Além do tempo de análise, para a F AAS, a determinação de elementos de extrema importância nutricional ou toxicológica pode ser dificultada pela baixa concentração desses elementos químicos em variadas matrizes, o que requer alternativas de procedimentos de pré-concentração sejam desenvolvidos.<sup>123,124</sup>

Recentemente, em 2011, a espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas (MIP OES, do inglês *Microwave Induced Plasma Optical Emission Spectrometry*) teve um novo equipamento comercial disponibilizado com desempenho comparável aos métodos baseados em plasma indutivamente acoplado (ICP).<sup>125</sup> Apesar do lançamento recente desse equipamento no mercado, essa técnica teve a sua primeira tocha descrita em 1951.<sup>27</sup> Contudo, sua principal aplicação ficou restrita como detector para cromatografia gasosa descrita primeiramente em 1965.<sup>126</sup> Além disso, alguns inconvenientes instrumentais precisavam ser superados, de modo a tornar esta técnica apropriada para análises químicas de rotina, e com desempenho comparável por ICP OES. Como consequência, até a década de 90, o MIP OES ainda detinha um baixo poder de detecção quando comparados aos equipamentos de ICP OES, o que a tornou pouco popular, e somente uma possibilidade alternativa aos instrumentos tradicionais com fontes de plasma.<sup>24</sup>

Uma vez resolvidas as limitações, esta técnica passou a ser então comercialmente disponível e a partir de então, algumas aplicações analíticas foram desenvolvidas recentemente em diferentes matrizes, tais como combustíveis, fertilizantes, amostras geológicas, alimentícias, entre outras.<sup>46,49,127</sup> Além disso, devido ao fato dos plasmas induzidos por micro-ondas terem um bom desempenho analítico empregando gases moleculares mais baratos, como nitrogênio e oxigênio ou até mesmo ar. Logo, esta técnica se tornou mais competitiva aos tradicionais equipamentos com plasma de argônio, uma vez que os custos de operação são substancialmente reduzidos.<sup>47,50</sup> Desta forma, essas aplicações analíticas serão aqui detalhadamente discutidas em termos do desempenho do MIP OES frente às técnicas bem estabelecidas com os métodos baseados com ICP, como fonte de excitação/atomização/ionização e a espectrometria de absorção atômica.

## 2.2. Plasma: definição e formas de geração

O plasma pode ser definido como um gás parcialmente ionizado que consiste em elétrons, íons e espécies neutras. Do ponto de vista macroscópico, o plasma é eletricamente neutro. Entretanto, contém em sua constituição espécies com carga, e é capaz de conduzir eletricidade. Basicamente, pode ser criado pelo fornecimento de energia a esse gás. Uma vez fornecida energia suficiente, uma modificação da estrutura eletrônica de átomos e moléculas ocorre de modo que espécies excitadas desses átomos e moléculas passam a existir por um breve momento.<sup>16,17</sup> A energia transmitida ao gás pode ser térmica ou transmitida através de uma corrente elétrica ou radiação eletromagnética. Quando essas espécies excitadas retornam aos seus estados fundamentais, liberam energia na forma de fóton de luz. Dependendo do tipo de energia fornecido para formação do plasma e da quantidade de energia transferida, as propriedades do plasma tais como densidade eletrônica e temperatura tendem a sofrer alterações consideráveis.<sup>18-20</sup>

Particularmente, diferentes podem ser as formas pelas quais o plasma é gerado, sendo três as mais comumente conhecidas: plasma acoplado indutivamente (ICP do inglês *Inductively Coupled Plasma*), plasma de corrente contínua (DCP, do inglês *Direct Current Plasma*) e plasma induzido por micro-ondas (MIP, do inglês *Microwave Induced Plasma*). O plasma de corrente contínua opera numa frequência *dc*, enquanto os ICPs e MIPs operam, respectivamente, em 27,12 ou 40,68 MHz e 2450 MHz. O DCP é gerado a partir de três eletrodos dispostos numa configuração do tipo Y invertida. Em cada “braço” dessa configuração, existe um ânodo de grafite e na base invertida um cátodo de volfrâmio. O gás argônio empregado para a formação do plasma flui dos ânodos para os cátodos. Quando o cátodo e o ânodo entram em contato a partir desse fluxo de gás, um “jato” de plasma é gerado, no qual o argônio é ionizado gerando uma corrente de aproximadamente 14 A. Essa corrente produz mais íons de argônio de modo que estes a mantêm indefinidamente. A amostra é, então, aspirada para a região interna entre os “braços” da configuração Y, onde é atomizada, excitada e ionizada.<sup>21</sup>

Os ICPs ocorrem dentro de uma tocha de quartzo, que se constitui de três tubos concêntricos, nos quais há o fluxo do gás argônio. O diâmetro do maior tubo concêntrico é de aproximadamente 2,5 cm. Ao redor desse tubo, encontra-se uma bobina de indução, a qual é refrigerada por água e alimentada por um gerador de radiofrequência. Esse gerador é capaz de gerar uma potência de 0,5 a 2 kW numa frequência de aproximadamente 27 ou 41 MHz. A partir da bobina, o gás argônio é ionizado através de uma faísca. Conseqüentemente, os íons e

elétrons gerados a partir dessa ionização interagem com o campo magnético oscilante produzido pela bobina de indução, o que faz com essas espécies se movam em trajetórias circulares. O aquecimento é produzido pela resistência dessas espécies à realização dessas trajetórias circulares. Como esse aquecimento é elevado, é necessário um fluxo de argônio tangencial para o resfriamento das paredes internas do tubo central e centralização do plasma. É importante ressaltar que o consumo de argônio em um espectrômetro com plasma indutivamente acoplado é relativamente alto, gerando um custo significativo de cerca de milhares de reais ao ano.<sup>22</sup>

Os sistemas com plasma induzido por micro-ondas operam segundo o seguinte princípio: as micro-ondas são guiadas ao longo do sistema e transmitem energia que formará o plasma. Consequentemente, ocorrem colisões entre elétrons e partículas pesadas. Devido à grande massa dessas partículas pesadas, os elétrons que colidiram com essas partículas têm as suas trajetórias alteradas enquanto essas partículas permanecem estáticas. Os elétrons têm a sua energia cinética aumentada e as partículas sofrem um leve aumento de temperatura. Após várias colisões, os elétrons ganham energia suficiente para produzir novas colisões que levam a perda de elétrons por parte dos átomos. O gás é, então, ionizado, tornando-se plasma, o qual é suportado pela propagação das micro-ondas.<sup>23,24</sup> Esses sistemas com plasmas induzidos por micro-ondas são fontes de atomização/ionização/excitação desenhados com base na mesma ideia, consistindo, basicamente, de: fonte de micro-ondas (fonte de energia, magnetron); equipamento de micro-ondas (guia de ondas); sistema de ignição e injetores de gás.<sup>25,26</sup>

### **2.3. Histórico da espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas**

Os primeiros experimentos com plasma induzido por micro-ondas começaram a surgir a partir da década de 50. Havia, na época, um forte interesse em fontes de excitação/atomização/ionização diferentes da chama para a determinação de metais a níveis de traço. A principal atenção naquele período era para as fontes de plasmas indutivamente acoplado. Os ICPs eram fontes que começavam a ser reconhecidas como excelentes. Contudo, seus aparatos eram e ainda são, geralmente, complexos e caros, requerendo elevada potência. Então, na busca de um tipo de fonte mais simples que requeresse menos potência e oferecesse a determinação de metais traço com rapidez e sensibilidade, crescia a partir desse ponto também o empenho no desenvolvimento de uma fonte de plasma suportada pela energia de micro-ondas em 2450 MHz.<sup>27</sup>

Em 1951, portanto, Cobine e Wilbur descreveram a primeira tocha para a formação de plasma induzido por micro-ondas (MIP) à pressão atmosférica.<sup>32</sup> Com algumas transformações,

na década de 60, algumas aplicações analíticas com soluções aquosas empregando um sistema com MIP à baixas potências e pressões reduzidas foram relatadas.<sup>33,34</sup> Nesses trabalhos, uma aparelhagem simples foi montada contendo um gerador de micro-ondas de 2450 MHz, um condutor de ondas (*waveguide*) e uma tocha de quartzo. Foram obtidos espectros a partir de diferentes gases produzidos pelas descargas de micro-ondas.<sup>28</sup>

Após alguns anos, Moisan *et al.* (1975)<sup>36</sup> desenvolveram um dispositivo nomeado como "*surfatron*" baseado na propagação de ondas de superfície. Este dispositivo foi mostrado ser capaz de sustentar um plasma com hélio ou argônio, à pressão atmosférica.<sup>29-31</sup> Na década de 90, no entanto, esse tipo de cavidade tornou-se mais aceita após a publicação de algumas aplicações.<sup>32</sup> O *surfatron* foi aplicado, não só como uma fonte de emissão para a análise química,<sup>33</sup> mas também como um detector de emissão atômica para cromatografia gasosa (GC, do inglês, *Gas Chromatography*)<sup>34</sup> e como uma fonte de íons para espectrometria de massas (MS, do inglês, *Mass Spectrometry*)<sup>35</sup>, com algumas vantagens significativas em relação a outros tipos de dispositivos MIPs.

Em 1976, uma nova cavidade foi desenvolvida por *Beenakker*, a qual mostrou-se capaz de sustentar um plasma em hélio ou argônio, à pressão atmosférica, devido à sua melhor transferência de energia elétrica.<sup>36</sup> Esta cavidade foi melhorada<sup>37</sup> e aplicada à análise química como um detector de emissão atômica (AED, do inglês *Atomic Emission Detector*) de cromatografia gasosa<sup>38</sup> e como uma fonte de emissão para a análise dos gases e soluções.<sup>39</sup> O detector de emissão atômica baseado no MIP de mais sucesso que foi utilizado em um cromatógrafo gasoso comercial emprega uma cavidade *Beenakker* melhorada conhecida como TM010. Aplicou-se também essa nova cavidade em cromatografia supercrítica<sup>40</sup> (SFC, do inglês *Supercritical Fluid Chromatography*) e espectrometria de massa com plasma induzido por micro-ondas<sup>41</sup> (MIP-MS, do inglês *Microwave Induced Plasma Mass Spectrometry*).

É possível notar que a aplicação de maior sucesso tanto da cavidade *Beenakker* como da cavidade *surfatron* foi o uso do MIP com a espectrometria de emissão óptica como detector para cromatografia gasosa. No entanto, ambos eram considerados MIP convencionais, e possuíam baixas tolerâncias à introdução de soluções aquosas da amostra ao plasma devido, como já foi dito, a esses sistemas operarem com baixas potências. Além disso, os plasmas gerados por essas cavidades não dispunham de um formato anular conforme os ICP, adequados para a introdução da amostra na forma de soluções aquosas. Os ICP por deterem esse formato anular possuem um canal central onde os aerossóis das amostras podem ser facilmente introduzidos pelo gás carreador. Esses dois inconvenientes retardaram a difusão dos MIP, apesar do baixo custo no seu desenvolvimento.<sup>26</sup>

Por essas razões, em 1991, uma nova cavidade não-ressonante foi proposta por Okamoto, a qual recebeu seu nome. Essa cavidade produzia intencionalmente um campo elétrico não-uniforme, o qual sua intensidade era maior perto do perímetro exterior de uma tocha coaxial e torna-se, cada vez mais fraco, à medida que se aproxima do seu centro. Esse campo elétrico não-uniforme, combinado com um fluxo de gás tangencial, conferiu ao plasma gerado o formato anelar e a capacidade de operação a elevadas potências, cerca de 1,3 kW. Isso proporcionou ao plasma gerado o alcance de maiores temperaturas e uma melhor interação entre plasma/amostra líquida. Através de um tubo central do plasma, o aerossol da amostra pôde, então, ser facilmente introduzido no plasma, similarmente aos ICP., possibilitando que esse tipo de plasma fosse usado como fonte de ionização para espectrometria de massas. Essa nova cavidade destacou-se como base para construção de equipamentos comerciais sustentando o plasma com nitrogênio e utilizando um fluxo total de  $20 \text{ L min}^{-1}$ , bem próximo do fluxo gasto pelos ICP. Do mesmo modo, o sistema de introdução da amostra consiste em nebulizadores pneumáticos e câmara de nebulização. Entretanto, o maior problema dessa cavidade está relacionado com a dificuldade no controle do tamanho do canal central do plasma e, por sua vez, no equilíbrio de injeção da amostra ao plasma.<sup>42,43</sup>

Então, em 2008, uma nova fonte de emissão de plasma induzido por micro-ondas foi proposta e testada por Hammer. O trabalho descrito por esse pesquisador buscou investigar a possibilidade de sustentar um plasma de micro-ondas acoplando energia a partir de um campo magnético axial ao contrário de fontes de plasma de micro-ondas anteriores, as quais acoplam energia a partir de um campo elétrico. A forma resultante desse novo plasma permitiu a fácil introdução do aerossol da amostra, tal como o uso de sistemas convencionais de introdução da amostra empregados em ICP. Os gases empregados para a geração do plasma podem ser tanto o nitrogênio como o ar, sendo que a melhor sensibilidade foi obtida usando nitrogênio. Boa estabilidade de operação foi observada para ambos os solventes aquosos e orgânicos em uma variedade de fluxos de amostra. O desempenho avaliado quando utilizado como uma fonte espectroscópica em conjunto com um policromador *Echelle* mostraram limites de detecção que se aproximam do ICP comerciais. O desempenho do plasma induzido magneticamente por micro-ondas foi mais favorável comparado com os dos plasmas induzidos eletricamente de micro-ondas (cavidade Okamoto, entre outras) previamente relatados.<sup>44</sup> Essa fonte é a que mais se aproxima dos equipamentos que posteriormente se tornaram comercialmente disponíveis pela empresa *Agilent Technologies*.

## 2.4. Instrumentação e introdução de amostras para MIP OES

Em 2011, a *Agilent Technologies* disponibilizou comercialmente o espectrômetro de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas empregando o nitrogênio como gás para geração do plasma. Como já discutido, uma característica interessante dos MIP é a possibilidade de uso de diferentes gases ou mistura de gases, como por exemplo, Ar, He, N<sub>2</sub>, Ar/He e N<sub>2</sub>/O<sub>2</sub>. Além disso, os MIP são relativamente estáveis à introdução de solventes orgânicos. Então, esse novo espectrômetro emprega o N<sub>2</sub>, como gás do plasma, através de um gerador de gás conectado a um compressor de ar, não requerendo dessa forma, uma fonte de gás separada para sustentação do plasma. O uso do nitrogênio gerado dessa forma, reduz substancialmente os custos de operação dessa técnica, tornando-a vantajosa e competitiva aos ICP e a F AAS.<sup>45</sup>

No entanto, comparada aos ICP com temperaturas superiores a 7500 K, esse instrumento apresenta uma temperatura de gás do plasma menor de 5000 K, e opera numa potência fixa de 1,0 kW. Espera-se, portanto, que efeitos de matriz sejam mais pronunciáveis nesse tipo de equipamento do que nos ICP, quando soluções com elevados teores de carbono sejam introduzidas no plasma. Uma estratégia útil para manobrar essa questão é a utilização de um módulo de controle de gás externo (EGCM, do inglês *External Gas Control Module*) existente no próprio equipamento. Esse módulo introduz ar comprimido no plasma de forma que o oxigênio presente no ar reaja com a matriz orgânica em altas temperaturas para formar CO e CO<sub>2</sub>. Como consequência, a emissão de fundo de compostos orgânicos é minimizada e previne-se a deposição de fuligem na tocha.<sup>45</sup>

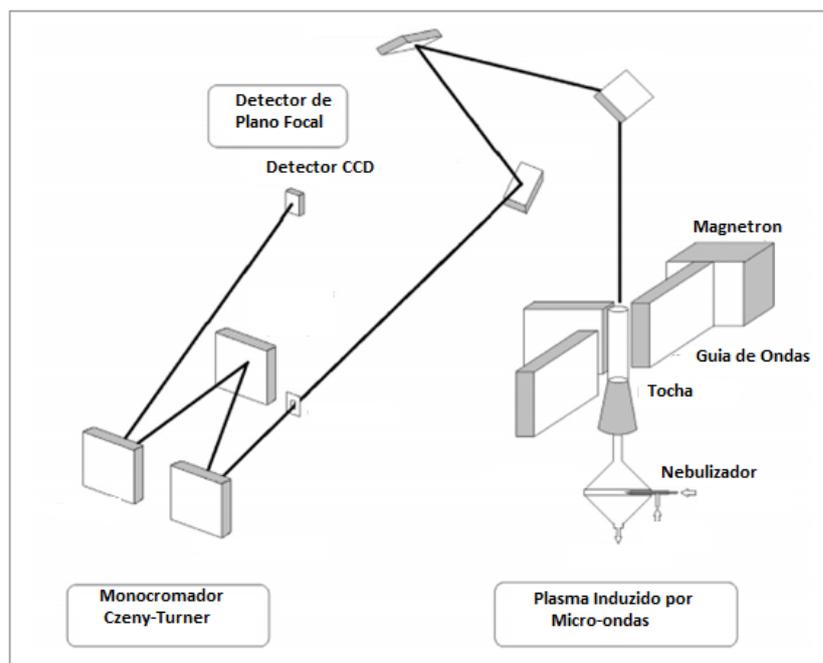
A Figura 2.1 apresenta o diagrama esquemático do espectrômetro MP-AED 4100 fabricado pela *Agilent Technologies*. Esse equipamento é equipado com o monocromador do tipo *Czerny-Turner*, o qual dispõe de 600 mm de distância focal com uma fenda de entrada fixa, difração holográfica que abrange 2400 linhas/nm (faixa de comprimento de ondas de 170-780 nm) e detector do tipo dispositivo de carga acoplada (CCD do inglês, *Charge-Coupled Device*) (532 x 128 pixel).<sup>46</sup>

Os métodos de espectrometria atômica, tais como F AAS ou espectrometria de emissão atômica com chama (F AES, do inglês *Flame Atomic Emission Spectrometry*), ICP OES e ICP-MS requerem convencionalmente que a amostra seja introduzida na forma de soluções líquidas, em geral, soluções aquosas.<sup>55,56</sup> Um dos componentes mais importantes num sistema de introdução de amostra líquida é o nebulizador. Existem muitos diferentes nebulizadores convencionais para introduzir um líquido no plasma, mas o nebulizador pneumático é o mais utilizado comercialmente. Apesar do uso generalizado de nebulizadores pneumáticos com

técnicas de plasma, este tipo de nebulizador não fornece uma eficiência de transporte adequada.<sup>47</sup>

O sistema de introdução da amostra mais comumente empregado em MIP é composto pela câmara ciclônica e o nebulizador inerte *One-Neb*, recentemente desenvolvido. O nebulizador *One-Neb* foi desenvolvido a partir da tecnologia de nebulização *Flow-Blurring*®. A fim de ultrapassar as limitações encontradas com os nebulizadores pneumáticos, o nebulizador múltiplo *Flow-Blurring*® (FBMN, do inglês *Flow-Blurring Multiple Nebulizer*) foi elaborado como uma tecnologia nova e eficiente de geração do aerossol para a introdução líquida da amostra no plasma. Particularmente, esse tipo de nebulizador foi descrito por Gañán-Calvo e Rosell-Llompart e produz um aerossol mais fino comparado aos nebulizadores pneumáticos.<sup>48</sup>

**Figura 2.1** Diagrama esquemático do espectrômetro MP-AED 4100.



Fonte: Niedzielski et al., (2015). (Modificado)

Segundo o fabricante, os nebulizadores *One-Neb* são altamente versáteis e adaptáveis a praticamente todos os requisitos de absorção de líquidos ou de fluxo de gás para performances ótimas por ICP OES, ICP-MS e MIP OES. São também adequados para pequenas quantidades de líquido, proporcionando um desempenho analítico muito bom, mesmo com matrizes complicadas. Proporcionam uma excelente resistência química, mesmo quando utilizados para

soluções com alto teor de ácido (ácido fluorídrico, ácido sulfúrico e água régia). São robustos e exibem notável resistência mecânica a choques fortuitos e/ou quedas acidentais. Estes nebulizadores operam à pressões de gás baixas à moderadas e ultrapassam analiticamente outros nebulizadores pneumáticos para análises que requerem tanto nebulizadores convencionais como micro nebulizadores. E, por fim, são considerados adequados para análises de soluções com alto teor de sólidos dissolvidos, soluções ácidas altamente concentradas e solventes orgânicos.<sup>49</sup>

## 2.5. Efeitos de matriz em MIP OES

As técnicas espectrométricas emissões ópticas com fonte de plasma, de modo geral, têm como principal característica a capacidade de determinação qualitativa e quantitativa de mais de 70 elementos. Além disso, são capazes de quantificar diversos elementos químicos na ordem de  $\text{ng g}^{-1}$  e  $\mu\text{g g}^{-1}$ , em determinados casos, concentrações até menores. Apesar dessa grande vantagem, são técnicas suscetíveis a interferências do tipo espectrais e não espectrais.<sup>96,128</sup>

As interferências espectrais podem ser resolvidas através da escolha apropriada do comprimento de onda a ser medido. As interferências não espectrais estão relacionadas com as mudanças no processo de nebulização, mudanças na formação do aerossol gerado pelo nebulizador e mudanças no equilíbrio do plasma. Esse tipo de interferência é mais comumente causado pelo uso de ácidos na etapa de preparo da amostra e quando elementos facilmente ionizáveis conhecidos como EIE's (do inglês, *Easily Ionized Elements*) estão presentes na matriz muitas vezes em altas concentrações.<sup>21</sup>

Quanto aos MIP comparado aos ICP, o instrumento escolhido para ser descrito nesse trabalho, opera numa potência de radiofrequência fixa de 1,0 kW e apresenta uma temperatura relativamente baixa do gás do plasma de 5000 K.<sup>75</sup> Sob essas condições, portanto, espera-se que efeitos de matriz ocorram quando soluções com alto teor de matéria orgânica são introduzidas nesse plasma de nitrogênio. Logo, Donati *et al* (2013)<sup>47</sup> propuseram um método analítico para a determinação de Cr, Ni, Pb e V em gasolina e etanol que são matrizes complexas com altos teores de carbono. Para tal, microemulsões de gasolina foram preparadas com n-propanol enquanto as amostras de etanol foram simplesmente diluídas com 1% de  $\text{HNO}_3$  v v<sup>-1</sup>. Desta forma, a superar este possível problema, os autores adotaram um módulo de controle de gás externo para introduzir ar no plasma. Contudo, uma melhor estabilidade do plasma seria garantida bem como a minimização dos sinais de fundo emitidos pelos compostos orgânicos da

matriz. A técnica de calibração por simulação de matriz foi a adotada pelos autores para compensar possíveis diferenças nos processos de introdução da amostra. Assim, com a utilização destas estratégias, o método analítico proposto alcançou sensibilidade, exatidão e precisões adequadas para a determinação desses analitos nessas matrizes.

Em outro estudo, Ozbek e Akman (2015)<sup>129</sup> propuseram a determinação de boro, um elemento químico não-metálico, em amostras de vinhos empregando MIP OES. O preparo da amostra consistiu apenas de uma simples diluição com água deionizada de 1:1. Nesse trabalho, os efeitos de matriz foram estudados através de duas formas: (i) recuperação dos analitos adicionados às amostras e (ii) comparação de resultados obtidos pela técnica de calibração por adição de analito com calibração externa. Quando a técnica de calibração externa foi aplicada, as concentrações de boro adicionadas às amostras de vinho foram recuperadas em cerca de 80%. Possivelmente, segundo autores, devido à baixa eficiência de atomização/excitação, interação da fase gasosa do boro com demais produtos da decomposição da amostra, eficiência no processo de nebulização, entre outras razões, na presença da matriz. Contudo, esses resultados não foram expostos no artigo. Com a aplicação da técnica de calibração por adição de analito, as recuperações encontradas foram em cerca de 120%. Considerando que na técnica de adição de analito, as soluções de referência contendo os analitos e as amostras são expostas aos mesmos efeitos da matriz, naturalmente, é de se esperar que as interferências do tipo não-espectrais (efeitos físicos) sejam reduzidas. Apesar das recuperações obtidas, os autores adotaram a técnica de adição de analito como técnica de calibração do método proposto. Os valores de LOD (do inglês, *limits of detection*) e LOQ (do inglês, *limits of quantification*) para a determinação de boro em vinho foram de 0,08 e 0,28  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , os quais foram menores do que os obtidos por F AAS, mas não tão menores quanto os de ICP-MS, por outros pesquisadores. Nenhuma correlação foi feita, em termos de parâmetros analíticos, com a técnica ICP OES. A faixa de concentração de boro em várias amostras de vinho foi de 4,2 a 10,8  $\text{mg L}^{-1}$ .

Outra estratégia usada para correção de efeitos de matriz foi proposta por Lowery *et al* (2016).<sup>130</sup> Os pesquisadores empregaram a MIP OES para a determinação de Ca, K, Mg e Na em biodiesel, que são elementos químicos importantes para regulamentação e comercialização desse biocombustível. A estratégia concebida pelos autores baseou-se na utilização de espécies moleculares naturalmente existentes no plasma de nitrogênio para correções de alterações na composição do plasma quando amostras de biodiesel são introduzidas nesse plasma. Os autores utilizaram as transições eletrônicas moleculares para  $\text{N}_2^+$  (0-0,  $\text{B}_2 \Sigma_u^+ \rightarrow \text{X}^2\Sigma_g^+$ ) e OH (0-0,  $\text{A}^2 \Sigma^+ \rightarrow \text{X}^2\Pi_i$ ) para correção dos sinais analíticos. As linhas de emissão de nióbio (391,470 nm) e térbio (308,958 nm) foram usadas para monitorar as

espécies moleculares de  $N_2^+$  e OH, respectivamente. Considerando que flutuações no plasma podem alterar tanto o sinal analítico (A) como o sinal de emissão das moléculas (P), os autores avaliaram duas formas de correção de sinal: curva de calibração construída usando tanto A/P (i) ou A x P (ii) na posição y do gráfico e a concentração do analito (C) na posição x do gráfico. Para tal, esse estudo foi realizado a partir da análise de uma amostra de referência de biodiesel (Metals in Biodiesel, B100M5-20, VHG Labs, Manchester, NH, USA). Os resultados obtidos a partir dessas duas formas de correção foram comparados com os obtidos pela tradicional curva de calibração externa e efeitos de matriz severos foram observados na determinação destes elementos em biodiesel, com exceção para Na. Diferentes melhorias na exatidão foram obtidas com as espécies moleculares testadas. Para os sinais de K, Mg e Na, a espécie OH provou ser a melhor opção na correção desses sinais e para Ca, a espécie  $N_2^+$ . Os autores concluíram que a estratégia proposta de correção juntamente com a injeção de ar no plasma é simples, rápida e eficiente para a determinação de Ca, K, Mg e Na em amostras de biodiesel.

Laurence Whitty-Léveillé *et al* (2017)<sup>131</sup> mostraram que a técnica MIP OES pode ser aplicada para a determinação de elementos terras raras (REEs, do inglês *Rare Earth Elements*) em minerais através da decomposição alcalina por fusão. A combinação das altas temperaturas de digestão (1050 °C) e o uso de  $LiBO_2$  como fluxo foi a estratégia mais eficaz para a digestão de todos os elementos terras raras em matrizes minerais. Nesse trabalho, várias técnicas espectrométricas foram avaliadas e resultados precisos foram obtidos por MIP OES. Contudo, os LODs foram maiores do que os estimados por ICP OES devido à menor energia disponível para os diferentes processos necessários (dessolvatação do aerossol, atomização e excitação ou atomização, ionização e excitação).

Baranyai *et al* (2020)<sup>132</sup> desenvolveram um estudo para a determinação de Ca, K, Mg, Cu, Zn e Fe em sangue humano. Além dessa determinação, um estudo em que a concentração de Na é adicionada à matriz dentro das faixas relatadas para o soro sanguíneo foi realizado. Como esperado, com base nas observações da literatura em análise ICP OES, as intensidades aumentaram no caso de todos os seis macroatômicos e microatômicos estudados. Entretanto, os autores concluem que, embora haja a observação de diferenças estatisticamente significativa nas intensidades de Ca, Cu e Fe, as diferenças relativas foram pequenas (< 10%).

Apesar da observação de efeitos de matriz severos em algumas aplicações analíticas como as relatadas neste tópico, na maioria dos trabalhos empregando a técnica em estudo, a técnica de calibração utilizada foi a tradicional calibração externa. Essa análise indica que o plasma de nitrogênio possui energia suficiente para garantir que processos como eficiência da atomização/excitação ocorram sem mais problemas em diversas aplicações importantes.

## 2.6. Aplicações analíticas

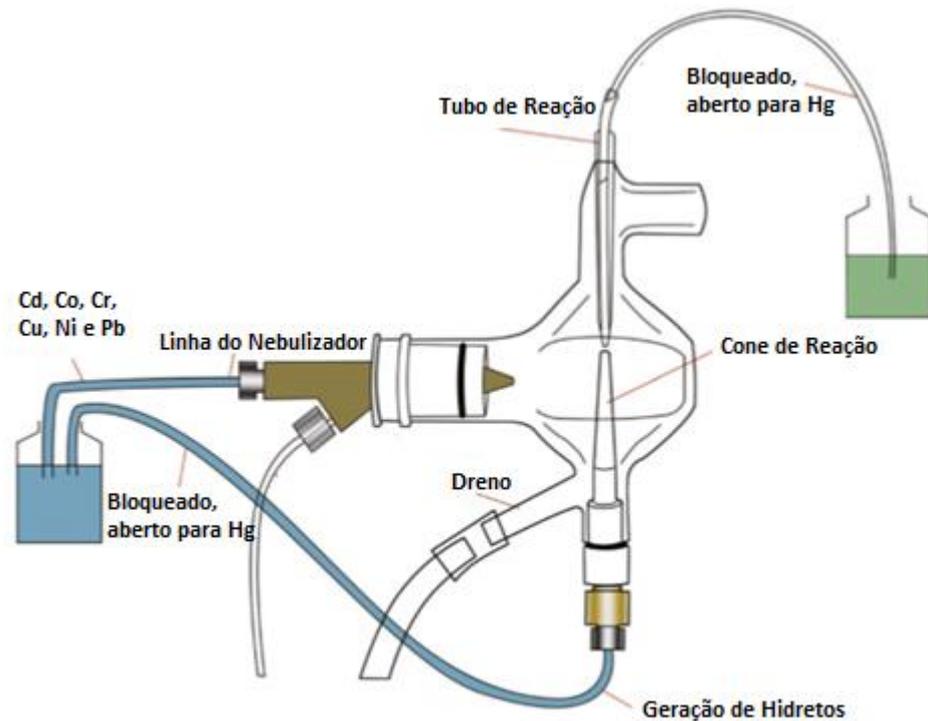
Donati et al. (2013)<sup>47</sup> descreveram a determinação de Cr, Ni, Pb e V em combustíveis através de simples procedimentos de preparo de amostra empregando MIP OES. As amostras de etanol foram diluídas em solução de HNO<sub>3</sub> 1% v/v, enquanto para as de gasolina, foram preparadas microemulsões em n-propanol. Segundo os autores, baseado na equação de Boltzmann, LODs elevados são esperados como é o caso dos plasmas de nitrogênio induzidos por micro-ondas com baixas temperaturas (5000 K) quando comparados aos ICP (7000 K). Contudo, os limites encontrados para Cr, Ni e V foram, aproximadamente, 4, 2 e 8 vezes mais baixos do que os obtidos por ICP OES.

Os autores consideraram, então, difícil explicar esses resultados, mas propõem que podem estar relacionados às diferenças nos tempos de integração e sistemas de introdução da amostra empregados. Outro aspecto discutido é o fato de que o equipamento empregado é capaz de monitorar os sinais de emissão sequencialmente em diferentes posições do plasma, permitindo a determinação dos analitos nas suas condições instrumentais ótimas. Este aspecto é diferente para a maioria dos ICP, os quais utilizam uma condição de compromisso para todos os analitos. Quanto às faixas dinâmicas lineares (LDR, do inglês *Linear Dynamic Range*), essas foram menores do que as obtidas por ICP OES, possivelmente devido à efeitos de autoabsorção como justificado pelos pesquisadores. Os LODs foram de 0,3-60 µg L<sup>-1</sup> ou 4-1700 µg kg<sup>-1</sup>. Testes de adição e recuperação foram realizados e recuperações de 84-123% foram obtidas. Os autores concluem ressaltando que a técnica MIP OES é mais vantajosa que a F AAS, por não precisar de uma fonte de gás separada e apresentar, nesse trabalho, LODs mais baixos.

### 2.6.1. Aplicações envolvendo geração de espécies voláteis

Zhao et al. (2015)<sup>133</sup> determinaram Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ni e Pb em couro e peles provenientes de diversas fábricas da China empregando MIP OES. Nesse trabalho, o preparo de amostra consistiu na decomposição ácida assistida por radiação micro-ondas e empregou-se um sistema de introdução da amostra multimodo desenvolvido pela *Agilent* (Figura 2.2).

**Figura 2.2.** Diagrama esquemático do sistema multimodo de introdução da amostra empregado em MIP OES.



Fonte: Zhao et al., (2015) (Modificado)

Esse tipo de sistema permite tanto a geração química de vapor (Hg) como a introdução de amostra através de nebulização pneumática (Cd, Co, Cr, Cu, Ni e Pb) sem a necessidade de troca do sistema de introdução da amostra. A exatidão e a precisão do método analítico foram avaliadas pela determinação dos analitos em uma amostra de material de referência certificado (CRM) de couro, GSB 16-3087-2013. Os percentuais de concordância para esse CRM variaram de 98,1 a 102,6%. Os limites de detecção (LoD) obtidos foram calculados como sendo três vezes o desvio padrão de 10 medidas das soluções dos brancos, e comparados com os obtidos por ICP OES. Apenas uma pequena diferença foi observada entre os valores LoD obtidos por ambas as técnicas, o que indicou para os autores que a performance da técnica MIP OES era comparável com o emprego da técnica ICP OES. Um total de 23 amostras diferentes de couro e peles foram analisadas e os resultados também comparados entre as duas técnicas. Utilizou-se análise da variância (ANOVA) para avaliação de diferença estatística significativa entre esses resultados. Para algumas amostras, os autores encontraram diferenças estatísticas significativas, as quais foram justificadas pela falta de homogeneidade das amostras de couro e pele. <sup>133</sup>

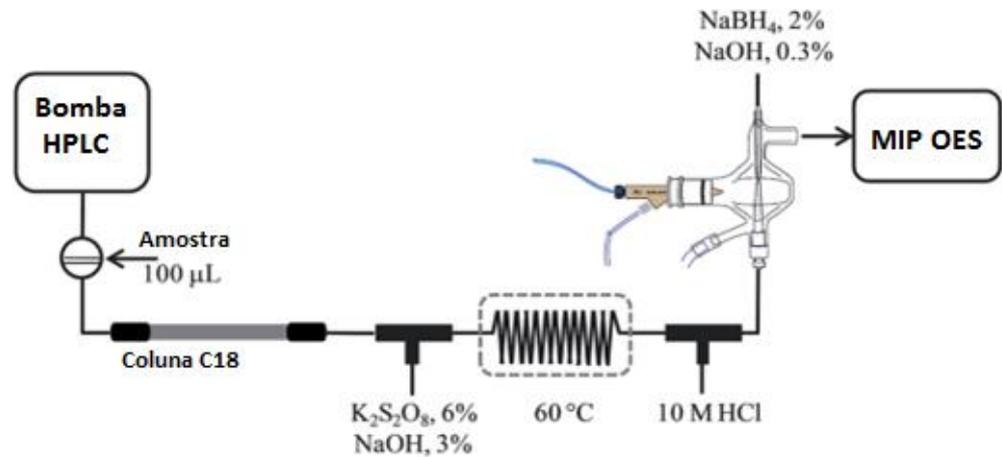
### 2.6.2. Aplicações envolvendo análises de especiação química

O desenvolvimento de métodos analíticos que permitam a análise de especiação química ganhou cada vez mais importância e notoriedade nos últimos anos. Os avanços instrumentais permitiram que a quantificação de espécies em concentrações cada vez mais baixas, fosse possível bem com o acoplamento de técnicas de separação e a detecção permitiu não só a quantificação, como a identificação dessas espécies.<sup>134</sup>

Segundo a União Internacional de Química Pura e Aplicada (*International Union of Pure and Applied Chemistry*, IUPAC), “espécie química” é a forma específica de um elemento químico, definida em relação à composição isotópica, ao estado eletrônico ou de oxidação e/ou à estrutura molecular ou complexo. Portanto, o termo “análise de especiação” pode ser interpretado como a atividade analítica para identificar e/ou quantificar uma ou mais espécies em uma amostra.<sup>135, 90</sup>

Nesse sentido, Barrientos et al. (2016)<sup>136</sup> desenvolveram o primeiro acoplamento entre a técnica de separação cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC, do inglês *Liquid Chromatography*) seguida de uma derivatização por geração de hidretos (HG, *Hydride Generation*) e detecção por MIP OES. Os autores desenvolveram uma nova metodologia de análise de especiação química para identificação e quantificação de espécies de selênio, selênio inorgânico, Se (IV) e a selenometionina, SeMet, em leveduras fortificadas com selênio. Para essa análise, as leveduras foram hidrolisadas conforme o seguinte procedimento: cerca de 100 mg da biomassa foi misturada com 2 mL de ácido metanossulfônico  $4 \text{ mol L}^{-1}$  e essa mistura foi aquecida à temperatura de  $120 \text{ }^\circ\text{C}$ , com refluxo por 16 horas. O hidrolisado obtido foi, então, evaporado e o resíduo foi solubilizado em 10 mL de ácido heptafluorobutírico (HFBA)  $0,08 \text{ } \%$  e  $1 \text{ } \%$   $\text{m v}^{-1}$  para a detecção por MIP OES e ICP-MS, respectivamente. A separação cromatográfica foi realizada através de uma coluna com uma fase móvel contendo  $0,08 \%$   $\text{m v}^{-1}$  de HFBA e metanol (92:8) numa vazão de  $1 \text{ mL min}^{-1}$ . Anteriormente à geração de hidretos, o eluente da coluna foi misturado em linha com uma solução alcalina de persulfato de potássio ( $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$   $6 \text{ m v}^{-1}$ , NaOH  $3 \%$   $\text{m v}^{-1}$ ) para, em seguida, passar através de uma bobina de reação, a qual estava imersa em banho de água à  $60 \text{ }^\circ\text{C}$ . Posteriormente,  $10 \text{ M}$  de HCl foi adicionado à mistura antes da etapa de geração de hidretos. No sistema de introdução de amostra multimodo, houve a geração de hidretos através da adição da solução de borohidreto ( $\text{NaBH}_4$   $2 \%$   $\text{m v}^{-1}$ , NaOH  $0,3 \%$   $\text{m v}^{-1}$ ) para posterior detecção por MIP OES. Todo esse procedimento encontra-se esquematizado na Figura 2.3.

**Figura 2.3.** Diagrama esquemático do acoplamento HPLC-HG-MIP OES.



Fonte: (Barrientos *et al.*, 2016) (modificado).

Esse procedimento proposto por Barrientos *et al.* (2016) foi testado pela análise de um padrão de levedura fortificada com selênio conhecido como *Seleno Excell*®. Os resultados obtidos por HPLC-HG-MIP OES foram concordantes com os relatados pelo fornecedor bem como os obtidos por HPLC-ICP-MS. O método analítico proposto foi aplicado para análise de culturas de leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*) usadas na produção de fermento de padreiro. Essas culturas cresceram na presença de selenito de sódio para serem biofortificadas por Se e por fim, serem comercializadas como suplementos de Se na dieta humana. Essas amostras também foram analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada com ICP-MS (HPLC-ICP-MS, do inglês *High Pressure Liquid Chromatography coupled to ICP-MS*) e os resultados foram concordantes com os obtidos pela metodologia proposta. Os autores concluem que o procedimento simples e com bom custo-benefício proposto provou ser eficiente para amostras reais e pode ser usado no processo de produção dessa matriz biofortificada. É possível avaliar também, portanto, que a técnica MIP OES acoplada com uma técnica de separação tem potencialidades que podem ser exploradas para análises de especiação química, de um modo geral.

### 2.6.3 Aplicações em amostras ambientais

Kamala et al. (2014)<sup>125</sup> investigaram a performance do MIP OES e seu potencial como ferramenta analítica para estudos ambientais, com exemplos práticos de setores industriais contaminados da cidade de Hyderabad, Índia. Amostras de solo, sedimento, água e material particulado atmosférico foram coletadas dessa região. Os resultados obtidos de elementos majoritários, minoritários e traço por MIP OES foram comparados com os de ICP-MS, sendo considerados similares entre si. A discussão acerca dos resultados mostrou-se precária em termos de informações sobre a performance analítica do MIP OES, tal como foi sugerida pelos autores como proposta do trabalho. Não foram discutidas, por exemplo, os limites de detecção, precisão, faixa linear de trabalho, entre outros parâmetros, com outras técnicas rotineiramente empregadas para análises em amostras ambientais. Como a técnica MIP OES é relatada por ser suscetível a efeitos de matriz, até mesmo mais pronunciáveis que o ICP OES, não foram também apresentados estudos nesse quesito.<sup>125</sup>

### 2.6.4 Aplicações em amostras geológicas

Niedzielski et al. (2015)<sup>49</sup> apresentaram a aplicação da nova técnica analítica (MIP OES) empregando o espectrômetro *Agilent 4100* na determinação de 23 elementos (Ag, Al, B, Ba, Bi, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, Ga, In, K, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Pb, Sr, Tl, Zn) em amostras geológicas. Três procedimentos de preparo de amostra foram propostos: (i) decomposição da amostra com ácido fluorídrico, (ii) extração com água régia e (iii) com ácido clorídrico. Para obtenção do maior sinal analítico, os autores otimizaram a pressão do gás de nebulização e a posição da observação do plasma para cada elemento. Os resultados de concentração de cinco amostras geológicas obtidos por MIP OES foram comparados com os obtidos por técnicas independentes: XRF e F AAS. Com relação à XRF, foi encontrada uma boa conformidade entre os resultados para ambos os métodos analíticos, cerca de 92 a 115%. Os resultados encontrados pela técnica F AAS também foram similares aos encontrados por MIP OES. Os testes estatísticos indicaram que não havia diferenças significativas entre os resultados. Os limites de detecção encontrados foram de 0,001-0,121 mg L<sup>-1</sup>, a depender do procedimento utilizado. Na avaliação da exatidão do método, os seguintes materiais de referência certificados foram utilizados: BCR667 (sedimento estuarino), NIST2709 (solo) e IAEA405 (sedimento estuarino do estuário Tagus, Portugal). Os percentuais de concordâncias obtidas foram de 85-115%. Segundo os autores, a boa exatidão e precisão obtidas com as análises por MIP OES fazem com

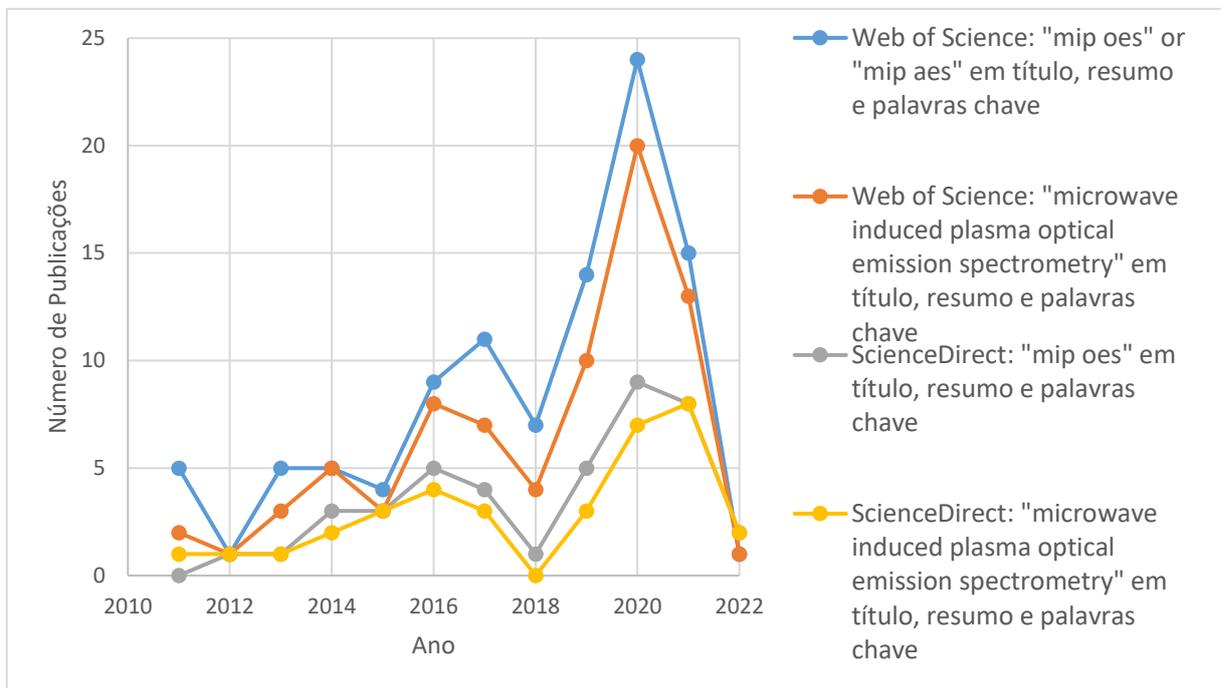
que a técnica seja recomendada na determinação dos elementos propostos em amostras geológicas.<sup>49</sup>

### 2.6.5. Estudos e novas aplicações empregando o MIP OES

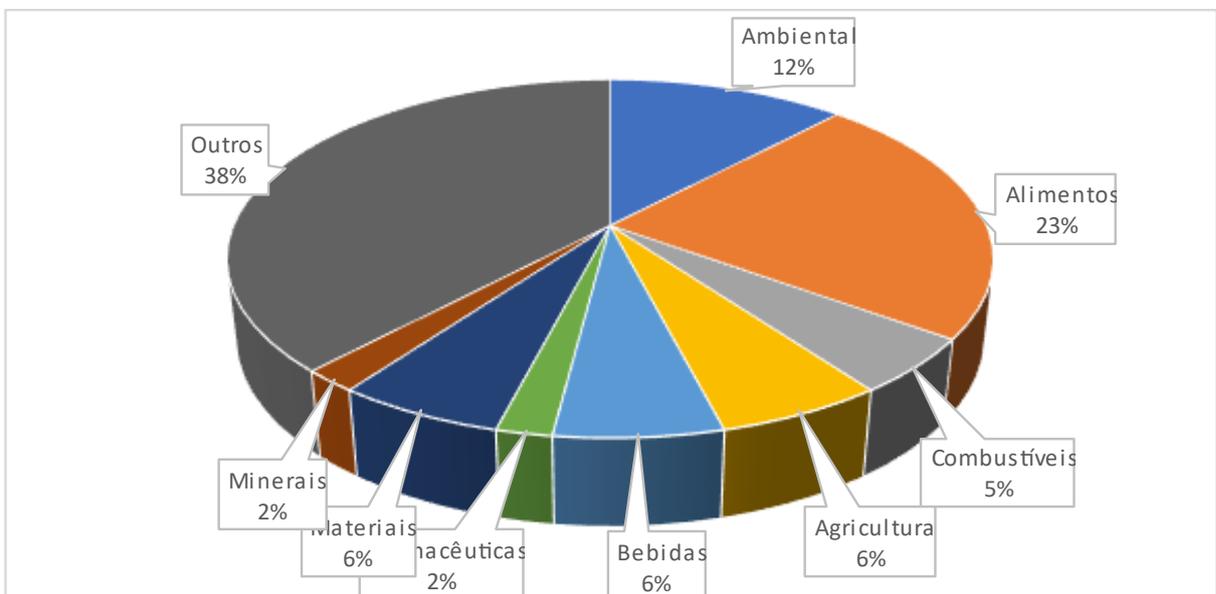
Conforme já mencionado, a técnica de MIP OES opera a temperatura mais baixa em comparação com ICP OES. Portanto, quando amostras de matrizes complexas são analisadas por MIP, é possível que seja necessária a utilização de algumas estratégias de calibração em que haja uma correspondência com a matriz. Cruz et al (2019)<sup>137</sup> determinaram macro e microelementos em vinhos tintos oriundos do México através da diluição como preparo de amostra. Devido ao sinal de fundo presente nas medidas e diferente para cada amostra, três estratégias de calibração foram exploradas: (1) adição de analito (SA, do inglês *Standard Additions*), análise por diluição de padrão (SDA, do inglês *Standard Dilution Analysis*) e calibração por multi-energia (MEC, do inglês *Multi-Energy Calibration*). Em particular, a análise por diluição padrão (SDA) faz uso de padrão interno (IS, do inglês *internal standard*) e é baseado no sinal em tempo real adquirido durante a incorporação da amostra diluída na solução à qual foram adicionados padrões de analitos e de padrão interno. A concentração do analito é calculada a partir da concentração do padrão adicionado e da inclinação da equação da reta empregando a análise de regressão linear relacionando a razão de intensidades de analito contra o inverso do padrão interno em diferentes pontos de diluição. No segundo método, utilizando a MEC, sinais do analito em duas soluções de amostra, com e sem adição de padrão, são adquiridos em diferentes comprimentos de onda, correspondendo às linhas espectrais características para cada elemento. Para os macros elementos, a calibração recomendada pelos autores foi a SDA e para os micro elementos, a MEC.<sup>137</sup>

Com base nas Figuras 2.4 e 2.5, é possível verificar que, ao longa da última década, as publicações empregando o MIP OES vêm aumentando, sendo os anos de 2019 e 2020 os com os maiores números de trabalhos publicados. Os termos utilizados nessa pesquisa foram “mip oes”, “mip aes” e “microwave induced plasma optical emission spectrometry” nas plataformas Web of Science e Science Direct. A Figura 2.5 apresenta quais as matrizes mais estudadas no período citado, sendo a matriz de alimentos a com maior porcentagem. Em segundo e terceiro lugar estão as matrizes ambientais e às relacionadas com a agricultura, respectivamente. A porcentagem “Outros” de 38% refere-se à trabalhos que avaliaram as aspectos instrumentais da técnica assim como diferentes técnicas de calibração.

**Figura 2.4.** Número de publicações empregando MIP OES no período de 2010 - 2022.



**Figura 2.5.** Porcentagem das diferentes matrizes analisadas empregando MIP OES no período de 2010 até 2022.



## *CAPÍTULO 3*

---

*Determinação multielementar em  
sopas instantâneas por MIP OES*

### 3. DETERMINAÇÃO MULTIELEMENTAR EM SOPAS INSTANTÂNEAS POR MIP OES

#### 3.1 Introdução e Revisão Bibliográfica

##### 3.1.1. Aplicações analíticas empregando MIP OES em alimentos

Até o momento, a técnica MIP OES vem sendo amplamente empregada e divulgada através de diversos estudos publicados para análises químicas em diferentes matrizes. Nessa revisão, somente as aplicações publicadas envolvendo alimentos, encontram-se, resumidamente, compiladas na Tabela 3.1. De forma, a discuti-las de maneira detalhada, somente as mais relevantes e recentes foram escolhidas do ano de 2010 até o presente momento, fevereiro de 2022

Ozbek e Akman (2016)<sup>50</sup> propuseram o emprego da técnica MIP OES para a determinação de Ca, K e Mg em diferentes tipos de queijo. Os limites de detecção obtidos foram de 0,036; 0,012 e 0,019  $\mu\text{g mL}^{-1}$  para Ca, K e Mg, respectivamente. Cerca de 21 amostras de queijo foram analisadas por MIP OES e F AAS e não houve diferença estatística significativa entre os resultados. As concentrações de Ca, K e Mg em vários tipos de amostras de queijo produzidos em diferentes regiões da Turquia foram encontrados entre 1,03-3,70; 0,242-0,784 e 0,081-0,303  $\text{g kg}^{-1}$ , respectivamente.<sup>50</sup>

Ozbek e Akman (2016)<sup>51</sup> desenvolveram um novo método para a determinação de Ca, Cu, Mg, Mn, Fe, K, P e Zn em diferentes tipos de pães. As amostras de pães foram submetidas a um procedimento de decomposição ácida em sistema aberto após a secagem à 100 °C por 2 dias e moídas em moinho de bola. O teor de sólidos dissolvidos máximo usado nesse estudo foi de 4%. Os LOD encontrados para Cu, Fe, Mn e Zn foram comparáveis e até melhores do que outros trabalhos com MIP OES numa versão anterior do equipamento. Segundo os autores, as concentrações dos analitos em diferentes tipos de pães produzidos na Turquia não foram diferentes dos reportados em trabalhos anteriores pela literatura.<sup>51</sup>

Savoie, St-Louis e Clément (2018)<sup>52</sup> propuseram um método analítico para a determinação de mercúrio por espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas com vapor frio (CV-MIP OES) em amostras de peixe (*Salmo salar*) oriundas do Atlântico. As amostras foram submetidas à um procedimento de decomposição ácida assistido por radiação micro-ondas utilizando uma mistura de  $\text{HNO}_3$  com  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Foi utilizado a presença de  $\text{NaBH}_4$  como agente redutor através do sistema multimodo de introdução de amostra (MSIS)

para a quantificação de Hg. A exatidão do método foi avaliada pela análise do material de referência certificado de proteína do peixe (CRM, DORM-3) e foi obtida uma concordância de 88%. Os resultados para as amostras pelo método proposto foram comparados com os da quantificação através da técnica de espectrometria de fluorescência atômica com vapor frio (CV-AFS) e não houve diferença significativa entre os resultados. Os autores concluíram que o procedimento desenvolvido pode ser usado para quantificar, com precisão, o mercúrio a níveis de concentrações baixas, nas regiões do norte do planeta.<sup>52</sup>

Lemos et al (2019)<sup>53</sup> avaliaram três procedimentos de digestão ácida assistido por micro-ondas utilizando a mistura com HNO<sub>3</sub> diluído, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e água para a determinação de Cu, Fe, K, Mg, Mn e Zn em amostras de crustáceos. O procedimento adotado utilizou as quantidades de 4 mL de HNO<sub>3</sub>, 4 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e 4 mL de H<sub>2</sub>O na digestão. O carbono e concentração ácida residual obtidos foram de 5,85% e 2,94 mol L<sup>-1</sup>, respectivamente. A partir dos resultados obtidos, pode-se inferir que camarões e caranguejos contribuem substancialmente com relação aos valores diários de ingestão recomendados dos analitos, principalmente para Cu e Zn.<sup>53</sup>

De Souza et al (2019)<sup>55</sup> determinaram a concentração total e a fração bioacessível de Al, Ba, Bi, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Pb, Ti e Zn em amostras de cereal infantil. As curvas de calibração externa foram preparadas usando soluções padrão aquosas em 2% (v/v) de HNO<sub>3</sub>. O método de digestão in vitro também foi utilizado neste trabalho. As concentrações obtidas foram menores do que a ingestão diária recomendada para elementos essenciais. Com relação aos metais tóxicos, suas concentrações estavam abaixo do limite de detecção do método, com exceção de Pb que foi quantificado em duas amostras.<sup>55</sup> Jacobs et al (2021)<sup>56</sup> também avaliaram a concentração total e a fração bioacessível de metais em alimentos empregando MIP OES. As concentrações totais de Ba, Bi, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mn, Pb e Zn e as frações bioacessíveis de Ba, Cu, Fe, Mn, Pb e Zn foram determinadas em cascas de uva. Em relação à fração bioacessível, observou-se que a quantidade liberada para absorção pelo organismo não é suficiente para a necessidade diária desses elementos.<sup>56</sup>

Sá et al (2019)<sup>57</sup> extraíram As, Cd, Cr, Cu, Hg, Pb e Zn em amostras de peixe e carne através da extração em fase sólida (SPE, do inglês *Solid Phase Extraction*). O procedimento baseou-se na separação e pré-concentração dos analitos em sílica funcionalizada com *p*-ácido aminobenzóico (PABA-MCM-41). Fatores que afetam diretamente o procedimento de SPE como pH, concentração de tampão, fluxo de amostra e fluxo de eluição foram avaliados através de um planejamento fatorial (2<sup>4</sup>). Os limites de quantificação (LOQ) obtidos foram de 9,6; 2,8;

0,1; 0,2; 1,5; 13,3 e 3,9  $\mu\text{g g}^{-1}$  para As, Cd, Cr, Cu, Hg, Pb e Zn, respectivamente. Apesar de baixos, os LQQ obtidos estão acima dos limites máximos permitidos pela legislação para esse tipo de amostra. Contudo, os autores destacaram que esse novo procedimento representa uma alternativa econômica quando comparado com outros que empregam técnicas instrumentais de alto custo, tais como ICP OES e ICP-MS.<sup>57</sup>

Ozbek et al (2019)<sup>58</sup> desenvolveram um procedimento prático para a determinação de Al, B, Ca, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na, Ni e Zn em amostras de arroz. O procedimento consistiu na pesagem de 0,1 g de arroz, adição de 10 mL de  $\text{HNO}_3$  concentrado e digestão em placa aquecedora à 100 °C por 2 horas. Para todas as determinações, padrões aquosos foram utilizados para a calibração externa. As concentrações dos analitos nas amostras de arroz estavam abaixo dos valores diários de ingestão recomendados, com exceção das obtidas para B, Co, Cr e Mo que foram abaixo dos limites de detecção.<sup>58</sup>

Pinto et al (2019)<sup>59</sup> desenvolveram um método analítico para a determinação de Al, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, Hg, K, Mg, Na e Zn em amostras de frango e peru. As amostras foram submetidas à decomposição ácida com adição de 7,5 mL de ácido nítrico concentrado em sistema aberto, bloco digestor, à 160 °C por 180 min. Os autores utilizaram dois sistemas de nebulização: convencional concêntrico com nebulizador OneNeb e o sistema multimodo de nebulização e geração de vapor (MSIS). As concentrações obtidas dos analitos estiveram abaixo da ingestão diária recomendada.<sup>59</sup>

Sampaio et al (2020)<sup>60</sup> determinaram a concentração de Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn e Na em produtos derivados da cana-de-açúcar, tais como açúcares de diferentes tipos e produtos derivados como melão e doces. A decomposição ácida das amostras foi realizada através de: (1) adição de 5 mL de  $\text{HNO}_3$  concentrado em 1 g de amostra e (2) aquecimento em bloco digestor com sistema de refluxo por 4 h em 150 °C. Segundo os autores, o procedimento de preparo de amostra se mostrou eficiente para esse tipo de amostra, visto que se evidenciou baixos valores de acidez remanescente, teor de sólidos dissolvidos e teor de carbono residual de 0,22 %.<sup>60</sup>

Pistón et al (2020)<sup>61</sup> empregaram a técnica MIP OES para a determinação dos teores de Cu, Fe, Mn, Ni e Zn em três cortes de carne bovina uruguaia cozida a dois graus de cozimento (médio e bem passado). Segundo os autores, quando a perda de peso das amostras não excedia 16%, o que envolvia um cozimento médio, as perdas dos micronutrientes foram insignificantes. No entanto, quando a perda de peso foi de 28-35%, a partir de um cozimento considerado como bem passado, a retenção desses micronutrientes diminuiu. Ainda de acordo com os autores, o

MIP OES revelou-se como uma técnica econômica e ecológica para a determinação de elementos traço em carne bovina com LODs de 0,17; 4,2; 0,02; 0,056 e 0,42 mg kg<sup>-1</sup> para Cu, Fe, Mn, Ni e Zn, respectivamente.<sup>61</sup>

Bonemann et al (2021)<sup>62</sup> apresentaram em seus estudos informações sobre a concentração total e bioacessível de Ba, Ca, Cd, Cu, Fe, Hg, K, Mg, Mn, Mo, Pb e Zn em diferentes cultivos de tomate e em seus derivados, extrato e molho de tomate. Para estimar a fração bioacessível desses metais, o método da digestão *in vitro* foi utilizado, que consiste em simular as três etapas do sistema digestivo humano: boca, estômago e intestino. Cobre, Fe, Mn e Zn apresentaram frações bioacessíveis que variaram de 25 a 100%. Quanto aos elementos tóxicos, no tomate, molhos e extratos, o Pb foi encontrado em concentrações maiores do que o permitido, indicando problemas de contaminação durante o processamento desses produtos.<sup>62</sup>

**Tabela 3.1.** Trabalhos descritos na literatura empregando a espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas (MIP OES) em alimentos.

Analitos	Matriz	Procedimento de preparo da amostra	Referência
Ca, K e Mg	Queijo	<u>Decomposição ácida em sistema aberto:</u> 3 mL de HNO <sub>3</sub> (65% m v <sup>-1</sup> ) e 1 mL de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (35% m v <sup>-1</sup> ) em placa de aquecimento à 100 °C por 4-5 h.	50
Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, P e Zn	Pão	<u>Decomposição ácida em sistema aberto:</u> 3 mL de HNO <sub>3</sub> (65% m v <sup>-1</sup> ) e 1 mL de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (35% m v <sup>-1</sup> ) para 1 g de amostra em bloco digestor à 100 °C por 2h	51
Hg	Peixe	<u>Decomposição ácida em sistema fechado assistido por radiação micro-ondas:</u> 10 mL de HNO <sub>3</sub> e 1 mL de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> para 500 mg de amostra. Temperatura máxima de 160 °C por 10 min.	52
Cu, Fe, K, Mg, Mn e Zn	Crustáceos	<u>Decomposição em sistema fechado assistido por radiação micro-ondas:</u> 4 mL de HNO <sub>3</sub> , 4 mL de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> e 4 mL de água para 250 mg de amostra. Temperatura máxima de 180 °C.	53
Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn e Zn	Crustáceos	<u>Decomposição em sistema fechado assistido por radiação micro-ondas:</u> 4 mL de HNO <sub>3</sub> , 4 mL de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> e 4 mL de água para 250 mg de amostra. <u>Decomposição básica em sistema aberto:</u> 1 mL de TMAH (25% m v <sup>-1</sup> ) para 250 mg de amostra. Banho ultrassônico por 30 min. 1 mL de HNO <sub>3</sub> (65 m v <sup>-1</sup> ) e banho termostático a 70 °C por 10 min.	54
Al, Ba, Bi, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Pb, Ti e Zn	Cereais infantis	<u>Decomposição ácida em sistema aberto:</u> 5 mL de HNO <sub>3</sub> concentrado para 1 g de amostra em bloco digestor à 200 °C por 1h. À temperatura ambiente, 1 mL de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> foi adicionado e a solução reaquecida por 1h à 150 °C.	55
Ba, Bi, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mn, Pb	Cascas de uva	<u>Decomposição ácida em sistema aberto:</u> 5 mL de HNO <sub>3</sub> (65% m v <sup>-1</sup> ) para 2,5 g de amostra em bloco digestor à 150 °C por 3h <u>Decomposição ácida em sistema fechado:</u> 2,5 mL de HNO <sub>3</sub> (65% m v <sup>-1</sup> ) para 250 mg de amostra em frascos de PTFE à 140 °C por 3h em bloco digestor	56
As, Cd, Cr, Cu, Hg, Pb e Zn	Peixe e carne	<u>Decomposição em sistema fechado assistido por radiação micro-ondas:</u> 8 mL de HNO <sub>3</sub> (4,2 mol L <sup>-1</sup> ) e 2 mL de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (30% m v <sup>-1</sup> ) para 100 mg de amostra. <u>Extração em fase sólida:</u> A fase sólida PABA-MCM-41 foi sintetizada e empacotada em mini-coluna. O sistema de pré-concentração foi executado em modo de fluxo.	57
Al, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, Hg, K, Mg, Na e Zn	Arroz	<u>Decomposição ácida em sistema aberto:</u> 10 mL de HNO <sub>3</sub> concentrado para 100 mg de amostra em placa de aquecimento à 100 °C por 2h	58
Al, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, Hg, K, Mg, Na e Zn	Peito de frango e peru	<u>Decomposição ácida em sistema aberto:</u> 7,5 mL de HNO <sub>3</sub> (65% m v <sup>-1</sup> ) para 2g de amostra em bloco digestor à 180 °C por 3h	59
Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn e Na	Produtos derivados da cana-de-açúcar	<u>Decomposição ácida em sistema aberto:</u> 5 mL de HNO <sub>3</sub> (65% m v <sup>-1</sup> ) e 1 mL de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> para 1 g de amostra em bloco digestor com dedo frio à 150 °C por 5h	60
Cu, Fe, Mn, Ni e Zn	Carne bovina	<u>Decomposição em sistema fechado assistido por radiação micro-ondas:</u> 10 mL de HNO <sub>3</sub> (4,5 mol L <sup>-1</sup> ) para 500 mg de amostra. Temperatura máxima de 200 °C por 15 min.	61

Continuação: **Tabela 3.1.** Trabalhos descritos na literatura empregando a espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas (MIP OES) em alimentos.

Analitos	Matriz	Procedimento de preparo da amostra	Referência
Ba, Ca, Cd, Cu, Fe, Hg, K, Mg, Mn, Mo, Pb e Zn	Tomate e derivados	<u>Decomposição ácida em sistema aberto:</u> 5 mL de HNO <sub>3</sub> (65% m m <sup>-1</sup> ) e 1 mL de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (35% m v <sup>-1</sup> ) para 5 g de amostra em bloco digestor à 150 °C por 4h <u>Decomposição ácida em sistema fechado:</u> 2,5 mL de HNO <sub>3</sub> (65% m m <sup>-1</sup> ) para 880 mg de amostra em frascos de PTFE à 140 °C por 4h em bloco digestor	62

### 3.1.2. Estudos envolvendo sopas instantâneas empregando diferentes técnicas

A sopa instantânea é um produto alimentício processado feito a partir da mistura de diversos ingredientes. De acordo com a literatura, existem alguns estudos foram realizados com relação aos contaminantes e componentes orgânicos das sopas. Tarbah et al (2001) investigaram a presença de pesticidas fosfatados.<sup>66</sup> Costa et al (2016) determinaram a concentração de ácidos graxos *trans* em 268 amostras de alimentos de mercado de Portugal, sendo 5 amostras de sopas instantâneas. O total de ácidos graxos *trans* encontrado nas sopas foi menor que 2 % em gordura, valor colocado como parâmetro pelos autores.<sup>67</sup>

Piknová, Janská, Siekel (2016) desenvolveram um método para a determinação de aipo (*Apium graveolens*), um ingrediente alimentício com potencial alergênico, em tempo real através de uma reação em cadeia da polimerase em bebidas e sopas desidratadas. O limite de detecção de 10 mg kg<sup>-1</sup> foi obtido a partir da contaminação artificial de bebidas e sopas com aipo.<sup>68</sup> Um método simultâneo para a determinação de piperina, capsaicina e dihidrocapsaicina em sopa de macarrão instantâneo coreano empregando cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) por Shim, Kim, Jeong (2016).<sup>69</sup> Segundo os autores, o método provou ser eficiente para a aplicação em sopas com exatidão.

Com relação à determinação de constituintes inorgânicos em sopas instantâneas, poucos estudos foram relatados, tais como determinação multielementar<sup>70</sup>, determinação de silício<sup>71</sup> e de sódio<sup>72</sup>. Além disso, há pouca informação no que diz respeito à esse tipo de constituintes relacionando aos diversos sabores em que essa matriz é comercializada e também, aos diferentes fabricantes desse produto.

## 3.2 Objetivos Específicos

Baseada na escassa informação sobre alimentos processados comercializados no Brasil em termos da composição mineral, em especial de sopas instantâneas, esse trabalho teve dois objetivos principais específicos:

(1) propor um método com um procedimento alternativo de decomposição assistido por radiação micro-ondas com ácido nítrico diluído e determinação por MIP OES e;

(2) determinar as concentrações de Cu, K, Mg, Mn, P e Zn em diferentes tipos de amostras de sopas instantâneas.

## 3.3 Parte Experimental

### 3.3.1 Reagentes, soluções e materiais

Neste trabalho, os recipientes empregados foi imersa em 10% v v<sup>-1</sup> HNO<sub>3</sub> por pelo menos 24 horas e lavado com água deionizada antes do uso. Todas as soluções foram preparadas com água deionizada com resistência de 18,2 MΩ cm, obtida de um sistema de purificação de água baseado em osmose reversa Milli-Q (Millipore Corporation, Bedford, MA, EUA). A solução concentrada de ácido nítrico (65% m m<sup>-1</sup>, Merck, Darmstadt, Alemanha) foi utilizada para a preparação das soluções de referência e para digestão das amostras, e juntamente com o peróxido de hidrogênio (30 % m m<sup>-1</sup>, Merck, Darmstadt, Alemanha) foi utilizada como fonte de oxigênio para digestão da amostra em vasos fechados. O ácido nítrico foi previamente purificado usando um aparelho de destilação (Milestone, Sorisole, Itália)

As soluções de referência padrão usadas para obter curvas de calibração externa foram preparadas a partir de diluições de soluções de estoque de cada elemento na concentração de 1000 mg L<sup>-1</sup> para Cu, Mn e Zn e 4000 mg L<sup>-1</sup> para K, Mg e P (SpecSol, Quimlab Química e Metrologia, São José dos Campos, SP, Brasil). As concentrações das soluções padrão da curva de calibração externa variaram de 0,1 a 10,0 mg L<sup>-1</sup> para Cu, Mn e Zn pelo MIP OES. Para K e P, as concentrações de soluções de padrão utilizadas nas curvas de calibração externa variaram de 10 a 100,0 mg L<sup>-1</sup> e para Mg, de 1 a 20,0 mg L<sup>-1</sup>. O nitrogênio (99,999% de pureza) foi fornecido pelo gerador N<sub>2</sub> (modelo 4107, Agilent Technologies, Melbourne, Austrália) e usado como gás de plasma.

### 3.3.2 Amostras de sopas instantâneas

Dezenove tipos de sopas instantâneas de diferentes sabores, produzidas no Brasil foram adquiridos em cinco estabelecimentos comerciais da cidade de Salvador, Bahia, Brasil. Para cada tipo/sabor de sopa, cinco pacotes de sopas desse mesmo tipo/sabor foram adquiridas. As amostras investigadas foram de quatro fabricantes diferentes e estão identificadas na Tabela 3.2.

**Tabela 3.2.** Código das amostras e respectivos sabores e marcas.

<b>Código</b>	<b>Sabor da Sopa Instantânea</b>	<b>Marca</b>
ISS1	Sopa de creme de queijo	1
ISS2	Sopa de costela com legumes	2
ISS3	Sopa de galinha com macarrão	1
ISS4	Sopa de macarrão com legumes	3
ISS5	Sopa de carne com macarrão	3
ISS6	Sopa de galinha com arroz	2
ISS7	Sopa de carne bovina de panela	2
ISS8	Sopa de carne com macarrão	1
ISS9	Sopa de creme com legumes	1
ISS10	Sopa de creme de cebola	3
ISS11	Sopa de carne com legumes	2
ISS12	Sopa de galinha com macarrão	3
ISS13	Sopa de galinha	2
ISS14	Sopa de creme de frango	1
ISS15	Sopa de feijão com macarrão	4
ISS16	Sopa de galinha com macarrão	1
ISS17	Sopa de creme de queijo	3
ISS18	Sopa de vegetais verdes	3
ISS19	Sopa de creme de espinafre	3

### 3.3.3 Instrumentação

Todas as experiências foram realizadas usando espectrômetro de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas (modelo MIP OES 4200, *Agilent Technologies* Melbourne, Austrália) equipado com um gerador de N<sub>2</sub> (modelo 4107, *Agilent Technologies* Melbourne, Austrália). Este equipamento operou com uma potência de radiofrequência fixa de 1,0 kW e uma frequência de micro-ondas de 2450 MHz. O sistema de introdução de amostras foi composto por um nebulizador do tipo *One-Neb* e câmara de nebulização do tipo concêntrica (*Agilent Technologies* Melbourne, Austrália). Na Tabela 3.3, os parâmetros instrumentais bem como as condições operacionais utilizadas em todas as análises das sopas instantâneas estão apresentados. Esse trabalho foi realizado em parceria com o IFBaiano, *campus* Catu.

Todas as massas foram medidas usando uma balança analítica (Sartorius, Göttingen, Alemanha) com uma precisão de 0,001 g.

**Tabela 3.3.** Condições operacionais empregadas nas análises de sopas instantâneas por MIP OES.

Parâmetro Instrumental	Condição Operacional
Frequência de micro-ondas (MHz)	2450
Potência de micro-ondas (kW)	1,0
Nebulizador	<i>One-Neb</i>
Câmara de nebulização	Concêntrico
Tempo de integração (s)	3
Velocidade da bomba peristáltica (rpm)	15
Número de réplicas	3
Tempo de estabilização (s)	15
Correção de fundo	Auto

### 3.3.4 Preparo das amostras

Inicialmente, as amostras foram trituradas e homogeneizadas em um moinho de bolas (8000M Mixer/Mill, Spex SamplePrep, Metuchen, NJ, EUA). Aproximadamente

uma massa de 500 mg de amostra de sopa instantânea foi medida em triplicata em frascos de PFA<sup>®</sup>. Realizou-se a decomposição ácida assistida por radiação micro-ondas empregando forno de micro-ondas com cavidade (ETHOS EZ, Milestone) utilizando 1,0 mL de HNO<sub>3</sub> 65% m m<sup>-1</sup>, 6,0 mL de água deionizada e 1,0 mL de peróxido de hidrogênio a 30% m m<sup>-1</sup>. Esses frascos foram fechados e colocados na cavidade do forno de micro-ondas com cavidade para aplicar o seguinte programa de aquecimento conforme descrito na Tabela 3.4.

### 3.4. Programa de aquecimento do forno de micro-ondas utilizado na decomposição ácida das amostras de sopas instantâneas.

Etapa	Temperatura (°C)	Rampa (min)	Potência máxima (W)
1	120	10	750
2	120	3	750
3	200	13	1000
4	200	14	1000

Uma vez concluída a irradiação de micro-ondas, os frascos permaneceram sob ventilação por mais 10 minutos no forno. Posteriormente, as soluções digeridas foram transferidas para tubos do tipo *Falcon* e seus volumes foram ajustados para 15,0 mL com água deionizadas. As soluções dos brancos analíticas e dos materiais de referência certificados foram submetidas a esse mesmo procedimento. Todos foram preparados em triplicata.

### 3.3.5 Desempenho do método analítico

Neste trabalho, os materiais de referência certificados de folhas de macieira (NIST 1515), farinha de arroz (NIST 1568b) e farinha de soja (NIST 3234) obtidos do *National Institute of Standards and Technology* ((NIST, Gaithersburg, MD, EUA) foram empregados para avaliação da exatidão do método analítico proposto. Esses três materiais de referência certificados foram escolhidos com o intuito de cobrir a ampla variedade de composição das sopas instantâneas, já que a quantidade de componentes utilizados na elaboração das sopas pelos fabricantes é diversificada (ou seja, vegetais e carne

desidratados, especiarias, farinha, macarrão, leite em pó e outros), uma vez que não existe CRM específico dessa matriz.

Avaliaram-se outros parâmetros de desempenho do método analítico: limites de detecção e quantificação e precisão. Os limites de detecção (LODs) e quantificação (LOQs) foram construídos a partir do desvio padrão resultante da análise de 10 soluções dos brancos analíticos, conforme recomendado pela União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC, LOD:  $3\sigma$  de 10 repetições de soluções analíticas em branco; LOQ:  $10\sigma$  de 10 réplicas de soluções do branco analítico) (IUPAC, 2019).<sup>73</sup>

A precisão foi avaliada aplicando-se um teste de repetitividade, no qual foram medidas 10 repetições de uma amostra instantânea de sopa de sabor de carne de panela para posterior decomposição ácida e análise instrumental.

### **3.3.5.1 Teste de adição e recuperação**

Teste de adição e recuperação também foi realizado a fim de avaliar a eficiência da decomposição ácida, uma vez que baixas recuperações dos analitos poderiam representar algum tipo de perda durante essa etapa do método. Uma outra razão para essa avaliação foi averiguar possíveis efeitos de matriz de modo que havendo esses efeitos, as intensidades dos sinais de emissão dos analitos seriam afetadas ocasionando em recuperações fora da faixa de 80 a 120%, considerada como adequada segundo a *AOAC International Official Methods* (AOAC International, 2012).<sup>74</sup> As alíquotas referentes à concentração dos analitos foram adicionadas previamente à etapa de decomposição ácida.

## **3.4 Resultados e Discussão**

### **3.4.1 Otimização do MIP OES**

Os dois parâmetros mais críticos do plasma de nitrogênio são a taxa de fluxo do gás de nebulização e a posição de observação do plasma, sendo também os únicos parâmetros passíveis de alteração pelo software do equipamento. Esses parâmetros foram automaticamente otimizados de forma univariada pelo *MP Expert Software* (Agilent Technologies, Mulvare, Austrália) do espectrômetro. O plasma é visto de cima e o parâmetro da posição de observação do plasma foi otimizado em uma faixa da posição -

120 a 120, com o centro da tocha equivalente à posição 0. A vazão de fluxo do gás de nebulização foi otimizada em uma faixa que variou de 0,2 a 1,0 L min<sup>-1</sup>. Essa otimização foi realizada através de uma aspiração contínua de uma solução multielementar na concentração de 1 mg L<sup>-1</sup> de Cu, K, Mg, Mn, P e Zn. Os comprimentos de onda de emissão atômica foram selecionados com base na sensibilidade e indicação do próprio do *software* do equipamento. Esses comprimentos de onda de cada elemento químico, as condições de vazão de gás de nebulização e a posição de observação do plasma otimizadas empregadas estão listadas na Tabela 3.5.

**Tabela 3.5.** Comprimentos de ondas, condições operacionais otimizadas dos parâmetros de posição de observação do plasma e vazão do fluxo de gás de nebulização empregados nas análises químicas de sopas instantâneas por MIP OES.

Elemento	Comprimento de onda (nm)	Posição de observação do plasma	Vazão de fluxo do gás de nebulização (L min <sup>-1</sup> )
Cu	324,754	0	0,75
K	769,897	0	0,30
Mg	285,213	-10	0,75
Mn	403,076	0	0,90
Mn	257,610	-10	0,75
P	213,618	-10	0,50
Zn	213,857	20	0,55

Neste trabalho, o espectrômetro de emissão atômica com plasma induzido por micro-ondas empregado opero com uma potência aplicada por micro-ondas de 1 kW. Em comparação com o ICP OES convencional de argônio, o MIP OES apresenta uma temperatura relativamente baixa dos gases no plasma (cerca de 5000 K). Consequentemente, podem ocorrer graves efeitos matriciais, especialmente para matrizes com alto teor de carbono.<sup>23</sup> Além disso, o total de sólidos dissolvidos (TDS, do inglês *Total Dissolved Solids*) deve ser avaliado. O fabricante recomenda que as soluções a serem aspiradas não excedam o limite de 4% do TDS para evitar o bloqueio da tocha causado pelo excesso de deposição de sólidos. Consequentemente, é importante adotar um fator de diluição adequado para as amostras digeridas. A diluição das amostras digeridas contribui para o controle dos efeitos da matriz e do TDS. No entanto, deve-se

evitar uma diluição excessiva dos digeridos para não comprometer a determinação dos analitos presentes em baixas concentrações. Isso pode se tornar um aspecto crítico principalmente para amostras com altas concentrações de sólidos dissolvidos. Considerando a sensibilidade e os ensaios de adição e recuperação, o fator de diluição e os comprimentos de onda de emissão foram cuidadosamente escolhidos. Para os microelementos (Cu, Mn e Zn) e macro elementos (K, Mg e P), os fatores de diluição adotados foram de 1,9 e 19, respectivamente. Nessas condições, o TDS para as amostras de sopas instantâneas digeridas foi de cerca de 3,3% para os microelementos.

### 3.4.1.1 Avaliação da técnica de calibração

Um estudo foi realizado a partir do teste de adição e recuperação em duas amostras de sopas instantâneas comparando duas técnicas de calibração: externa e por adição de analito. Foram avaliados somente os elementos químicos Cu, Mn e Zn, por se tratar dos elementos que estão em menores concentrações nas sopas e, portanto, mais suscetíveis a possíveis efeitos de matriz. O teste de adição e recuperação foi realizado de modo que as alíquotas dos analitos foram adicionadas previamente à etapa de decomposição ácida assistida por radiação micro-ondas. Nesses estudos, os resultados de recuperações obtidos, mostrados nas Tabelas 3.6 e 3.7, indicaram que a calibração externa pode ser utilizada como técnica do método analítico proposto, com exceção para a determinação de Mn em sopas instantâneas, considerando como faixa adequada de recuperação, em porcentagem, de 80 a 120 %.

**Tabela 3.6.** Recuperações de Cu, Mn e Zn utilizando as técnicas de calibração externa e por adição de analitos.

Amostra	Técnica de calibração	Cu	Mn	Zn
A	Externa	110 ± 3	135 ± 3	80 ± 1
	Adição de analito	104 ± 2	126 ± 2	95 ± 1
B	Externa	107 ± 1	128 ± 2	83 ± 1
	Adição de analito	106 ± 1	124 ± 2	85 ± 1

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

Diante dos resultados obtidos na Tabela 3.6, verificou-se a necessidade de mais estudos para determinação de Mn. Foi realizado um novo teste de adição e recuperação utilizando mais linhas de emissão desse elemento químico. As linhas de maior sensibilidade indicadas pelo próprio *software* do equipamento foram as escolhidas, incluindo a linha de Mn utilizada no estudo anterior. Esses resultados encontram-se expressos na Tabela 3.7.

**Tabela 3.7.** Recuperações de Mn (%) utilizando as técnicas de calibração externa e de adição de analitos e diferentes comprimentos de onda.

Linha (nm)	Mn 257,610	Mn 259,372	Mn 403,307
Amostra A	88 ± 3	89 ± 3	133 ± 3
Amostra B	89 ± 1	90 ± 1	132 ± 1

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

Com base nesses resultados, foi possível verificar que para as demais linhas de emissão de Mn estudadas obteve-se recuperação de 88 a 90%, o que são recuperações consideradas adequadas. Assim como no estudo anterior, as recuperações obtidas para linha 403,307 nm foram acima de 120%.<sup>74</sup> Possivelmente, a determinação de Mn nessa linha, em específico, esteja passível de interferências do tipo espectrais. A partir desse ponto, a linha 257,610 nm foi adotada para a determinação desse elemento para experimentos posteriores com base nos resultados de recuperações obtidos e por ser a segunda linha recomendada pelo *software* do equipamento. Diante disso, houve a necessidade de uma nova otimização dos parâmetros mais críticos do plasma para determinação de Mn nesse comprimento de onda.

### 3.4.2 Desempenho do método analítico

#### 3.4.2.1 Limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ)

Os limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) foram obtidos a partir do desvio padrão de 10 soluções do branco analíticos, conforme recomendado pela União

Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC, LOD:  $3\sigma$  e LOQ:  $10\sigma$ ).<sup>73</sup> Essas parâmetros de mérito são mostradas na Tabela 3.8.

**Tabela 3.8.** LODs e LOQs estimados em  $\text{mg kg}^{-1}$ .

Elemento/ Linha (nm)	LOD ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	LOQ ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	Trabalho <sup>70</sup>	
			Linha (nm)	LOD ( $\text{mg kg}^{-1}$ )
Cu / 324,754	0,090	0,31	324,754	0,316
K / 769,896	4,9	16	769,896	12,2
Mg / 285,213	1,0	3,4	285,213	0,129
Mn / 257,610	0,040	0,12	257,610	0,173
P / 213,618	5,4	18	178,284	1,05
Zn / 213,857	0,88	2,9	213,856	0,214

Neste trabalho, o uso de solução diluída de ácido nítrico para a decomposição da amostra e, conseqüentemente, menores fatores de diluição contribuíram para atingir limites de detecção considerados adequados. Esses resultados foram comparados com o trabalho proposto por A. Krejčová et al. (2007)<sup>70</sup> em sopas instantâneas por ICP OES. Com exceção de P, os comprimentos de onda utilizados foram os mesmos para ambos os trabalhos. Com base nos resultados, foi possível verificar que os limites de detecção obtidos neste trabalho foram menores do que os valores do trabalho referenciado, com exceção do Mg e P.

De acordo com a lei de distribuição de *Boltzmann*, LODs mais altos são esperados para baixas temperaturas do gás do plasma.<sup>75</sup> Portanto, segundo essa lei, os LOD do presente trabalho seriam maiores do que os obtidos A. Krejčová et al. (2007)<sup>70</sup> por ICP OES, o que não foi observado. Apesar de ser difícil explicar esses resultados, é possível considerar que haja uma relação acerca das diferenças entre os tempos de integração e aos sistemas de introdução e nebulização da amostra das técnicas. Uma outra possibilidade é o fato da técnica MIP OES monitorar sequencialmente cada sinal de emissão em diferentes posições previamente otimizadas do plasma, o que ocorre de maneira diferente na técnica ICP OES em que uma condição de compromisso é utilizada para todos os sinais de emissão, no modelo de equipamento utilizado neste trabalho

### 3.4.2.2 Precisão

A precisão foi avaliada aplicando-se um teste de repetitividade, no qual foram medidas 10 repetições de uma amostra instantânea de sopa para posterior decomposição ácida e análise instrumental. Os resultados de repetitividade obtidos para cada analito estão contidos na Tabela 3.9. Com base nos desvios padrão relativos (RSD) obtidos, que variaram de 3,7 (para K e Zn) a 8,4% (para Cu), pode-se avaliar que o procedimento desenvolvido foi preciso para todos os analitos. <sup>118</sup>

**Tabela 3.9.** Valores de percentagem de RSD determinações de Cu, K, Mg, Mn, P e Zn por MIP OES.

Elemento	RSD (% , n=10)
Cu	8,4
K	3,7
Mg	3,8
Mn	4,5
P	3,8
Zn	3,7

### 3.4.2.3 Curvas analíticas

Calibração é uma das etapas mais críticas e cruciais em qualquer procedimento analítico. Usualmente, requer soluções padrão de referência, as quais, idealmente, devem ser preparadas em meio similar ao das amostras para evitar efeitos de matriz. Essas soluções são utilizadas para produzir uma curva de calibração através da resposta do equipamento *versus* as concentrações conhecidas do analito. Frequentemente, é desejável que essa curva seja linear em no mínimo uma faixa de concentrações do analito. Os métodos estatísticos, tais como o método dos mínimos quadrados, são empregados para encontrar a equação matemática que descreve essa relação linear. Um parâmetro utilizado para avaliar as curvas de calibração é o coeficiente de determinação ( $R^2$ ). Quanto mais próximo  $R^2$  está da unidade, melhor o modelo linear explica as variações da resposta do

equipamento com relação à “melhor” linha reta entre os pontos de resposta e concentração da curva.<sup>76, 77</sup>

Em geral, em diversos trabalhos, observa-se que as curvas analíticas apresentam coeficientes de determinação acima de 0,999 empregando a técnica MIP OES.<sup>50-62</sup> Por exemplo, na determinação de Ca, K e Mg em queijo por Ozbek, Akman (2016)<sup>50</sup> e na determinação de Ca, Cu, Mg, Mn, Fe, K, P e Zn em pão por Ozbek e Akman (2016)<sup>51</sup>, os coeficientes obtidos também foram acima de 0,999. Neste trabalho, as curvas de calibração externa apresentaram bons coeficientes de determinação ( $R^2 > 0,997$ ). A diferença dos coeficientes obtidos com os demais publicados citados estão para os coeficientes de K e Mg, para as mesmas linhas utilizadas. Contudo, deve-se destacar que os autores dos trabalhos citados utilizaram curvas com faixas lineares de trabalho menores (LOQ – 10 mg L<sup>-1</sup>). Em trabalho publicado por Ozbek, Tinas e Atespare (2019)<sup>58</sup>, os autores realizaram a determinação multielementar em arroz, os coeficientes obtidos (K,  $R^2 = 0,996$  e Mg,  $R^2 = 0,994$ ) foram similares aos apresentados na Tabela 3.10, para K e Mg.

**Tabela 3.10.** Coeficiente de correlação linear ( $R^2$ ) e faixa linear para Cu, K, Mg, Mn, P e Zn obtidos a partir da técnica de calibração externa por MIP OES.

Elemento	Faixa Linear de	
	Trabalho (mg L <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>
Cu	0,1 – 10,0	0,9997
K	10,0 – 100,0	0,9976
Mg	1,0 - 20,0	0,9971
Mn	0,1 – 10,0	0,9994
P	10,0 – 100,0	0,9989
Zn	0,1 – 10,0	0,9998

#### 3.4.2.4 Exatidão

Materiais de referência certificados de folhas de macieira (NIST 1515), farinha de arroz (NIST 1568b) e farinha de soja (NIST 3234) foram utilizados para confirmar a

exatidão do método analítico proposto. Como já mencionado, esses três CRM foram escolhidos para cobrir a ampla variedade de composição das sopas instantâneas.

Os resultados obtidos pela análise desses materiais por MIP OES são mostrados na Tabela 3.11.

**Tabela 3.11.** Análise dos nos materiais de referência certificados para determinação de Cu, K, Mg, Mn, P e Zn por MIP OES

Elemento	Valor Certificado (mg kg <sup>-1</sup> )	Valor encontrado (mg kg <sup>-1</sup> )	Concordância (%)	RSD (%)	t-test value
<b>NIST SRM 1515 (Folhas de Macieira)</b>					
Cu	5,64 ± 0,24	5,21 ± 0,08	92,4	1,5	9,8
K	16100 ± 200	14009 ± 294	87,0	2,1	-12,3
Mg	2710 ± 80	2529 ± 81	93,3	3,3	-3,9
Mn	54 ± 3	48 ± 1	89,2	2,0	10,6
P	1590 ± 110	1378 ± 72	86,7	5,2	-5,1
Zn	12,5 ± 0,3	12,0 ± 0,6	96,4	5,0	1,3
<b>NIST SRM 1568b (Farinha de Arroz)</b>					
Cu	2,35 ± 0,16	2,32 ± 0,08	98,7	3,4	0,7
K	1282 ± 11	1136 ± 14	88,6	1,2	-18,3
Mg	559 ± 10	509 ± 5	91,1	0,8	-15,6
Mn	19,2 ± 1,8	18,1 ± 0,2	94,2	0,9	11,6
P	1530 ± 40	1486 ± 28	97,1	1,9	-2,8
Zn	19,42 ± 0,26	17,49 ± 1,01	90,1	5,8	3,3
<b>NIST SRM 3234 (Farinha de Soja)</b>					
Cu	15,34 ± 0,26	15,73 ± 0,52	102,5	3,3	-1,3
K	25010 ± 560	22086 ± 542	88,3	2,5	-9,4
Mg	3487 ± 60	3749 ± 110	107,5	2,9	4,1
Mn	36,78 ± 0,88	37,19 ± 0,78	101,1	2,1	-0,9
P	8080 ± 210	7987 ± 400	98,9	5,0	-0,4
Zn	48,9 ± 1,1	40,7 ± 0,1	83,3	0,2	156,0

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

Esses resultados estão de acordo com os valores certificados para esses materiais com percentuais concordâncias variando de 83,3 a 107,5%. Para cada CRM analisado, as

concordâncias dos analitos variaram da seguinte forma: 86,7 a 96,4% (folhas de macieira), 88,6 a 98,7% (farinha de arroz) e 83,3 a 107,5% (farinha de soja). Um teste *t* *pareado* foi aplicado e, na maioria dos casos, as concentrações determinadas estavam de acordo com os valores certificados, com um intervalo de confiança de 95%.

### 3.4.2.5 Teste de adição e recuperação

Os percentuais de recuperação para Cu, K, Mg, Mn, P e Zn são apresentados na Tabela 3.12.

**Tabela 3.12.** Valores de recuperações para o teste de adição e recuperação de Cu, K, Mg, Mn, P e Zn (em porcentagem, %) adicionadas a amostra de sopa instantânea previamente a digestão ácida assistida por micro-ondas

Elemento	Concentração adicionada na solução da amostra (mg kg <sup>-1</sup> )	Valor encontrado (mg kg <sup>-1</sup> )	Valor determinado com a adição (mg kg <sup>-1</sup> )	Recuperação (%)
Cu	3,0	0,98 ± 0,09	4,05 ± 0,01	102,1 ± 0,5
K	750	853 ± 26	1601 ± 6	99,8 ± 0,7
Mg	300	145 ± 2	442 ± 14	99,0 ± 4,5
Mn	3,0	9,6 ± 0,1	12,8 ± 0,3	106,1 ± 10,5
P	750	609 ± 14	1254 ± 29	86,0 ± 3,8
Zn	3,0	4,30 ± 0,14	7,04 ± 0,05	91,4 ± 1,6

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

Adições de analitos em diferentes concentrações foram realizadas anteriormente para digestão ácida de amostras por micro-ondas. As recuperações para todos os analitos variaram de 86,0 a 106,1%, mostrando foram recuperados quantitativamente, com erros sistemáticos desprezíveis durante a digestão em vasos fechados para nível de 95% de confiança. Essas recuperações estão entre 80 e 120%, conforme recomendado pelos métodos oficiais da *AOAC International*.<sup>74</sup> Pode-se inferir a partir desses resultados que as intensidades de emissão dos analitos não foram significativamente afetadas pelos

efeitos da matriz. Portanto, foi possível determinar com precisão todos os analitos usando a abordagem de calibração externa, o que torna o procedimento desenvolvido mais prático e mais simples para fins de análises de rotina do que outros procedimentos que exigem a aplicação do método de adição padrão para calibração.

### **3.4.3 Concentração dos elementos químicos nas amostras de sopas instantâneas**

Finalmente, foram analisadas 19 amostras de sopas instantâneas para a determinação de Cu, K, Mg, Mn, P e Zn por MIP OES. Concentrações de Cu, K, Mg, Mn, P e Zn em vários tipos de sopas instantâneas foram encontradas entre 1,31 - 13,8, 1135 - 17824, 172 - 567, 1,72 - 12,1, 608 - 1826 e 2,90 - 12,1 mg kg<sup>-1</sup>, respectivamente. Foram obtidos valores adequados de precisão, com desvios padrão relativos inferiores a 8,4%. Os resultados obtidos estão mostrados na Tabela 3.13.

**Tabela 3.13.** Concentrações dos analitos (mg kg<sup>-1</sup>) em amostras de sopas instantâneas determinadas por MIP OES.

Amostra	Sabor da Sopa Instantânea	Cu	K	Mg	Mn	P	Zn
ISS1	Sopa de creme de queijo	< 0,31	1135 ± 50	286 ± 5	2,90 ± 0,06	1826 ± 73	5,18 ± 0,22
ISS2	Sopa de costela com legumes	1,44 ± 0,11	2723 ± 95	506 ± 1	12,14 ± 0,13	1417 ± 30	12,10 ± 0,14
ISS3	Sopa de galinha com macarrão	6,49 ± 0,22	3122 ± 64	340 ± 5	5,49 ± 0,10	1029 ± 6	3,96 ± 0,05
ISS4	Sopa de macarrão com legumes	1,41 ± 0,01	3450 ± 72	456 ± 4	8,52 ± 0,13	1292 ± 11	7,93 ± 0,33
ISS5	Sopa de carne com macarrão	< 0,31	4961 ± 111	460 ± 2	7,61 ± 0,11	1357 ± 23	7,61 ± 0,11
ISS6	Sopa de galinha com arroz	1,10 ± 0,07	1172 ± 51	172 ± 3	9,10 ± 0,33	608 ± 7	4,82 ± 0,23
ISS7	Sopa de carne bovina de panela	3,52 ± 0,02	3285 ± 226	467 ± 2	9,22 ± 0,12	1121 ± 30	6,74 ± 0,13
ISS8	Sopa de carne com macarrão	1,31 ± 0,04	4892 ± 50	421 ± 6	6,74 ± 0,13	1252 ± 146	9,93 ± 1,75
ISS9	Sopa de creme com legumes	3,60 ± 0,05	5338 ± 364	434 ± 5	3,95 ± 0,07	995 ± 20	2,90 ± 0,15
ISS10	Sopa de creme de cebola	< 0,31	3657 ± 68	317 ± 9	4,33 ± 0,16	944 ± 17	< 2,93
ISS11	Sopa de carne com legumes	3,68 ± 0,27	1899 ± 22	304 ± 3	5,15 ± 0,04	894 ± 21	3,85 ± 0,11
ISS12	Sopa de galinha com macarrão	7,58 ± 0,48	2160 ± 47	307 ± 6	6,05 ± 0,06	1037 ± 16	7,65 ± 0,38
ISS13	Sopa de galinha	14,62 ± 0,71	1561 ± 69	226 ± 6	5,32 ± 0,19	702 ± 28	4,14 ± 0,35
ISS14	Sopa de creme de frango	1,54 ± 0,10	2577 ± 22	286 ± 3	3,81 ± 0,12	1030 ± 9	4,64 ± 0,17
ISS15	Sopa de feijão com macarrão	3,76 ± 0,31	17824 ± 897	567 ± 45	9,79 ± 0,18	1256 ± 64	6,57 ± 0,39
ISS16	Sopa de galinha com macarrão	4,63 ± 0,08	3400 ± 73	316 ± 4	6,25 ± 0,06	1251 ± 18	6,62 ± 0,11
ISS17	Sopa de creme de queijo	< 0,31	1519 ± 23	209 ± 3	1,72 ± 0,01	1101 ± 24	< 2,93
ISS18	Sopa de vegetais verdes	< 0,31	6210 ± 73	390 ± 3	3,03 ± 0,03	1425 ± 34	3,77 ± 0,26
ISS19	Sopa de creme de espinafre	0,52 ± 0,03	5813 ± 300	523 ± 6	8,38 ± 0,10	996 ± 20	4,49 ± 0,19

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

O cobre é um metal que participa de várias funções e sistemas biológicos, e uma variedade de processos enzimáticos. Sua deficiência gera, por exemplo, a doença de Menkes, uma desordem de origem genética que conduz a uma rápida degeneração cerebral, usualmente acompanhada por convulsões, hipotermia e retardos do crescimento.<sup>78</sup> Enquanto o excesso desse elemento ataca o fígado e o cérebro, provocando hepatite e sintomas neurológicos e psiquiátricos.<sup>79</sup> As concentrações obtidas de Cu em diferentes amostras de sopas variaram amplamente. Independentemente da marca, as maiores concentrações foram, geralmente, encontradas para as sopas instantâneas de sabor de galinha com macarrão. Por outro lado, as menores concentrações foram encontradas nas amostras de sopas de queijo, espinafre e creme de cebola.

O potássio é um mineral muito importante e essencial para o bom funcionamento do corpo, pois influencia diretamente o sistema nervoso, muscular, cardíaco e, até o equilíbrio de pH no sangue. O excesso desse elemento no sangue pode causar redução dos batimentos cardíacos, palpitações, fraqueza muscular, dormências e vômitos. Já a falta de potássio se manifesta, normalmente, como fraqueza, fadiga, câimbras musculares, formigamento, dormência, arritmia cardíaca e distensão abdominal.<sup>80,81</sup> Para as concentrações de K, os maiores valores foram encontrados em amostras contendo vegetais em sua composição, como sopa de feijão com macarrão (ISS15), sopa de vegetais verdes (ISS18) e sopa de creme de espinafre (ISS19). Esse elemento é essencial em quase todos os processos necessários para sustentar o crescimento das plantas e suas reproduções, o que explica os valores encontrados para as amostras de sopas de vegetais.<sup>78</sup> Em algumas amostras de carne com sopas de macarrão (ISS5 e ISS8), também foram obtidas altas concentrações de K em comparação com as outras amostras. Esses resultados podem ser atribuídos à substituição do cloreto de sódio pelo cloreto de potássio em alimentos industrializados por alguns fabricantes, a fim de reduzir o consumo de sódio.<sup>82</sup> Os menores valores foram encontrados nas sopas instantâneas de sabores de creme de queijo e em algumas amostras de sopas de sabor contendo galinha como componente.

O magnésio é necessário para a síntese, reprodução e síntese de proteínas de DNA e RNA, sendo o quarto mineral mais abundante no corpo humano. Além disso, é essencial para a regulação da contração muscular, pressão arterial, metabolismo da insulina, excitabilidade cardíaca, transmissão nervosa e condução neuromuscular. Baixos níveis de magnésio foram associados a uma série de doenças crônicas, como doença de Alzheimer, resistência à insulina e diabetes mellitus tipo 2, hipertensão, doença cardiovascular (por exemplo, acidente vascular cerebral), enxaqueca e transtorno de déficit de atenção e hiperatividade (TDAH).<sup>83</sup> Como observado para as concentrações de K, as maiores concentrações de Mg foram determinadas

para amostras contendo vegetais em suas composições. Para a maioria das amostras de sopas de carne, também foram encontradas altas concentrações de Mg em comparação com as outras amostras. As amostras de sopas no sabor de creme de queijo e de galinha foram as que apresentaram as menores concentrações de Mg.

O manganês é considerado de extrema importância para o metabolismo humano funcionando, principalmente, como coenzima em diversos processos biológicos. Esses processos incluem, mas não estão limitados, a metabolismo de macronutrientes, formação óssea, sistemas de defesa de radicais livres e, no cérebro, eliminação de amônia e síntese de neurotransmissores. Contudo, a ingestão superior à quantidade diária de 3 mg pode ocasionar um quadro de intoxicação conhecido por manganismo. Esse distúrbio provoca permanentemente tremores, dificuldades de coordenação motora e problemas de memória.<sup>84</sup> A maior concentração de Mn foi obtida para a sopa de costela com amostra de vegetais (ISS2) e a menor para a amostra de creme de queijo (ISS17). No entanto, nenhuma correlação clara foi encontrada entre as concentrações de Mn e os componentes da sopa. Por exemplo, as maiores concentrações de Mn foram encontradas em quatro amostras contendo ingredientes diferentes: sopa de costela com legumes (ISS2), sopa de feijão com macarrão (ISS15), sopa de carne bovina (ISS7) e sopa de galinha com arroz (ISS6).

O fósforo é o décimo segundo elemento mais abundante na crosta terrestre e é encontrado, principalmente, na forma do íon fosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ), considerado um nutriente essencial em organismos vivos. O íon fosfato está presente nas moléculas de DNA (ácido desoxirribonucleico) bem como nas de ATP (adenosina trifosfato). Um dos principais constituintes inorgânicos dos nossos dentes e ossos é a hidroxiapatita,  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ .<sup>85</sup> Diferentemente do observado para outros elementos, as maiores concentrações de P foram encontradas na amostra de sopa de sabor de creme de queijo (ISS1), na sopa de sabor de vegetais verdes (ISS18) e na maioria das amostras de sopas de macarrão, exceto nas amostras de sopa de galinha com macarrão (ISS3 e ISS12). Os valores mais baixos foram determinados para amostras de galinha (ISS6 e ISS13).

O zinco é um elemento participante de muitas reações do metabolismo celular, incluindo processos fisiológicos, tais como função imune, principalmente para idosos, defesa antioxidante, crescimento e desenvolvimento. Além de ser um componente estrutural e/ou funcional de várias metaloenzimas e metaloproteínas.<sup>86</sup> Em relação a este elemento, a amostra de sopa de sabor de costela com vegetais também foi a que apresentou a maior concentração desse elemento quando comparada às demais amostras. A maioria das amostras de sopas de macarrão, como sopa de carne com amostra de macarrão (ISS8) e sopa de macarrão com

amostra de legumes (ISS4), também apresentou os maiores valores de concentração de zinco. Por outro lado, para amostras de sabor de creme de queijo (ISS17) e creme de cebola (ISS10), as concentrações de Zn foram inferiores a LOQ.

Também foram feitas comparações com informações da literatura, e verificou-se que os resultados não são notavelmente diferentes, exceto para presença de Zn. As concentrações de zinco determinadas foram menores, o que pode ser atribuído às diferenças nos produtos utilizados na composição das sopas por cada fabricante.<sup>70</sup>

### 3.5 Conclusões Parciais

O emprego da técnica MIP OES com o N<sub>2</sub> como gás do plasma é a principal vantagem do método desenvolvido. Isso reduz os custos operacionais, tornando-o atraente para análises de rotina. Embora o plasma de nitrogênio tenha como uma das suas características uma temperatura mais baixa de 5000 K, quando comparado aos plasmas de argônio acima de 7500 K, foi possível determinar todos os analitos usando calibração externa, o que certamente foi atraente para fins de análises químicas de rotina.

Neste trabalho, a utilização de solução diluída de ácido nítrico na etapa de decomposição da amostra associado com radiação micro-ondas em sistema fechado contribuiu para a obtenção de menores fatores de diluição. Conseqüentemente, foi possível atingir limites de detecção considerados adequados. O método desenvolvido foi considerado adequado para a determinação de Cu, Mg, Mn, Zn e P em sopas instantâneas.

As faixas de concentração obtidas para Cu, K, Mg, Mn, P e Zn em 19 amostras de sopas instantâneas foram de: 1,31-13,8, 1135-17824, 172-567, 1,72-12,1, 608-1826 e 2,90-12,1 mg kg<sup>-1</sup>, respectivamente. Com base nas concentrações obtidas nas amostras analisados, pode-se afirmar que a sopa contribui, de forma significativa, para a ingestão dos elementos químicos K e P. Contudo, ressalva-se certo cuidado no consumo desse produto alimentício, pela alta quantidade de sódio mencionada nas embalagens desse produto.

## CAPÍTULO 4

---

*Avaliação de procedimentos de  
extração para determinação  
multielementar por ICP OES*

## **4. AVALIAÇÃO DE PROCEDIMENTOS DE EXTRAÇÃO PARA DETERMINAÇÃO MULTIELEMENTAR POR ICP OES**

### **4.1 Introdução e Revisão Bibliográfica**

#### **4.1.1 Preparo de amostra para análises por ICP OES**

A técnica ICP OES é amplamente utilizada para análises químicas de rotina em diferentes campos como a geoquímica, meio ambiente, alimentação e combustível. Essa técnica tornou-se a mais relevante entre as demais técnicas de emissão atômica e iônica por ser capaz de realizar determinações multielementares simultâneas ou sequenciais a níveis de miligramas por litro ou mesmo microgramas por gramas.<sup>87, 88</sup> O uso do plasma como fonte de atomização/ionização/excitação frente aos atomizadores de chama, por exemplo, oferece como vantagem menor interferência entre os elementos devido às temperaturas mais elevadas obtidas com o plasma. Além disso, a temperatura da seção transversal do plasma é relativamente uniforme, o que confere à técnica a obtenção de faixa lineares de trabalho com ampla ordem de grandeza, uma consequência da eliminação de efeitos de autoabsorção e autoinversão, comumente encontrados nos atomizadores de chama.<sup>89</sup>

Em geral, na espectrometria de emissão óptica com plasma, as amostras são introduzidas na forma de solução aquosa. Essa forma tem como vantagem a realização da calibração desses equipamentos com soluções de referência de fácil preparo e de simples diluições. A transformação de uma amostra sólida para a forma de solução é geralmente acompanhada por um processo de decomposição a altas temperaturas com o uso de ácidos com poder oxidante e/ou complexante.<sup>90</sup> Esse processo comumente recebe a denominação de digestão ou decomposição ácida. Embora esse tipo de processo seja uma das principais abordagens empregadas no preparo de amostras tanto sólidas como líquidas, na espectrometria atômica, existem também procedimentos que fazem uso de bases inorgânicas ou orgânicas fortes.<sup>91</sup> Quando há o uso desse tipo de reagente, o processo é denominado como decomposição ou digestão alcalina.

A depender do processo de aquecimento utilizado, a digestão ou decomposição apresenta uma classificação diferente. Quando o tipo de aquecimento é por condução térmica, utiliza-se de placas de aquecimento ou blocos digestores. Esses equipamentos são relativamente simples e esses procedimentos são classificados como decomposição ou digestão de amostras

em sistemas abertos. Atualmente, utiliza-se também o aquecimento assistido por radiação micro-ondas a partir do emprego de fornos geradores da energia. O desenvolvimento desse tipo de instrumentação para a decomposição de amostras permitiu o crescimento rápido de aplicações nessa área em preparo de amostras. Esse tipo de abordagem em preparo de amostras é classificado como decomposição em sistemas fechados. Um atrativo interessante da decomposição ácida assistida por radiação micro-ondas é a decomposição empregando ácidos diluídos. Entre as razões para essa atratividade estão: menor geração de resíduos, diminuição nos custos e nos valores do branco, conservação de equipamentos e na redução de possíveis interferências do tipo não-espectrais causadas pelo uso de ácidos nessa etapa.<sup>12-15</sup>

Uma alternativa em preparo de amostras sólidas para análises químicas por ICP OES é a extração de analitos através de diferentes tipos de soluções extratoras.<sup>90</sup> Esse tipo de abordagem tem como principais vantagens: a simplicidade dos procedimentos, a possibilidade da determinação total de alguns analitos e da realização de estudos de bioacessibilidade em amostras alimentícias e ambientais.<sup>92,93</sup> Na literatura, diferentes procedimentos de decomposição e extração têm sido reportados para o preparo de amostras de alimentos para análise elementar por ICP OES.

#### **4.1.2 Procedimentos de decomposição de amostras de alimentos**

Existe uma variedade de procedimentos de decomposição ácida para o preparo de amostras orgânicas e inorgânicas com fins para a análise químicas por ICP OES descritos na literatura. Dentro dessa variedade, esses procedimentos podem ser classificados em decomposições ácidas ou básicas e, ainda, a decomposição ácida-alcaldina.

Na decomposição ácida, um ácido mineral oxidante, mistura de ácidos oxidantes e complexantes, ou mistura de um ácido oxidante com peróxido de hidrogênio são utilizados na dissolução da amostra. Quando se utiliza de bases inorgânicas ou orgânicas fortes na dissolução, trata-se de uma decomposição alcalina, enquanto na decomposição acida-alcaldina há uma combinação de reagentes, de modo que a decomposição ácida é realizada inicialmente seguida por uma decomposição alcalina.<sup>90</sup>

O principal reagente utilizado em decomposições ácidas é o  $\text{HNO}_3$ , por ser um ácido forte e um agente oxidante poderoso. Com exceção dos metais nobres, é um ácido com capacidade para oxidar a maioria dos metais, além de forma nitratos com eles. Esse ácido pode

ser usado de forma isolada ou combinada com outros ácidos ou reagente oxidante. O  $\text{H}_2\text{O}_2$  é o principal agente oxidante utilizado em combinação com o  $\text{HNO}_3$ , sendo um reagente com alto poder oxidante e liberando água e oxigênio na sua decomposição. Além disso, ele auxilia na regeneração do ácido nítrico durante o procedimento de preparo de amostra.<sup>94</sup>

O ácido HF forma uma mistura azeotrópica com água contendo 36% (m m<sup>-1</sup>) com ponto de ebulição de 111 °C. É um ácido fraco, não oxidante, porém cuja reatividade se baseia na sua natureza complexante. É utilizado principalmente para a dissolução de silicatos presentes em amostras com esse tipo de constituição. Uma vez adicionado, esse ácido possui a capacidade de converter  $\text{SiO}_2$  em  $\text{H}_2\text{SiF}_6$ . O  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , por sua vez, é um ácido altamente oxidante que permite a decomposição em temperaturas mais altas quando estas são conduzidas em sistemas abertos. Contudo, a utilização desse ácido tem como inconveniente a formação de sais insolúveis, tais como  $\text{CaSO}_4$ ,  $\text{BaSO}_4$ ,  $\text{SrSO}_4$  e  $\text{PbSO}_4$ . Desta forma, o  $\text{H}_2\text{SO}_4$  não é recomendado para a decomposição de amostras com elevados teores desses analitos. Além disso, existe a possibilidade de interferências de transporte no sistema de nebulização devido à elevada viscosidade.<sup>90, 94-96</sup>

O  $\text{HClO}_4$  é outro ácido com alta capacidade oxidante, porém é pouco utilizado por conta do risco de explosões durante o procedimento. É empregado à 60-72% (m m<sup>-1</sup>) que quando aquecido torna-se um agente oxidante capaz de dissolver ligas metálicas e todos os metais, com exceção dos metais nobres.<sup>14</sup> O HCl é um ácido forte, porém não apresenta propriedades oxidantes ademais das associadas ao íon  $\text{H}^+$ . É um ácido complexante que forma complexos estáveis, especialmente com os íons  $\text{Au}^{3+}$ ,  $\text{Tl}^{3+}$  e  $\text{Hg}^{2+}$ , o que facilita a dissolução de algumas amostras e a disponibilização dos analitos.<sup>97</sup> Quando o HCl é combinado com o  $\text{HNO}_3$  na proporção de 3:1, tem-se uma mistura conhecida como água-régia. Dessa mistura, surgem o  $\text{Cl}_2$  e  $\text{NOCl}$  como reagentes intermediários mais oxidantes que o próprio  $\text{HNO}_3$ . Como consequência, ocorre a decomposição de matrizes mais complexas.<sup>90, 97</sup>

#### 4.1.3 Procedimentos para decomposição com ácidos inorgânicos

Os métodos de decomposição ácida são conduzidos em sistemas abertos e fechados a partir de diversas fontes de energia para promover o aquecimento da amostra e dos reagentes. As fontes térmicas e por radiação micro-ondas são as principais fontes de aquecimento aplicadas atualmente. Como exemplo do aquecimento térmico em sistemas abertos, os

principais instrumentos utilizados são as placas de aquecimento, blocos digestores, estufas e muflas. Uma grande desvantagem desse tipo de decomposição é o lento aquecimento da amostra. Inicialmente, através do fenômeno de condução da energia térmica, o frasco é aquecido e em seguida, a mistura reacional. Posteriormente, o calor é distribuído para o interior da solução por meio do fenômeno de convecção.<sup>90,94</sup>

Outra abordagem de aquecimento é a por meio da radiação micro-ondas, a qual a mistura reacional é aquecida diretamente. Quando a mistura reacional absorve este tipo de radiação, um aquecimento considerável pode acontecer nesse meio fruto, principalmente, da interação da radiação eletromagnética com os íons dissolvidos e com o solvente. Conseqüentemente, dois fenômenos ocorrem: o da migração iônica e rotação de dipolos.<sup>90</sup> Desta forma, é um aquecimento do meio reacional mais rápido comparativamente ao térmico e, conseqüentemente, com uma frequência analítica maior do procedimento. Essa grande vantagem desse tipo de técnica fez com que ela se popularizasse no preparo das mais diversas amostras.

Independentemente do tipo de aquecimento, as decomposições ácidas realizadas em sistemas abertos têm como vantagem a possibilidade de uso de quantidades de massa maiores (> 1 g). Contudo, são sistemas que consomem também maiores quantidades de reagentes que serão perdidos por evaporação. Há a possibilidade da necessidade de reposição dos reagentes durante o procedimento, ocasionando aumento no teor de contaminantes nas soluções dos brancos analíticos. Ademais, procedimentos desse tipo são mais suscetíveis às contaminações da amostra e perdas dos analitos por evaporação. Por outro lado, decomposições ácidas em sistemas fechados possuem como risco a ocorrência de explosões de frascos, devido ao acréscimo de pressão. Isso limita a quantidade de amostra a ser utilizada (< 0,5 g), porém isso permite a redução no consumo de reagentes. Conseqüentemente, há um aumento na eficiência da decomposição e a obtenção de menores de LODs, perdas dos analitos e contaminações.<sup>90,94</sup>

Uma tendência nas pesquisas acadêmicas com a decomposição ácida assistida por radiação micro-ondas é a utilização de reagentes diluídos. A partir dessa estratégia, é possível obter melhores valores de concentrações da soluções dos brancos analíticos, menor consumo de reagentes e conseqüentemente, menor geração de resíduos e menor diluição das soluções dos digeridos.<sup>98,99</sup> Como exemplo, Barbosa et al<sup>100</sup> propuseram um novo método para a decomposição de produtos à base de soja para a determinação de elementos essenciais (Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Se, V e Zn) e não-essenciais (As, Ba, Cd, Pb e Sr) por ICP OES e ICP-MS,

respectivamente. Os efeitos relacionados à concentração do ácido nítrico (2,1 - 14,5 mol L<sup>-1</sup>) e ao uso do peróxido de hidrogênio na eficiência de decomposição da amostra foram avaliados com base na concentração de carbono residual (RCC, do inglês residual carbono content). A partir dos resultados obtidos, demonstrou-se que a concentração de 2,1 mol L<sup>-1</sup> de HNO<sub>3</sub> mais 1 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foi adequada para uma decomposição eficiente, uma vez que as recuperações dos analitos estiveram acima de 90% e o RCC, abaixo de 18%. Nesse tipo de procedimento, há a regeneração do ácido nítrico consumido durante a digestão pela reação do óxido de nitrogênio liberado na digestão com o oxigênio presente na fase de vapor. A partir disso, o dióxido de nitrogênio é formado, condensado e absorvido em solução e por uma reação de desproporcionamento, o ácido nítrico é regenerado. É necessário uma etapa cuidadosa de limpeza dos frascos seja feita a fim de evitar uma possível contaminação cruzada entre amostras, o que torna o processo laborioso.

#### 4.1.4 Procedimentos de Extração

Os procedimentos de extração que envolvem amostras sólidas têm como fundamentos a dessorção, solvatação e difusão do analito da matriz para a fase líquida.<sup>90</sup> A escolha da solução extratora baseia-se nas propriedades da matriz e das espécies a serem removidas para a fase líquida. Essa solução pode ser uma solução ácida ou básica ou conter agentes redutores, oxidantes ou complexantes. Além disso, esse tipo de abordagem pode ser utilizado em combinação com aquecimento térmico por condução ou assistido por radiação micro-ondas, agitação mecânica ou magnética ou uso de ultrassom.<sup>101</sup> Em procedimentos de extração envolvendo amostras sólidas, tais como as de alimentos, é de extrema importância garantir a representatividade, uma vez que a heterogeneidade pode afetar a eficiência da extração. Portanto, o tamanho das partículas da amostra é crucial para se alcançar eficiências de extração maiores em uma análise quantitativa.<sup>102</sup>

Atualmente, a extração como preparo de amostra vem sendo utilizada tanto em estudos de biodisponibilidade como nos de especiação. Por fazer uso muitas vezes de condições brandas, sua aplicação é interessante também para análises de biomoléculas, uma vez que se pretende evitar a perda ou a interconversão dos analitos. Em estudos de bioacessibilidade, avalia-se a fração de um analito liberado de sua matriz no trato gastrointestinal através de experimentos em que as amostras são expostas a sucos gástricos e intestinais artificiais. Esses estudos vêm

crescendo ao longo dos anos, em especial os que propõe métodos para avaliar a bioacessibilidade de metais traço. A bioacessibilidade de um elemento depende de alguns fatores tais como as características da matriz, a forma química do analito e o modelo utilizado. Nesse sentido, o emprego de extrações no desenvolvimento de métodos de bioacessibilidade torna possível uma maior seletividade, visto que a depender do extrator utilizado e das condições aplicadas, a eficiência da extração pode sofrer alterações sensíveis. Ademais, em métodos de especiação, a utilização dessa abordagem possibilita a mobilização do analito com chances menores de perda ou interconversão dos analitos, ocorrências indesejáveis nesse tipo de estudo.<sup>103,104</sup>

A grande vantagem dessa abordagem alternativa em preparo de amostras é a sua simplicidade, o que fornece rapidez e a possibilidade de realização sem uso de qualquer ação externa tais como agitação, temperatura ou pressão, embora a eficiência da extração tenda a ser baixa. Geralmente, nesses procedimentos, emprega-se ácidos diluídos tais como ácido nítrico, ácido clorídrico ou a mistura dos dois na forma de solução de água-régia, ácidos carboxílicos, ácido acético.<sup>105, 106</sup> O uso de reagentes diluídos confere ao método analítico a ser proposto, a utilização de um volume menor de reagentes, o que implica na menor geração de resíduos e valores de concentração das soluções do branco analítico, também menores. Contudo, alguns analitos podem não ser totalmente extraídos da matriz por estarem fortemente ligados à mesma. Apesar disso, deve-se analisar quais são os objetivos pretendidos no desenvolvimento de um método que utilize a extração e qual o tipo de amostra. Ainda assim, há trabalhos descritos na literatura que a consideraram como uma alternativa interessante para a determinação de elementos essenciais e não essenciais bem como de contaminantes em amostras orgânicas ou inorgânicas.<sup>107, 108</sup>

#### **4.1.4.1 Extração alcalina**

A extração alcalina utiliza, como o próprio nome sugere, de bases inorgânicas, sendo as principais o NaOH, KOH e NH<sub>3</sub> e de bases orgânicas, tais como o hidróxido de tetrametilamônio (TMAH, do inglês *tetramethylammonium hydroxide*) e aminas terciárias solúveis em água (CFA-C)<sup>109</sup>, como soluções extratoras no preparo de amostras.<sup>91</sup> Uma das grandes vantagens da utilização da extração alcalina é a possibilidade de realização do procedimento na temperatura ambiente, além de apresentar rápidas velocidades de extração.

Essas vantagens conferem aos procedimentos a serem propostos, simplicidade e rapidez, características importantes, principalmente, para métodos de rotina. Além disso, certos analitos tais como Sb e Sn, incompatíveis com o ácido nítrico, podem ser disponibilizados para posterior quantificação.<sup>98</sup>

Os procedimentos de extração empregando o uso do TMAH consistem, geralmente, na solubilização completa ou parcial da amostra. A solução de TMAH possui uma faixa de pH que vai de 13,4 a 14,7 e é comercialmente encontrada com concentração de 25 % m v<sup>-1</sup> em água ou metanol e 10 % m v<sup>-1</sup> em água. Sua fórmula química é a (CH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>NOH. As grandes vantagens desse extrator é a redução do tempo de preparo de amostra e a longa estabilidade dos extratos. A primeira utilização deste extrator foi descrita por Murthy et al 1973 para a determinação de Cd, Cu, Pb e Zn em amostras de fígado, rim e pêlo de rato. Apesar dos resultados para as determinações dos analitos concordarem com aqueles obtidos por uma digestão ácida convencional usando ácido nítrico ou ácido nítrico-perclórico, a calibração externa com 5% de ácido nítrico não foi adequada para o método analítico proposto.<sup>110</sup>

Lemos *et al* (2021)<sup>54</sup> propuseram um procedimento simples de preparo de amostra utilizando hidróxido de tetrametilamônio (TMAH) e ácido nítrico para determinar Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn e Zn em amostras de camarões (*Macrobrachium amazonicum*) e caranguejo (*Ucides cordatus*) da região Amazônica. A solubilização da amostra foi realizada também com banho de ultrassônico de 30 min e um banho de água termostático à 70 °C por 10 min. Dos elementos químicos estudados, apenas as concentrações de K e Zn estão de acordo com níveis de concentração reportados em outros estudos.<sup>54</sup>

#### **4.1.5 Espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente**

A técnica ICP OES tem como grande característica a sua capacidade multielementar simultânea. Apesar dessa grande vantagem, é uma técnica também suscetível a interferências do tipo espectrais e não espectrais. As interferências espectrais podem ser facilmente resolvidas através da escolha apropriada da linha analítica. Para as interferências não espectrais, várias estratégias têm sido propostas para viabilizar a análise de diferentes tipos de amostras.<sup>111</sup>

#### 4.1.6 Técnicas convencionais de calibração

A técnica de calibração é uma importante etapa na determinação quantitativa de uma espécie. Através dela, a relação entre a resposta analítica e a concentração do analito é determinada. Esta relação é usualmente construída a partir do uso de padrões químicos. Na calibração externa, uma série de soluções padrão é preparada separadamente da amostra a fim de se obter uma análise da resposta do instrumento como uma função da concentração conhecida do analito. Geralmente, um gráfico da resposta do instrumento *versus* as concentrações conhecidas de analito é usado para produzir uma curva de calibração, sendo desejável que esta seja linear em no mínimo uma faixa de concentração do analito.<sup>111</sup>

Na técnica de calibração por padrão interno, uma quantidade conhecida de uma dada espécie usada como referência é adicionada a todas as soluções, sejam as do branco, padrões ou das amostras. Nesse tipo de técnica, a curva de calibração é construída a partir da razão entre o sinal do analito e o da espécie de referência e a concentração do analito. Assim como o sinal do analito como o do padrão interno pode ser afetado por mudanças experimentais, a razão entre os dois sinais será então independente da fonte perturbadora.<sup>112, 113</sup> Para o seu uso de forma eficiente, vale salientar que a matriz em estudo não deve conter o elemento escolhido como padrão interno em sua constituição. Além disso, o comprimento de onda escolhido para a medida desse padrão interno deve ser livre de interferências espectrais.<sup>114</sup>

A técnica de calibração por adição de analito é uma calibração em que a amostra é “fortificada” com uma quantidade ou quantidades conhecidas de uma solução padrão contendo o analito. A primeira solução a ser, nesse caso, é o da amostra sem nenhuma adição de padrão. A partir desse ponto, são feitas as adições de quantidades conhecidas da solução padrão do analito e uma curva analítica é obtida. Esse tipo de técnica permite verificar se há uma relação linear entre a resposta e a concentração do analito. Um inconveniente na utilização desse recurso é o tempo extra requerido na realização das adições e medidas. Contudo, a vantagem é a potencial correção de efeitos de interferências complexas conhecidas como efeitos de matriz que podem ser desconhecidas para o usuário.<sup>111</sup>

A padronização interna é uma estratégia usualmente empregada na correção desses efeitos pela sua simplicidade. Quando tanto o sinal do analito como o do padrão interno é afetado por mudanças experimentais, a razão entre os dois sinais é então independente da fonte perturbadora. Para o seu uso de forma eficiente, vale salientar que a matriz em estudo não deve

conter o padrão interno escolhido em sua constituição. Além disso, esse padrão interno deve ser livre de interferências espectrais.<sup>111-114</sup>

## 4.2 Objetivos Específicos

Os objetivos específicos deste capítulo foram:

- a) Desenvolver e avaliar a aplicabilidade de um procedimento de extração para a determinação de elementos essenciais e não essenciais em sopas instantâneas por ICP OES;
- b) Otimizar as condições para o preparo das amostras no sistema de extração;
- c) Avaliar estratégias que viabilizem a execução da extração e determinação por ICP OES visando garantir determinações precisas e exatas.

## 4.3 Experimental

### 4.3.1 Equipamentos e aparatos

As decomposições ácidas assistidas por radiação micro-ondas das amostras foram realizadas em um forno de micro-ondas de cavidade ETHOS EZ (Milestone, Sorisole, Itália). Todas as soluções foram preparadas com água deionizada com resistência de 18,2 M $\Omega$  cm obtida de um sistema de purificação de água baseado em osmose reversa Milli-Q (Millipore Corporation, Bedford, MA, EUA). As etapas de purificação dos ácidos nítrico e clorídrico abaixo dos seus respectivos pontos de ebulição foram realizadas no sistema de destilação de ácidos Distillacid<sup>TM</sup> BSB-939-IR (Berghof, Eningen, Alemanha) e no sistema de destilação de ácidos DUOPUR (Milestone, Sorisole, Itália), respectivamente.

A etapa de moagem das amostras foi realizada, inicialmente, em moinho de modelo A11 (IKA, Staufen im Breisgau, Alemanha). Esse moinho oferece a possibilidade para dois procedimentos de moagem diferentes: (1) moagem de impacto de materiais duros, quebradiços ou não elásticos com batedor de aço inoxidável de alto grau; (2) moagem de corte para pulverização de materiais macios e fibrosos com lâmina de corte, sendo esta última a adotada para as amostras deste trabalho por um tempo de 2 min. Em outra etapa do trabalho foi necessária a realização de outra moagem em moinho criogênico, sendo que o programa de

moagem foi otimizado de acordo com as condições da amostra. Foram utilizadas três bolas de aço inoxidável para todas as amostras. O tempo e a frequência de pré-congelamento foram de 1,5 min e 5 Hz, respectivamente. O tempo e a frequência de moagem foram de 3 min e 25 Hz, respectivamente.

A avaliação do efeito de agitação foi realizada em mesa agitadora orbital analógica de modelo SL-180/A (Solab, São Paulo, Brasil) com capacidade para 25 erlenmeyers e possibilidade de velocidade de rotação na faixa de 20 a 250 rpm. A mesa conta com controle de rotação analógico através de uma escala de 1 a 10, sendo que a escala 7 foi a adotada. Após o processo de extração e anteriormente às quantificações, os extratos foram centrifugados em uma centrífuga (modelo SL-707, Solab, São Paulo, Brasil).

A quantificação dos analitos foi realizada por meio do espectrômetro de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado com dupla visualização (iCap 6500 Duo, Thermo Scientific, EUA) equipado com um nebulizador do tipo ranhura em V (*V-groove*) e câmara de nebulização ciclônica de duplo passo. A tocha empregada nesse equipamento era de quartzo com diâmetro interno do tubo central de 2,0 mm. As seguintes condições foram utilizadas nas determinações multielementares: potência de radiofrequência de 1,3 kW e vazões de 12, 0,5 e 0,5 L min<sup>-1</sup> para o gás externo, intermediário e de nebulização, respectivamente. Os elementos essenciais e não essenciais encontrados em menores concentrações foram quantificados utilizando-se as seguintes linhas de emissão (nm) na visão axial: Cu 324,754 (I); Fe 259,940 (II); Mn 257,611 (II); Sr 421,552 (II) e Zn 213,856 (I), sendo I e II linhas atômicas e iônicas, respectivamente. Para as determinações dos elementos encontrados em maiores concentrações, as seguintes linhas de emissão (nm) na visão radial foram utilizadas: Ca 422,673 (I); K 766,491 (I); Mg 280,270 (II) e P 213,618 (I).

### 4.3.2 Reagentes e Soluções

A vidraria empregada nesse trabalho foi imersa em 10% v v<sup>-1</sup> HNO<sub>3</sub> por pelo menos 24 horas e lavado com água deionizadas antes do uso. As extrações foram realizadas com ácido clorídrico (37 m m<sup>-1</sup>) destilado abaixo do ponto de ebulição (Merck, Darmstadt, Germany), solução de hidróxido de tetrametilamônio à 25 % m v<sup>-1</sup> em água (Merck, Darmstadt, Germany) e água desionizada (18 MΩ cm<sup>-1</sup>, Milli-Q Direct 8, Millipore, EUA). As curvas de calibração externas foram preparadas a partir de soluções padrão monoelementares (Fluka Analytical, Sigma-Aldrich, Suíça) de 1000 mg L<sup>-1</sup> em HNO<sub>3</sub> 3% (v v<sup>-1</sup>) para Cu, Fe, Mn, Sr e Zn, e soluções padrão de Ca, K, Mg e P de 4000 mg L<sup>-1</sup> em HNO<sub>3</sub> 3% (v v<sup>-1</sup>). A faixa linear das curvas de calibração foram ajustadas de acordo com a concentração dos extratos de sopas instantâneas, sendo para Cu, Mn, Sr e Zn, a faixa de 0,01 a 0,20 mg L<sup>-1</sup>; Fe, a faixa de 0,08 a 1,00 mg L<sup>-1</sup>; Ca e Mg, a faixa de 1,0 a 10,0 mg L<sup>-1</sup> e para K e P, a faixa de 2,5 a 50,0 mg L<sup>-1</sup>.

### 4.3.3 Amostras e materiais de referência certificados

As amostras de sopas instantâneas utilizadas neste trabalho foram amostras dos mais variados sabores e composições, contendo segundo alguns fabricantes, carne, frango, vegetais, queijo, macarrão, entre outros. Os materiais de referência certificados também foram utilizados na avaliação do procedimento desenvolvido, sendo esses: farinha de arroz (NIST 1568), folhas de pessegueiro (NIST 1547) e tecido de ostra (NIST 1566) adquiridos pelo *National Institute of Standards and Technology* ((NIST, Gaithersburg, MD, EUA).

### 4.3.4 Procedimento de decomposição ácida das sopas instantâneas para estabelecimento dos valores de referência

As amostras de sopas instantâneas, após moídas e homogeneizadas por meio de moinho de facas, foram submetidas à decomposição ácida assistida por radiação micro-onda conforme descrito no Capítulo 3 (tópico 3.3.4 - Preparo de amostras, pg. 46), sendo as soluções resultantes armazenadas em frascos de polietileno. Posteriormente às extrações, os extratos eram centrifugados por um período de 5 minutos em uma velocidade de rotação de 4000 rpm.

Os frascos utilizados nos experimentos e armazenamento das amostras foram cuidadosamente lavados e descontaminados em banho de ácido nítrico 10 % (v v<sup>-1</sup>) por 24 h.

#### **4.3.5 Otimização dos parâmetros de extração ácida**

Para os estudos de otimização dos parâmetros de extração, três amostras foram selecionadas de forma a abranger a ampla variedade de sabores das amostras de sopas. As amostras escolhidas foram: carne de panela, galinha com arroz e legumes com macarrão. Todos os estudos foram realizados em triplicata. Nos estudos iniciais, a agitação das misturas foi feita de forma manual.

Os estudos foram desenvolvidos de forma univariada. Inicialmente, a solução extratora escolhida para os estudos foi a solução de ácido clorídrico 8% (v v<sup>-1</sup>), baseado nos estudos realizados por Marques e Nóbrega, 2017.<sup>115, 116</sup> O primeiro parâmetro avaliado foi a proporção de massa de amostra e volume de solução extratora. Nesse estudo, o volume da solução extratora foi mantido constante em 10 mL, enquanto as massas de amostra estudadas foram de 50 e 150 mg.

O segundo parâmetro estudado foi o uso de aquecimento em banho maria por um breve período de 10 minutos à temperatura de 60 °C. A massa de amostra utilizada também foi de 50 mg com adição de 10 mL de volume de solução extratora.

Outro parâmetro avaliado foi o tamanho das partículas na eficiência da extração. Em certo ponto do estudo, foi necessário a moagem novamente das amostras utilizando outra técnica de moagem: a criogênica. Nesse estudo, a massa de 50 mg foi utilizada também com 10 mL de solução extratora e agitação em mesa agitadora por 10 minutos. Paralelamente ao uso das amostras moídas de forma criogênica, utilizou-se também a agitação em mesa agitadora orbital por um período de 10 minutos.

#### **4.3.6 Investigação sobre possíveis efeitos de matriz e diferentes técnicas de correção**

Para essa investigação, duas curvas analíticas foram preparadas: (1) em meio aquoso representando a curva para a calibração externa e (2) em meio dos extratos representando a curva de adição de padrão. Em ambas as curvas, foram adicionadas alíquotas de Be, Sc e Y

para investigação da sua utilização como candidatos a padrão interno. Esses elementos foram escolhidos por serem os comumente escolhidos como padrões internos na literatura.<sup>112</sup>

#### **4.3.7 Extração alcalina**

As amostras foram preparadas em frascos de polietileno misturando-se aproximadamente 250 mg da amostra de sopa instantânea com 400  $\mu\text{L}$  de uma solução de TMAH a 25% ( $\text{m v}^{-1}$ ) em água. A mistura foi deixada em repouso durante a noite em temperatura ambiente e permaneceu fechado até atingir a solubilização completa. O volume foi preenchido até 50 mL com água deionizada e assim, a concentração final de TMAH foi de 0,2% ( $\text{m v}^{-1}$ ).

### **4.4 Resultados e Discussão**

#### **4.4.1 Análise dos materiais de referência certificados**

Os macros (Ca, K, Mg, P e Na) e micronutrientes (Cu, Fe, Mn, Sr e Zn) nas amostras de sopas instantâneas foram determinados a partir da digestão ácida assistida por radiação micro-ondas e medições por ICP OES. Essas concentrações foram utilizados como valores de referência para avaliação da exatidão e precisão dos procedimentos de extração desenvolvidos. A fim de assegurar esses teores como valores de referência, foi realizada uma análise dos materiais de referência certificados empregando o procedimento de digestão ácida assistida por radiação micro-ondas. Os materiais de referência certificados analisados foram: farinha de arroz (NIST 1568), folhas de pessegueiro (NIST 1574) e tecido de ostra (NIST 1566). Para cada analito, foram escolhidas duas linhas de emissão para que as determinações posteriores fossem realizadas nas linhas mais adequadas. Esses resultados encontram-se descritos na Tabela 4.1.

Com exceção do ferro, os percentuais de concordância variaram de 70,0 a 117,1%, de maneira geral, para todas as linhas estudadas. Para cada material de referência certificado analisado, as concordâncias dos analitos, com exceção do ferro, variaram da seguinte forma: 73,4 a 111,8% (farinha de arroz, NIST 1568), 70,0 a 117,6% (folhas de pessegueiro, NIST 1547) e 74,3 a 111,7% (tecido de ostra, NIST 1566). A concordância do Fe variou da seguinte forma: 50,1 a 54,2% (farinha de arroz, NIST 1568), 65,2 a 66,8% (folhas de pessegueiro, NIST

1547) e 74,3 a 76,6% (tecido de ostra, NIST 1566). Como pôde-se observar, as concordâncias para o ferro ficaram abaixo de 80%, o que pode ser justificado pelo fato de ser um analito fortemente ligado à matriz.<sup>116</sup> As concordâncias dos analitos Mg e Zn não estiveram dentro da faixa desejável para todos os materiais de referências certificados analisados, principalmente quando os valores certificados se encontram em concentrações mais baixas. Ainda assim, como as recuperações para esses analitos foram acima de 80% no CRM de tecido de ostra, adotou-se que esses elementos foram validados através desse procedimento.

Considerando a faixa desejável de recuperação de 80 a 120% recomendada pelos métodos oficiais da *AOAC International*<sup>74</sup>, pode-se concluir que, a maioria dos analitos, Ca, Cu, K, Mg e Mn, foram recuperados quantitativamente, sem perdas durante a digestão em vasos fechados, com exceção apenas do ferro.<sup>116</sup> Contudo, apesar da não validação, as determinações de ferro continuaram a serem realizadas nos estudos posteriores de extração, devido à sua grande importância biológica e nutricional. Portanto, a partir desses resultados, foi possível definir os comprimentos de onda de emissão a serem utilizadas, em nm, as quais foram: Ca 422,673; Cu 324,754; Fe 259,940; K 766,491; Mg 285,213; Mn 257,611; P 213,620 ;Sr 421,552 e Zn 213,856. Foi possível também validar o procedimento de decomposição ácida da amostra assistida por radiação micro-ondas para a obtenção de valores de referência por ICP OES.

**Tabela 4.1.** Valores de referência certificados e obtidos por ICP OES, para três materiais de referência certificados

Elemento/ Linha(nm)	Materiais de Referência Certificados (CRMs)								
	NIST 1568 (Farinha de Arroz)			NIST 1547 (Folhas de Pessegueiro)			NIST 1566 (Tecido de Ostra)		
	Valor Certificado (mg/kg)	Valor Determinado (mg/kg)	Concordância (%)	Valor Certificado (mg/kg)	Valor Determinado (mg/kg)	Concordância (%)	Valor Certificado (mg/Kg)	Valor Determinado (mg/Kg)	Concordância (%)
Ca / 396	118,4 ± 3,1	89,6 ± 4,3	76 ± 11	15590 ± 160	12868 ± 280	83 ± 2	838 ± 20	729 ± 49	87 ± 7
Ca / 422	118,4 ± 3,1	123,8 ± 2,4	105 ± 2	15590 ± 160	14978 ± 435	96 ± 3	838 ± 20	843 ± 42	101 ± 5
Cu / 324	2,35 ± 0,16	2,31 ± 0,08	98 ± 1	3,75 ± 0,37	3,76 ± 0,12	100 ± 3	71,6 ± 1,6	71,2 ± 3,3	100 ± 5
Cu / 327	2,35 ± 0,16	2,52 ± 0,07	107 ± 3	3,75 ± 0,37	4,04 ± 0,15	108 ± 4	71,6 ± 1,6	77,9 ± 3,8	109 ± 5
Fe / 259	7,42 ± 0,44	4,02 ± 0,49	54 ± 12	219,8 ± 6,8	146,9 ± 4,5	67 ± 3	205,8 ± 6,8	157,7 ± 9,0	77 ± 5
Fe / 238	7,42 ± 0,44	3,72 ± 0,39	50 ± 11	219,8 ± 6,8	143,3 ± 4,4	65 ± 4	205,8 ± 6,8	152,9 ± 9,3	74 ± 6
K / 766	1282 ± 11	1433 ± 9	112 ± 1	24330 ± 380	25410 ± 560	104 ± 2	6520 ± 90	7281 ± 253	112 ± 4
K / 769	1282 ± 11	1392 ± 12	109 ± 1	24330 ± 380	25479 ± 610	105 ± 2	6520 ± 90	7225 ± 277	111 ± 4
Mg / 285	559 ± 10	424 ± 14	76 ± 3	4320 ± 150	3587 ± 60	83 ± 2	1085 ± 23	964 ± 48	89 ± 5
Mg / 279	559 ± 10	400 ± 20	72 ± 3	4320 ± 150	3304 ± 72	77 ± 7	1085 ± 23	909 ± 59	84 ± 7
Mn / 257	19,2 ± 1,8	16,0 ± 0,3	83 ± 2	97,8 ± 1,8	79,0 ± 0,8	81 ± 2	18,5 ± 0,2	16,1 ± 0,9	87 ± 6
Mn / 260	19,2 ± 1,8	14,8 ± 0,3	77 ± 2	97,8 ± 1,8	72,2 ± 2,0	74 ± 3	18,5 ± 0,2	14,4 ± 0,9	78 ± 7
P / 213	1530 ± 40	1228 ± 30	80 ± 2	1371 ± 82	1122 ± 19	82 ± 2	<i>Não certificado</i>	-	-
P / 178	1530 ± 40	2078 ± 107	136 ± 5	1371 ± 82	1984 ± 104	145 ± 5	<i>Não certificado</i>	-	-
Sr / 407	<i>Não certificado</i>	-	-	53,0 ± 5,0	62,3 ± 1,5	118 ± 2	6,8 ± 0,2	5,47 ± 0,32	80 ± 6
Sr / 421	<i>Não certificado</i>	-	-	53,0 ± 5,0	49,2 ± 1,2	93 ± 2	6,8 ± 0,2	7,20 ± 0,42	106 ± 6
Zn / 213	19,42 ± 0,26	15,00 ± 0,93	77 ± 6	17,97 ± 0,53	14,08 ± 0,59	78 ± 4	1424 ± 46	1155 ± 57	81 ± 5
Zn / 206	19,42 ± 0,26	14,26 ± 1,32	73 ± 9	17,97 ± 0,53	12,58 ± 0,57	70 ± 5	1424 ± 46	1180 ± 63	83 ± 5

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

## **4.4.2 Otimização dos parâmetros de extração**

### **4.4.2.1 Avaliação da proporção de massa de amostra e volume de solução extratora**

A Tabela 4.2 descreve os resultados obtidos para o estudo da proporção de massa de amostra e volume de solução extratora. Nesse estudo bem como nos posteriores será considerado como faixa desejável de eficiência de extração quando esta encontrar-se entre 80 e 120 %, conforme métodos oficiais da *AOAC International*.<sup>74</sup>

**Tabela 4.2.** Resultados de extração e eficiências de extração para os analitos Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, P, Sr e Zn, em %, obtidos após determinação por ICP OES para avaliação da proporção de massa entre a amostra e o volume de solução extratora

Amostra	Elemento /Linha (nm)	Valor de Referência	Massa de amostra de sopa instantânea					
			50 mg			150 mg		
			Extração	RSD (%)	Eficiência de extração (%)	Extração	RSD (%)	Eficiência de extração (%)
Sopa de Carne de Panela	Ca / 422	348 ± 4	404 ± 28	7	<b>116</b>	522 ± 45	9	150
	Cu / 324	3,26 ± 0,14	1,89 ± 0,52	27	58	1,25 ± 0,11	9	38
	Fe / 259	20,8 ± 0,5	13,0 ± 2,6	20	62	14,1 ± 0,9	7	68
	K / 769	3068 ± 42	3448 ± 178	5	<b>112</b>	5277 ± 401	8	172
	Mg / 285	439 ± 2	386 ± 22	6	<b>88</b>	638 ± 40	6	145
	Mn / 257	8,33 ± 0,11	10,6 ± 0,5	5	127	8,44 ± 0,53	6	<b>101</b>
	P / 213	1596 ± 15	1082 ± 64	6	64	1587 ± 94	6	<b>99</b>
	Sr / 421	1,76 ± 0,05	2,46 ± 0,15	6	140	1,95 ± 0,29	15	<b>111</b>
Zn / 213	10,79 ± 0,20	10,47 ± 0,90	9	<b>97</b>	10,61 ± 0,58	6	<b>98</b>	
Sopa de Galinha com Arroz	Ca / 422	155 ± 12	166 ± 5	3	<b>107</b>	100 ± 19	19	64
	Cu / 324	1,47 ± 0,03	1,28 ± 0,24	19	<b>87</b>	1,12 ± 0,15	13	76
	Fe / 259	2,75 ± 0,15	1,21 ± 0,20	16	44	-	-	-
	K / 769	661 ± 8	689 ± 39	6	<b>104</b>	639 ± 55	9	<b>97</b>
	Mg / 285	127 ± 1	111 ± 6	5	<b>87</b>	107 ± 6	6	<b>84</b>
	Mn / 257	7,98 ± 0,03	8,40 ± 0,17	2	<b>105</b>	3,88 ± 0,18	5	49
	P / 213	1113 ± 16	294 ± 37	13	26	474 ± 80	17	43
	Sr / 421	1,61 ± 0,09	1,50 ± 0,05	4	<b>93</b>	-	-	-
Zn / 213	8,93 ± 0,12	6,75 ± 0,91	13	76	4,97 ± 0,12	3	56	
Sopa de Legumes com Macarrão	Ca / 422	366 ± 11	341 ± 23	7	<b>93</b>	433 ± 1	1	<b>118</b>
	Cu / 324	2,89 ± 0,23	4,23 ± 0,05	1	147	2,65 ± 0,89	34	<b>92</b>
	Fe / 259	30 ± 3	8,2 ± 1,2	12	27	8,6 ± 2,9	33	28
	K / 769	3878 ± 61	3309 ± 242	7	<b>85</b>	4798 ± 150	3	124
	Mg / 285	394 ± 12	327 ± 25	8	<b>83</b>	433 ± 12	3	<b>110</b>
	Mn / 257	8,19 ± 0,16	8,62 ± 0,52	6	<b>105</b>	5,48 ± 0,72	13	<b>110</b>
	P / 213	1367 ± 45	558 ± 37	7	41	899 ± 89	10	66
	Sr / 421	2,75 ± 0,11	2,34 ± 0,12	5	<b>85</b>	1,90 ± 0,02	1	69
Zn / 213	11,27 ± 0,30	6,83 ± 0,42	6	61	5,70 ± 2,00	35	50	

Resultados expressos com média de recuperação ± desvio padrão (n=3).

Com base nos resultados, verifica-se que para ambas as proporções entre a massa de amostra e o volume de solução extratora, houve uma dependência com relação à composição da matriz. Por exemplo, para a massa de 150 mg, é possível inferir a partir dos resultados obtidos que esse procedimento foi mais eficiente para a amostra de sopa de legumes com macarrão. Para essa amostra, conclui-se que os analitos Ca (118%), Cu (92%), K (124%), Mg (110%) e Mn (110%) foram adequadamente extraídos da matriz com base nos valores de eficiência de extração (%) obtidos. Contudo, os desvios relativos padrões (RSDs) dessas análises foram relativamente altos para alguns desses analitos, Ca (1%), Cu (34%), K (3%), Mg (3%) e Mn (13%). As eficiências de extração dos demais analitos ficaram abaixo de 70%.

A partir da interpretação dos resultados obtidos para a análise da amostra de sopa de carne de panela, avalia-se que apenas quatro dos nove analitos determinados foram eficientemente extraídos e solubilizados pela solução extratora, Mn (101%), P (99%), Sr (111%) e Zn (98%), sendo os valores de RSDs foram relativamente baixos, 6, 6, 15 e 6%, respectivamente. A eficiência de extração dos demais analitos ficaram acima de 120% no caso de Ca (150%), K (172%) e Mg (145%) e abaixo de 80% para os elementos Cu (38%) e Fe (68%).

A amostra de sopa de galinha com arroz foi a que, diante dos resultados, obteve a menor quantidade de analitos com eficiência de extração dentro da faixa desejável. Apenas a extração de K e Mg pode ser considerada eficiente diante dos resultados de 97 e 84%, respectivamente. A eficiência de extração, em %, dos demais analitos foram relativamente baixas, abaixo do 65%, com exceção do Cu (76%). Os desvios padrão relativos (RSD) foram relativamente altos em alguns casos, como por exemplo, para os analitos Ca e P, 19 e 17%, respectivamente.

Uma proporção menor de massa de amostra para volume de solução extratora, caso do estudo com 50 mg de amostra, além de facilitar a solubilização da amostra pode minimizar possíveis efeitos de matriz, alcançando eficiências de extração dentro da faixa desejável. Contudo, a partir dos resultados de eficiência de extração obtidos, verifica-se que não houve uma extração mais eficiente com a aplicação desse procedimento. Para amostra de sopa de carne de panela, por exemplo, as eficiências de extração dos analitos Ca e K foram de 116 e 112%, respectivamente, dentro da faixa considerada adequada em contrapartida aos resultados obtidos com a massa de 150 mg. Por outro lado, as eficiências de extração de Mn, P e Sr foram de 127,

64 e 140%, respectivamente, muito diferentes das obtidas com a outra proporção massa de amostra/volume solução extratora.

Essa observação também foi verificada nos resultados para as demais amostras. Para a amostra de sopa de galinha com arroz, não houve variação significativa nas eficiências de extração das concentrações de Fe, P e Zn, as quais continuaram com valores abaixo de 80%. Entretanto, houve um aumento nas recuperações de Ca, Cu, K, Mn e Sr que passaram a se encontrar com valores percentuais dentro da faixa desejável. Para ambos os estudos com as diferentes massas, os RSDs estavam altos (10 – 35 %), em alguns casos, o que pode indicar certa heterogeneidade dessa amostra.

Para a amostra de sopa de legumes com macarrão, também não houve uma variação significativa nas eficiências de extração de Fe, P e Zn. Por outro lado, houve uma melhora na recuperação do Sr e em contrapartida uma piora na recuperação do Cu. De maneira geral, pode-se dizer que houve uma melhora nas eficiências de extrações dos analitos quando a massa de 50 mg foi utilizada para um volume de 10 mL de solução extratora. Optou-se, portanto, em continuar com esta proporção para os estudos posteriores.

#### **4.4.2.2 Avaliação da utilização do banho-maria como forma de aquecimento**

A Tabela 4.3 descreve os resultados obtidos para o estudo da utilização do banho-maria como forma de aquecimento no procedimento de extração de amostras de sopas instantâneas. O banho-maria é uma forma de aquecimento branda, o que a torna interessante no desenvolvimento de procedimentos de extração.

A utilização dessa forma de aquecimento não influenciou nos resultados de eficiência de K e Mg, as quais continuaram dentro da faixa de 80 a 120%, para todas as amostras de sopas estudadas. Para os demais elementos, houve uma dependência da composição da amostra. No caso da amostra de sopa de carne de panela, as eficiências de Ca e Zn também se mantiveram dentro da faixa desejável. Por outro lado, houve uma melhora de cerca de 30%, em média, nas recuperações de Sr e Mn ao fazer uso do banho-maria. Não houve variação significativa para Cu, Fe e P com o uso do aquecimento. As recuperações desses elementos químicos continuaram abaixo de 80%.

**Tabela 4.3.** Resultados de extração e eficiências de extração de Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, P, Sr e Zn, em %, obtidos após determinação por ICP OES para avaliação do banho-maria como forma de aquecimento

Amostra	Elemento/ Linha (nm)	Valor de Referência	Sem aquecimento			Com aquecimento		
			Extração	RSD (%)	Eficiência de extração (%)	Extração	RSD (%)	Eficiência de extração (%)
Sopa de Carne de Panela	Ca / 422	348 ± 4	404 ± 28	7	<b>116</b>	381 ± 37	10	<b>110</b>
	Cu / 324	3,26 ± 0,14	1,89 ± 0,52	<b>27</b>	58	1,69 ± 0,51	<b>30</b>	52
	Fe / 259	20,8 ± 0,5	13,0 ± 2,6	<b>20</b>	62	14,3 ± 1,8	12	69
	K / 769	3068 ± 42	3448 ± 178	5	<b>112</b>	4215 ± 218	1	122
	Mg / 285	439 ± 2	386 ± 22	6	<b>88</b>	503 ± 30	6	<b>115</b>
	Mn / 257	8,33 ± 0,11	10,6 ± 0,5	5	127	8,70 ± 0,74	9	<b>104</b>
	P / 213	1596 ± 15	1082 ± 64	6	64	1212 ± 79	7	76
	Sr / 421	1,76 ± 0,05	2,46 ± 0,15	6	140	1,53 ± 0,07	5	<b>87</b>
Zn / 213	10,79 ± 0,20	10,47 ± 0,90	9	<b>97</b>	9,54 ± 1,26	13	<b>88</b>	
Sopa de Galinha com Arroz	Ca / 422	155 ± 12	166 ± 5	3	<b>107</b>	230 ± 90	<b>39</b>	148
	Cu / 324	1,47 ± 0,03	1,28 ± 0,24	<b>19</b>	<b>87</b>	0,70 ± 0,34	<b>49</b>	48
	Fe / 259	2,75 ± 0,15	1,21 ± 0,20	16	44	2,63 ± 0,98	<b>37</b>	96
	K / 769	661 ± 8	689 ± 39	6	<b>104</b>	806 ± 64	8	122
	Mg / 285	127 ± 1	111 ± 6	5	<b>87</b>	132 ± 14	11	<b>104</b>
	Mn / 257	7,98 ± 0,03	8,40 ± 0,17	2	<b>105</b>	5,42 ± 1,35	<b>25</b>	68
	P / 213	1113 ± 16	294 ± 37	13	26	355 ± 57	<b>16</b>	32
	Sr / 421	1,61 ± 0,09	1,50 ± 0,05	4	<b>93</b>	0,36 ± 0,02	6	23
Zn / 213	8,93 ± 0,12	6,75 ± 0,91	13	76	3,10 ± 0,19	6	35	
Sopa de Legumes com Macarrão	Ca / 422	366 ± 11	341 ± 23	7	<b>93</b>	328 ± 32	10	<b>90</b>
	Cu / 324	2,89 ± 0,23	4,23 ± 0,05	1	147	3,39 ± 0,34	7	<b>117</b>
	Fe / 259	30 ± 3	8,2 ± 1,2	12	27	9,00 ± 1,57	17	30
	K / 769	3878 ± 61	3309 ± 242	7	<b>85</b>	3662 ± 385	11	<b>94</b>
	Mg / 285	394 ± 12	327 ± 25	8	<b>83</b>	320 ± 29	9	<b>81</b>
	Mn / 257	8,19 ± 0,16	8,62 ± 0,52	6	<b>105</b>	5,23 ± 0,26	5	65
	P / 213	1367 ± 45	558 ± 37	7	41	594 ± 51	9	43
	Sr / 421	2,75 ± 0,11	2,34 ± 0,12	5	<b>85</b>	1,55 ± 0,19	12	56
Zn / 213	11,27 ± 0,30	6,83 ± 0,42	6	61	5,15 ± 0,85	16	46	

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

Para a amostra de sopa de galinha com arroz, ao contrário da amostra discutida anteriormente, a utilização do banho-maria no procedimento de extração, contribuiu para que

houvesse uma menor eficiência na extração dos analitos Ca, Cu, Mn, Sr e Zn. Os valores de RSDs também sofreram variações significativas, tornando-se mais altos. O único cuja eficiência de extração variou significativamente foi o Fe para dentro da faixa desejável, porém com o RSD muito elevado. Não houve variação significativa para o P, o qual sua recuperação se manteve abaixo dos 35%.

A análise dos resultados do procedimento aplicado a amostra de sopa de legumes com macarrão permitiu verificar que não houve variação de forma significativa para o Ca, o qual se manteve com recuperações dentro da faixa considerada adequada. Verificou-se também que uma melhora na recuperação da concentração de Cu (de 147 para 117%). Contudo, as eficiências de extração de Mn e Sr caíram para valores abaixo de 70%, enquanto as recuperações dos analitos Fe, P e Zn permaneceram abaixo de 65% com a utilização do banho-maria. De modo geral, o uso desta forma de aquecimento não trouxe vantagens no desenvolvimento do procedimento de extração, além de ser adicionado mais uma etapa ao processo.

#### **4.4.2.3 Avaliação da utilização da técnica de moagem criogênica e de mesa agitadora orbital no procedimento de extração ácida**

O último parâmetro avaliado foi a utilização da técnica de moagem criogênica e de mesa agitadora no desenvolvimento do procedimento de extração. A moagem criogênica é um tipo de técnica de moagem que, entre outras, é utilizado para garantir a homogeneidade da amostra. A redução no tamanho das partículas confere um aumento na relação entre a área superficial e o volume de solução, o que facilita os processos de dissolução, decomposição e extração.<sup>90</sup>

Entre as vantagens do uso de moinhos criogênicos estão: (i) a moagem rápida de amostras de maior dureza e de difícil homogeneização e (ii) a diminuição dos riscos de contaminação entre as amostras, uma vez que cada amostra é moída em um conjunto individual de moagem. Além dessas vantagens, a depender da amostra, é possível alcançar amostras moídas com tamanhos de partículas geralmente menores que 150  $\mu\text{m}$ .<sup>117</sup>

Na Tabela 4.4, estão descritos os resultados obtidos para análise das amostras de sopas submetidas a moagem criogênica e utilizando uma mesa agitadora no procedimento de

extração. De acordo com os resultados, houve um aumento nas recuperações dos analitos, de maneira geral, porém para valores de eficiência de extração acima de 120%.

Para a amostra de sopa de carne de panela, apenas houve boas recuperações para Fe e P ao utilizar a nova abordagem. Houve, por exemplo, para os analitos Ca, K, Mg, Mn e Zn uma variação significativa das suas respectivas eficiências de extração, contudo, para valores fora da faixa desejável.

A partir dos resultados das amostras de sopa de galinha com arroz e de legumes com macarrão, pode-se avaliar que apenas as eficiências dos elementos químicos Mg e Mn se mantiveram dentro da faixa de 80 a 120%. Contudo, as eficiências de Ca, K e Sr sofreram aumentos para fora dessa faixa. É possível notar também que houve uma variação nas recuperações de Fe, P e Zn para acima de 120%, o que antes era obtido abaixo de 80%. Apenas a eficiência de extração de Zn melhorou 95 e 103%, respectivamente, para as duas amostras.

**Tabela 4.4.** Resultados de extração e eficiências de extração para os analitos Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, P, Sr e Zn, em %, obtidos após determinação por ICP OES para avaliação dos diferentes tipos de moagem

Amostra	Elemento/ Linha	Valor de Referência	Moinho de Facas			Moinho Criogênico		
			Extração	RSD (%)	Eficiência de extração (%)	Extração	RSD (%)	Eficiência de extração (%)
Sopa de Carne de Panela	Ca / 422	348 ± 4	404 ± 28	7	<b>116</b>	592 ± 22	4	170
	Cu / 324	3,26 ± 0,14	1,89 ± 0,52	<b>27</b>	58	5,92 ± 0,46	8	474
	Fe / 259	20,8 ± 0,5	13,0 ± 2,6	<b>20</b>	62	21,56 ± 3,74	<b>17</b>	<b>104</b>
	K / 769	3068 ± 42	3448 ± 178	5	<b>112</b>	5143 ± 83	2	168
	Mg / 285	439 ± 2	386 ± 22	6	<b>88</b>	608 ± 17	3	138
	Mn / 257	8,33 ± 0,11	10,6 ± 0,5	5	<b>127</b>	11,42 ± 0,66	6	137
	P / 213	1596 ± 15	1082 ± 64	6	64	1662 ± 53	3	<b>104</b>
	Sr / 421	1,76 ± 0,05	2,46 ± 0,15	6	140	4,56 ± 0,39	9	259
Zn / 213	10,79 ± 0,20	10,47 ± 0,90	9	<b>97</b>	17,25 ± 2,11	12	160	
Sopa de Galinha com Arroz	Ca / 422	155 ± 12	166 ± 5	3	<b>107</b>	234 ± 23	10	151
	Cu / 324	1,47 ± 0,03	1,28 ± 0,24	<b>19</b>	<b>87</b>	4,94 ± 0,60	12	336
	Fe / 259	2,75 ± 0,15	1,21 ± 0,20	16	44	4,77 ± 1,96	<b>41</b>	174
	K / 769	661 ± 8	689 ± 39	6	<b>104</b>	859 ± 142	17	130
	Mg / 285	127 ± 1	111 ± 6	5	<b>87</b>	141 ± 10	7	<b>111</b>
	Mn / 257	7,98 ± 0,03	8,40 ± 0,17	2	<b>105</b>	7,91 ± 0,15	2	<b>99</b>
	P / 213	1113 ± 16	294 ± 37	13	26	505 ± 17	3	45
	Sr / 421	1,61 ± 0,09	1,50 ± 0,05	4	<b>93</b>	2,63 ± 0,23	9	163
Zn / 213	8,93 ± 0,12	6,75 ± 0,91	13	76	8,93 ± 1,56	18	<b>95</b>	
Sopa de Legumes com Macarrão	Ca / 422	366 ± 11	341 ± 23	7	<b>93</b>	526 ± 14	3	144
	Cu / 324	2,89 ± 0,23	4,23 ± 0,05	1	147	10,59 ± 0,31	3	366
	Fe / 259	30 ± 3	8,2 ± 1,2	12	27	16,50 ± 2,74	17	55
	K / 769	3878 ± 61	3309 ± 242	7	<b>85</b>	5095 ± 144	3	131
	Mg / 285	394 ± 12	327 ± 25	8	<b>83</b>	474 ± 11	2	<b>120</b>
	Mn / 257	8,19 ± 0,16	8,62 ± 0,52	6	<b>105</b>	8,72 ± 0,12	1	<b>107</b>
	P / 213	1367 ± 45	558 ± 37	7	41	1029 ± 36	3	75
	Sr / 421	2,75 ± 0,11	2,34 ± 0,12	5	<b>85</b>	4,07 ± 0,22	5	148
Zn / 213	11,27 ± 0,30	6,83 ± 0,42	6	61	11,61 ± 2,78	<b>24</b>	<b>103</b>	

Resultados expressos com média de recuperação ± desvio padrão (n=3)

#### 4.4.2.4 Avaliação do efeito de matriz através da técnica de adição e recuperação

Em alguns casos, não há a disponibilidade de um material de referência certificado com uma matriz adequada para avaliação da exatidão do método analítico proposto. Nesses casos, o analista pode optar por realizar ensaios em que uma quantidade conhecida do analito é adicionada à matriz em estudo. Obviamente, não é possível assumir que o analito esteja na mesma do que a encontrada na matriz. Ainda assim, esse tipo de estudo pode auxiliar na descoberta de possíveis interferências advindas da matriz.<sup>118</sup>

Após os resultados obtidos a partir do estudo anterior, verificou-se a necessidade da realização de ensaios de adição e recuperação. Os dados obtidos a partir desses experimentos constam na Tabela 4.5. Essa investigação foi realizada para os todos os elementos químicos através da técnica ICP OES nas três amostras de sopas instantâneas e apenas para os microelementos por ICP-MS. A quantidade adicionada dos elementos químicos foi a de 20 mg kg<sup>-1</sup> para Cu, Fe, Mn, Sr e Zn e a de 2000 mg kg<sup>-1</sup> para Ca, K, Mg e P.

Com base na interpretação dos resultados obtidos, pode-se avaliar que foram obtidas recuperações próximas de 100% de maneira geral, dentro da faixa assumida como aceitável. A faixa de recuperação (%) obtidas foram de: 104-136; 68-106 e 94-158 para as amostras de sopa de carne, de galinha com arroz e de legumes com macarrão, respectivamente. As recuperações de Cu, Sr e Mn estiveram fora da faixa de 80 a 120% para as amostras de sopa de carne e de legumes e a de Zn para a amostra de sopa de legumes com macarrão. A recuperação de Fe também esteve fora da faixa para as amostras de sopa de galinha com arroz e a de legumes com macarrão. É possível concluir que, para as três amostras analisadas, apenas para os analitos Ca, K, Mg e P foram obtidas as recuperações que estiveram dentro da faixa aceitável. E, para os analitos Cu, Mn, Sr e Zn, em comparação com os dados obtidos pela técnica ICP-MS, há a possibilidade de existência de efeitos de matriz.

**Tabela 4.5.** Resultados de recuperação de Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, P, Sr e Zn, em %, obtidos após determinação por ICP OES a partir de teste de adição e recuperação.

Amostra	Recuperação (%)			
	Elemento/Linha	ICP OES	Isótopos estáveis	ICP-MS
Sopa de Carne de Panela	Ca / 422	119 ± 1	-	-
	Cu / 324	<b>134</b> ± 1	<sup>65</sup> Cu	106 ± 7
	Fe / 259	103 ± 7	-	-
	K / 769	117 ± 4	-	-
	Mg / 285	112 ± 1	-	-
	Mn / 257	<b>127</b> ± 4	<sup>55</sup> Mn	109 ± 7
	P / 213	115 ± 4	-	-
	Sr / 421	<b>134</b> ± 6	<sup>86</sup> Sr	106 ± 8
	Zn / 213	<b>122</b> ± 5	<sup>64</sup> Zn	100 ± 1
Sopa de Galinha com Arroz	Ca / 422	93 ± 4	-	-
	Cu / 324	106 ± 2	<sup>65</sup> Cu	96 ± 9
	Fe / 259	69 ± 8	-	-
	K / 769	94 ± 1	-	-
	Mg / 285	89 ± 4	-	-
	Mn / 257	98 ± 1	<sup>55</sup> Mn	90 ± 2
	P / 213	90 ± 2	-	-
	Sr / 421	101 ± 2	<sup>86</sup> Sr	82 ± 1
	Zn / 213	91 ± 2	<sup>64</sup> Zn	88 ± 2
Sopa de Legumes com Macarrão	Ca / 422	118 ± 5	-	-
	Cu / 324	<b>124</b> ± 14	<sup>65</sup> Cu	96 ± 6
	Fe / 259	<b>158</b> ± 5	-	-
	K / 769	<b>134</b> ± 5	-	-
	Mg / 285	114 ± 5	-	-
	Mn / 257	<b>132</b> ± 6	<sup>55</sup> Mn	99 ± 7
	P / 213	120 ± 4	-	-
	Sr / 421	<b>130</b> ± 6	<sup>86</sup> Sr	93 ± 6
	Zn / 213	131 ± 3	<sup>64</sup> Zn	98 ± 5

Resultados expressos com média de recuperação ± desvio padrão (n=3)

#### 4.4.2.5 Investigação e correção de possíveis efeitos de matriz com a técnica de padronização interna

A padronização interna, como já mencionado, é uma técnica de calibração que se baseia na construção da curva analítica a partir da razão entre o sinal do analito e o sinal do elemento escolhido como padrão interno. Tanto o sinal do analito como o do padrão interno pode ser afetado por efeitos espectrais e não espectrais, contudo, a razão entre eles será independente de qualquer tipo de efeito. Na Tabela 4.6, são apresentados os resultados de eficiência de extração obtidos a partir da calibração externa e da padronização interna com os candidatos a padrão interno: Berílio, Ítrio e Escândio.

A partir dos resultados obtidos, verifica-se que assim como observado anteriormente, os dados adquiridos através da calibração externa estiveram fora da faixa de 80 a 120%. Observa-se também que os resultados alcançados com a calibração externa e a padronização interna com o candidato Sc foram similares. Os elementos químicos com eficiências dentro da faixa assumida como aceitável com essas duas calibrações podem ser agrupados da seguinte forma: (i) P e Zn, para a amostra de sopa de carne de panela; (ii) Mg, Mn e Zn, para a amostra de sopa de galinha e (iii) K, Mg e P, para a de legumes com macarrão.

Baseado na análise dos dados relativos à padronização interna com os candidatos Be e Y, pode-se afirmar que houve uma melhora na recuperação de alguns elementos químicos com relação à calibração externa. De acordo com a amostra, os analitos com recuperações inclusas na faixa foram: (i) Ca, K, Mg e Mn para a amostra de carne de panela; (ii) Ca e Mn, para a de sabor de galinha com arroz e (iii) Ca, K, Mg, Mn e Ca, Cu, Mg, Mn para Be e Y, respectivamente, para a amostra de legumes. Verifica-se que os resultados de padronização interna com Be e Y foram bem similares bem como os possíveis efeitos de matriz são diferentes entre as amostras. De maneira geral, os resultados não foram considerados satisfatórios e mais investigações foram realizadas.

**Tabela 4.6.** Resultados de recuperação dos analitos Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, P, Sr e Zn, em %, obtidos após determinação por ICP OES a partir de calibração externa e padronização interna

Amostra	Elemento/Linha	Recuperação (%)			
		EC	IS Be	IS Y	IS Sc
Sopa de Carne de Panela	Ca / 422	198 ± 14	<b>115 ± 12</b>	121 ± 14	185 ± 12
	Cu / 324	-	-	-	-
	Fe / 259	507 ± 17	393 ± 21	231 ± 26	467 ± 19
	K / 769	172 ± 13	<b>96 ± 9</b>	92 ± 14	163 ± 10
	Mg / 285	141 ± 7	<b>96 ± 5</b>	93 ± 8	134 ± 5
	Mn / 257	142 ± 14	<b>97 ± 9</b>	94 ± 13	135 ± 12
	P / 213	110 ± 6	-	77 ± 6	106 ± 4
	Sr / 421	252 ± 16	180 ± 14	175 ± 14	242 ± 16
	Zn / 213	111 ± 1	56 ± 2	54 ± 3	102 ± 4
Sopa de Galinha com Arroz	Ca / 422	156 ± 14	<b>95 ± 5</b>	<b>103 ± 16</b>	146 ± 21
	Cu / 324	-	134 ± 33	-	-
	Fe / 259	-	-	-	-
	K / 769	61 ± 27	-	-	20 ± 7
	Mg / 285	<b>84 ± 1</b>	71 ± 3	58 ± 5	79 ± 6
	Mn / 257	<b>113 ± 2</b>	<b>101 ± 5</b>	<b>87 ± 5</b>	<b>110 ± 7</b>
	P / 213	56 ± 1	-	45 ± 2	55 ± 3
	Sr / 421	176 ± 36	144 ± 12	142 ± 26	173 ± 34
	Zn / 213	<b>119 ± 8</b>	79 ± 2	59 ± 1	<b>92 ± 2</b>
Sopa de Legumes com Macarrão	Ca / 422	167 ± 11	<b>113 ± 7</b>	<b>114 ± 9</b>	158 ± 17
	Cu / 324	-	133 ± 79	<b>112 ± 44</b>	-
	Fe / 259	-	-	-	-
	K / 769	<b>119 ± 17</b>	<b>84 ± 9</b>	72 ± 9	<b>106 ± 12</b>
	Mg / 285	<b>119 ± 10</b>	<b>97 ± 6</b>	<b>88 ± 6</b>	<b>116 ± 12</b>
	Mn / 257	126 ± 6	<b>103 ± 5</b>	<b>93 ± 3</b>	123 ± 7
	P / 213	<b>85 ± 4</b>	-	65 ± 3	<b>83 ± 7</b>
	Sr / 421	194 ± 35	163 ± 18	149 ± 15	184 ± 8
	Zn / 213	67 ± 5	42 ± 3	32 ± 4	69 ± 1

Resultados expressos com média de recuperação ± desvio padrão (n=3)

#### 4.4.2.6 Investigação e correção de possíveis efeitos de matriz com as técnicas de padronização interna e adição de analito

Os resultados da utilização das diferentes técnicas de calibração estão dispostos na Tabela 4.7, a seguir, em termos das eficiências de recuperação em porcentagem. As seguintes técnicas foram estudadas: (i) calibração externa (EC); (ii) adição de analito (SA) e (iii) adição de analito em conjunto com padrão interno (SA/S Padrão interno), sendo que para esse último foram avaliados como candidatos a padrão interno os elementos Be, Y e Sc.

A interpretação dos resultados contidos na Tabela 3.7 permitiu a observação das seguintes conclusões: (i) as eficiências de extração da amostra moída criogenicamente obtidas pela calibração externa foram acima de 120%; (ii) as recuperações a partir do técnica de adição de analito foram menores, na maioria dos casos, do que as da calibração externa, porém não suficientes para um correção e (iii) o uso do padrão interno não apresentou nenhuma variação significativa nos resultados no sentido de correção de possíveis efeitos de matriz de maneira geral.

A partir dos resultados obtidos com a calibração externa, verifica-se que, com exceção da amostra de sopa de carne de panela, apenas as recuperações de Mn e Zn estiveram dentro da faixa desejável. As demais estavam, em sua maioria, com valores bem acima de 120%, indicando possíveis efeitos de matriz. Por outro lado, com base na avaliação dos resultados alcançados com a utilização da técnica de adição de padrão, nota-se que, em sua maioria, as recuperações continuaram com valores altos. Apenas as dos analitos Mg e Mn estiveram dentro da faixa de 80 a 120% para as três amostras avaliadas. Houve também uma melhora nos resultados de Sr e Zn, porém, com exceção da amostra de sopa de carne de panela.

A investigação da calibração via a técnica da adição de padrão em conjunto com a padronização interna, de maneira geral, não trouxe variações significativas nos resultados. É possível observar que ao fazer uso do Be como candidato a padrão interno, houve uma melhora nas eficiências de extração de Ca para as três amostras e Zn para a amostra de sopa de carne com relação ao obtido pela técnica de adição de analito e a de calibração externa. As recuperações dos analitos Mg e Mn se mantiveram dentro da faixa considerada adequada. Com exceção da amostra de sopa de galinha com arroz, houve também uma melhora na recuperação de extração do Sr.

Com relação ao Y e Sc como candidatos a padrão interno, observou-se que não foram tão eficientes quando comparados ao Be. Os resultados para esses candidatos, inclusive, foram similares aos obtidos pela calibração externa e a técnica de adição de analito. A única exceção foi a eficiência de extração do Sr que ao fazer uso das duas técnicas com Sc percebe-se uma melhora com relação à calibração externa. Pode-se concluir a partir desse estudo que cada amostra de sopa tem suas peculiaridades bem como possíveis interferentes complexos diferentes entre si.

**Tabela 4.7.** Resultados de recuperação dos analitos Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, P, Sr e Zn, em %, obtidos após determinação por ICP OES a partir das técnicas de calibração externa, adição de padrão e adição de padrão com a padronização interna

Amostra	Elemento/Linha	Recuperação (%)				
		EC	SA	SA/S Be	SA/S Y	SA/S Sc
Sopa de Carne de Panela	Ca / 422	171 ± 3	147	<b>121</b>	150	138
	Cu / 324	223 ± 13	1920	1229	2142	1507
	Fe / 259	165 ± 3	<b>84</b>	72	<b>85</b>	78
	K / 769	194 ± 3	160	129	166	150
	Mg / 285	155 ± 1	<b>120</b>	<b>104</b>	124	<b>113</b>
	Mn / 257	133 ± 2	<b>104</b>	<b>89</b>	<b>106</b>	<b>97</b>
	P / 213	147 ± 3	61	63	63	57
	Sr / 421	214 ± 6	129	<b>96</b>	126	<b>113</b>
Zn / 213	136 ± 5	136	<b>120</b>	139	128	
Sopa de Galinha com Arroz	Ca / 422	159 ± 14	126	<b>110</b>	133	132
	Cu / 324	-	1395	1246	1505	1535
	Fe / 259	270 ± 14	508	478	534	539
	K / 769	159 ± 9	264	250	276	280
	Mg / 285	129 ± 1	<b>112</b>	<b>104</b>	<b>118</b>	<b>116</b>
	Mn / 257	<b>101 ± 1</b>	<b>94</b>	<b>86</b>	<b>99</b>	<b>100</b>
	P / 213	137 ± 2	27	36	29	29
	Sr / 421	139 ± 3	<b>87</b>	565	<b>93</b>	<b>89</b>
Zn / 213	<b>118 ± 6</b>	<b>111</b>	<b>102</b>	<b>117</b>	<b>118</b>	
Sopa de Legumes com Macarrão	Ca / 422	156 ± 8	<b>108</b>	<b>115</b>	1241	53
	Cu / 324	188 ± 10	812	767	858	1032
	Fe / 259	<b>86 ± 3</b>	77	71	144	<b>94</b>
	K / 769	156 ± 4	145	128	154	180
	Mg / 285	138 ± 2	<b>116</b>	<b>112</b>	122	139
	Mn / 257	<b>120 ± 4</b>	<b>99</b>	<b>96</b>	<b>104</b>	<b>116</b>
	P / 213	142 ± 4	43	59	47	50
	Sr / 421	162 ± 5	<b>101</b>	<b>100</b>	<b>109</b>	<b>118</b>
Zn / 213	<b>104 ± 12</b>	<b>82</b>	<b>103</b>	<b>114</b>	<b>96</b>	

EC: calibração externa; SA: técnica de adição de padrão; SA/S Be: técnica de adição de padrão com o padrão interno Be; SA/S Y: técnica de adição de padrão com o padrão interno Y; SA/S Sc: técnica de adição de padrão com padrão interno Sc // Resultados expressos como média de recuperação (n=3).

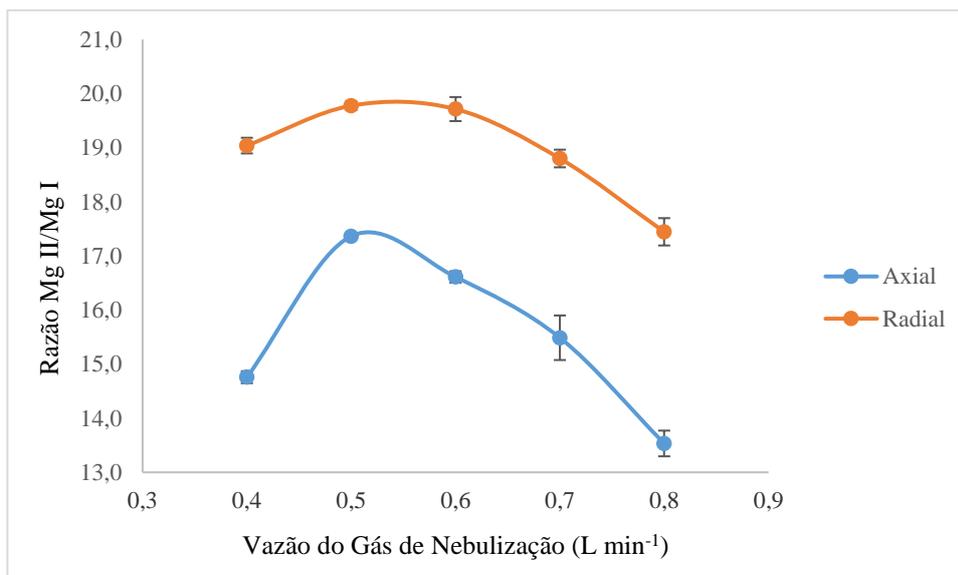
#### **4.4.2.7 Avaliação da solução extratora alcalina de hidróxido de tetrametilamônio (TMAH)**

Conforme mencionado anteriormente, o hidróxido de tetrametilamônio (TMAH) tem sido uma base que pode ser utilizada como solução extratora em procedimentos de extração. Entre as vantagens da sua utilização estão a solubilização fácil da amostra em temperatura ambiente, não requerendo o uso de energia como em dispositivos de aquecimento e evitando, portanto, a perda de analitos voláteis antes da etapa de análise. Contudo, a solubilização das amostras de sopas instantâneas utilizando essa estratégia resultou em soluções opacas, o que pode levar a instabilidade no plasma e à possíveis efeitos de matriz. Diante disso, as condições instrumentais do plasma foram avaliadas e otimizadas.

##### **4.4.2.7.1 Otimização dos parâmetros instrumentais do plasma**

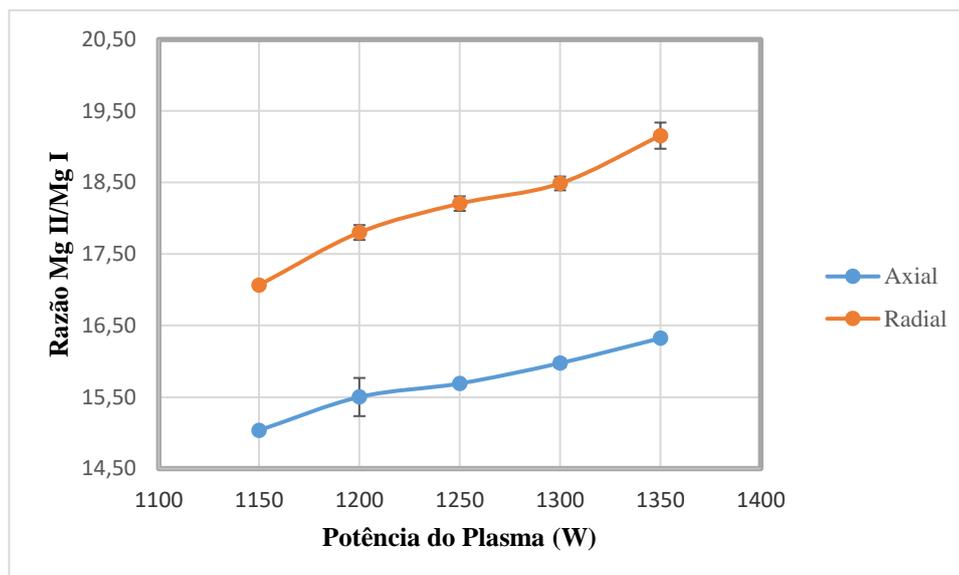
Os parâmetros instrumentais do plasma, potência de radiofrequência do plasma e vazão do gás de nebulização, foram otimizados e analisados com base na robustez do plasma nas configurações de tocha radial e axial. A Figura 4.1 apresenta as razões Mg II/Mg I obtidas ao variar a vazão do gás de nebulização em uma faixa entre 0,4 a 0,8 L min<sup>-1</sup> na análise de uma amostra de sopa solubilizada com o TMAH. Para a realização desse experimento, a potência do plasma foi fixada em 1300 W e a vazão do gás auxiliar em 0,5 L min<sup>-1</sup>.

Na Figura 3.1, é possível observar que as maiores razões Mg II/ Mg I foram obtidas quando as vazões de 0,5 e 0,6 L min<sup>-1</sup> foram utilizadas. Contudo, a utilização da vazão de 0,5 L min<sup>-1</sup> foi a que a robustez teve a melhor precisão, com desvio relativo de 0,2%.



**Figura 4.1.** Otimização da vazão do gás de nebulização ( $\text{L min}^{-1}$ ) empregando 1300 W de potência de radiofrequência do plasma e  $0,5 \text{ L min}^{-1}$  de vazão do gás auxiliar.

A Figura 4.2 apresenta as razões Mg II/Mg I obtidas ao variar a potência de radiofrequência numa faixa de 1150 a 1350 W, fixando a vazão de gás de nebulização em  $0,5 \text{ L min}^{-1}$ , para a mesma solução de amostra utilizada no estudo anterior. É possível visualizar a partir dos resultados que as razões de Mg obtidas foram maiores do 8 para todas as potências de plasma estudadas. Contudo, a potência foi escolhida com base em um parâmetro auxiliar, a razão sinal/ruído do elemento químico Mn, o que é um dos analitos presentes na amostra em menor concentração. Com base nesse parâmetro, a potência de 1300 W foi a adotada, uma vez que a razão sinal/ruído obtida foi a menor com relação à obtida por 1350 W.



**Figura 4.2.** Otimização da potência de radiofrequência do plasma (W) empregando 0,5 L  $\text{min}^{-1}$  de vazão de gás de nebulização e 0,5 L  $\text{min}^{-1}$  de vazão do gás auxiliar.

#### 4.4.2.7.2 Eficiências de Extração obtidas a partir da extração com solução extratora de hidróxido de tetrametilamônio (TMAH)

A disponibilidade desta estratégia com esse tipo de extrator, com agitação manual, foi mostrada através da análise de 16 amostras de diferentes sopas instantâneas, conforme apresentado na Tabela 4.8. Este estudo mostrou que a proposta desse procedimento não foi adequada, uma vez que os resultados foram pouco reprodutíveis e precisos apesar da aparente solubilização das amostras em tais condições.

Alternativas tais como uso do vortex e de maior concentração do TMAH foram também investigadas. Entretanto, verificou-se baixa eficiência de recuperação e resultados pouco repetitivos. Pode-se concluir a partir desse estudo que cada amostra de sopa tem suas peculiaridades bem como possíveis interferentes complexos diferentes entre si e/ou os analitos estão fortemente ligados à matriz, necessitando de procedimentos de decomposição mais drásticos.

#### 4.5 Conclusões Parciais

Em comparação com os procedimentos de preparo de amostra convencionais, os métodos que se utilizam de procedimentos de extração são, geralmente, muito simples, reprodutíveis e promovem a solubilização completa de diferentes amostras estudadas. Além disso, são menos suscetíveis a contaminação ou às perdas por espécies voláteis ou perda na superfície dos frascos, utiliza pequenas quantidades de reagente e amostra.

Também são muito adequados para serem usados em análises de rotina e contribuem para a Química Verde. Contudo, com base nos resultados obtidos nesse capítulo, foi possível perceber que os procedimentos de extração estudados não foram satisfatórios para a completa dessorção, solvatação e difusão do analito da matriz para a fase líquida.

Uma possível razão para essas observações é o fato de que as sopas instantâneas possuem uma grande variedade de ingredientes na sua composição, o que as tornaram um tipo de matriz com certa complexidade. Portanto, diante das estratégias estudadas, não foi possível a proposta de um procedimento de extração com determinações precisas e exatas para todos os analitos de interesse por ICP OES para esse tipo de matriz, sendo necessário a realização de mais estudos ou novas estratégias.

**Tabela 4.8.** Eficiências de extração de amostras de sopas instantâneas utilizando TMAH como solução extratora por ICP OES

Elemento/Amostra	Eficiência de Extração %								
	Ca	Cu	Fe	K	Mg	Mn	P	Sr	Zn
A	43 ± 8	293 ± 51	159 ± 15	148 ± 31	167 ± 37	225 ± 32	170 ± 34	148 ± 26	157 ± 20
B	138 ± 18	<LOD	266 ± 59	198 ± 10	219 ± 20	395 ± 135	202 ± 11	164 ± 42	272 ± 47
C	65 ± 2	57 ± 1	69 ± 3	84 ± 7	81 ± 4	70 ± 1	80 ± 8	101 ± 1	58 ± 4
D	64 ± 13	<LOD	22 ± 4	64 ± 13	68 ± 12	51 ± 9	58 ± 3	66 ± 13	43 ± 13
E	34 ± 3	69 ± 4	12 ± 1	47 ± 3	58 ± 3	51 ± 2	61 ± 4	50 ± 3	37 ± 4
F	63 ± 3	95 ± 5	77 ± 8	86 ± 14	90 ± 6	71 ± 5	84 ± 9	87 ± 4	45 ± 5
G	111 ± 18	343 ± 35	125 ± 22	111 ± 21	123 ± 13	125 ± 22	157 ± 24	145 ± 20	138 ± 20
H	60 ± 4	494 ± 36	222 ± 21	130 ± 4	168 ± 16	198 ± 17	185 ± 2	89 ± 8	161 ± 12
I	32 ± 3	118 ± 5	276 ± 57	123 ± 4	85 ± 6	68 ± 6	101 ± 6	97 ± 17	56 ± 6
J	120 ± 2	173 ± 8	109 ± 7	171 ± 5	152 ± 1	111 ± 2	151 ± 3	107 ± 4	150 ± 5
K	52 ± 1	39 ± 1	25 ± 1	80 ± 1	73 ± 1	64 ± 1	83 ± 1	80 ± 1	56 ± 5
L	50 ± 9	118 ± 22	40 ± 5	97 ± 3	96 ± 18	88 ± 12	100 ± 11	95 ± 12	68 ± 8
M	59 ± 5	88 ± 9	60 ± 7	79 ± 3	79 ± 17	69 ± 7	76 ± 7	73 ± 9	49 ± 5
N	66 ± 3	31 ± 3	56 ± 4	128 ± 14	103 ± 3	71 ± 3	107 ± 5	227 ± 1	64 ± 2
O	117 ± 9	192 ± 19	122 ± 7	163 ± 4	152 ± 8	113 ± 5	140 ± 3	142 ± 7	89 ± 5
P	53 ± 7	46 ± 3	58 ± 10	89 ± 4	68 ± 6	51 ± 4	72 ± 5	89 ± 8	44 ± 6

Resultados expressos com média de recuperação ± desvio padrão (n=3)

## ***CAPÍTULO 5***

---

### *Conclusões Finais*

## 5. CONCLUSÕES FINAIS

A espectrometria de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas é uma técnica analítica que, embora seu desenvolvimento tenha sido mais demorado do que as demais, pode-se dizer que é promissor o seu emprego em laboratórios de análise de rotina e de pesquisa. Com base nas aplicações relatadas nesse trabalho, pode-se avaliar que inúmeras são as suas vantagens: (i) o fato de não requerer uma fonte externa de gás para manutenção do plasma, reduzindo assim os custos de operação da técnica e, (ii) tornando-a mais segura, uma vez que também há a eliminação do uso de gases inflamáveis; (iii) análises mais rápidas do que as realizadas por F AAS; (iv) possibilidade de introdução de soluções orgânicas sem prejuízo da sustentação do plasma de nitrogênio; (v) para matrizes complexas, há ainda a possibilidade do emprego do módulo de injeção de ar no plasma para facilitar a eliminação da matriz e (vi) limites de detecção e faixa de trabalho comparáveis aos dos ICPs e até melhores do que os obtidos por F AAS.

Contudo, vale ressaltar que a temperatura do plasma de nitrogênio (5000 K) é menor do que o plasma de argônio (7500 K), sendo, portanto, em determinados casos, uma limitação para uma maior aplicabilidade da técnica. Apesar disso, pode-se dizer que, frente as vantagens listadas, é uma alternativa eficiente ao F AAS e até mesmo ao ICP OES para laboratórios de pesquisa e de rotina localizados em áreas mais remotas devido aos menores custos de aquisição e operação do MIP OES. Além disso, o desenvolvimento de metodologias com custos-benefícios baixos é interessante bem como a possibilidade de acoplamento dessa técnica com técnicas de separação para análises de especiação química. Essa possibilidade pode ainda ser bastante explorada diante do fato que, cada vez mais, busca-se não somente quantificar o teor total de elementos importantes do ponto de vista toxicológico, mas também identificar e quantificar as diferentes espécies desses elementos.

O método desenvolvido foi considerado adequado para determinação de Cu, Mg, Mn, Zn e P em sopas instantâneas. Os limites estimados para Cu, Mg, Mn, Zn e P foram de 0,09; 4,90; 1,00; 0,04; 5,40 e 0,88 mg kg<sup>-1</sup>, respectivamente. Com base nos resultados, é possível verificar que os limites de detecção obtidos neste trabalho foram menores do que os do trabalho referenciado, com exceção do Mg e P. Embora o plasma de nitrogênio seja caracterizado por uma temperatura mais baixa (5000 K) em relação ao plasma de argônio (7500 K), foi possível determinar todos os analitos usando calibração externa com padrões aquosos simples, o que certamente é atrativo para análises de rotina.

Os procedimentos de extração possuem como grande vantagem em preparo de amostras a sua simplicidade, o que fornece rapidez e a possibilidade de realização sem uso de qualquer ação externa tais como agitação, temperatura ou pressão. Contudo, a eficiência da extração pode ser baixa, uma vez que alguns analitos podem não ser totalmente extraídos da matriz por estarem fortemente ligados à mesma. Com relação às sopas instantâneas, as estratégias estudadas foram insuficientes para proposição de um procedimento único que abrangesse a ampla variedade de composição desse tipo de matriz. Apesar disso, deve-se analisar quais são os objetivos pretendidos no desenvolvimento de um método que utilize a extração e qual o tipo de amostra. Ainda assim, vários trabalhos descritos na literatura a consideraram como uma alternativa interessante para a determinação de elementos essenciais e não essenciais bem como de contaminantes em amostras orgânicas ou inorgânicas.

## CAPÍTULO 6

---

### *Referências Bibliográficas*

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases: Report of a Joint WHO/ FAO Expert Consultation. Geneva; 2003. (WHO Technical Report Series, 916).
2. BIELEMANN, Renata M.; MOTTA, Janaína V. S.; MINTEM, Gicele C.; HORTA, Bernardo L.; GIGANTE, Denise P. Consumption of ultra-processed foods and their impact on the diet of young adults. **Revista de Saúde Pública**, v. 49, p. 28, 2015.
3. LOUZADA, Maria Laura C.; MARTINS, Ana Paula B.; CANELLA, Daniela S.; BARALDI, Larissa G.; LEVY, Renata B.; CLARO, Rafael M.; MOUBARAC, Jean-Claude., CANNON, Geoffrey; MONTEIRO, Carlos Augusto. Ultra-processed foods and the nutritional dietary profile in Brazil. **Revista de Saúde Pública**, v. 49, 2015.
4. MENEGASSI, Bruna; DE ALMEIDA, Juliana B.; OLIMPIO, Mi Ye M.; BRUNHARO, Marina S. M.; LANGA, Fernanda R. The new food classification: theory, practice and difficulties. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 23, p. 4165-4176, 2018.
5. MARTINS, Ana Paula B.; LEVY, Renata B.; CLARO, Rafael M.; MOUBARAC, Jean Claude.; MONTEIRO, Carlos Augusto. Increasead contribution of ultra-processed food products in the Brazilian diet (1987-2009). **Revista de Saúde Pública**, v. 47, p. 656-665, 2013.
6. BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Resolução de Diretoria Colegiada - RDC nº. 269, de 22 de setembro de 2005*. Brasília, DF. Disponível em: [http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/394219/RDC\\_269\\_2005.pdf/2e95553c-a482-45c3-bdd1-f96162d607b3](http://portal.anvisa.gov.br/documents/33916/394219/RDC_269_2005.pdf/2e95553c-a482-45c3-bdd1-f96162d607b3). Acesso em: 22 jan. 2020.
7. BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Estudo aponta grande quantidade de sódio em alimentos industrializados*. Brasília, DF. Disponível em: [http://portal.anvisa.gov.br/anvisa-esclarece?p\\_p\\_id=baseconhecimentoportlet\\_WAR\\_baseconhecimentoportlet&p\\_p\\_lifecycle=0&p\\_p\\_state=normal&p\\_p\\_mode=view&p\\_p\\_col\\_id=column-2&p\\_p\\_col\\_pos=1&p\\_p\\_col\\_count=2&\\_baseconhecimentoportlet\\_WAR\\_baseconhecimentoportlet\\_assuntoId=9&\\_baseconhecimentoportlet\\_WAR\\_baseconhecimentoportlet\\_contenidoId=0&\\_baseconhecimentoportlet\\_WAR\\_baseconhecimentoportlet\\_view=detalhamentos](http://portal.anvisa.gov.br/anvisa-esclarece?p_p_id=baseconhecimentoportlet_WAR_baseconhecimentoportlet&p_p_lifecycle=0&p_p_state=normal&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-2&p_p_col_pos=1&p_p_col_count=2&_baseconhecimentoportlet_WAR_baseconhecimentoportlet_assuntoId=9&_baseconhecimentoportlet_WAR_baseconhecimentoportlet_contenidoId=0&_baseconhecimentoportlet_WAR_baseconhecimentoportlet_view=detalhamentos). Acesso em: 20 jan. 2020.
8. BRASIL. Associação Brasileira das Indústrias da Alimentação. São Paulo, SP. Disponível em: <https://www.abia.org.br/vsn/temp/z201674Posicionamentosodio3fasefinal002.pdf>.

Acesso em: 20 jan. 2020.

9. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Reducing salt intake in populations: report of a WHO forum and technical meeting. Paris, 2006. Disponível em: <[https://www.who.int/dietphysicalactivity/Salt\\_Report\\_VC\\_april07.pdf](https://www.who.int/dietphysicalactivity/Salt_Report_VC_april07.pdf)>. Acesso em: 21 jan. 2020.
10. BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 332, de 23 de dezembro de 2019*. Brasília, DF, 2019. Disponível em: <[http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/4379119/RDC\\_332\\_2019\\_.pdf/6c0d81d8-98ab-4d94-93cc-4a65f59168a0](http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/4379119/RDC_332_2019_.pdf/6c0d81d8-98ab-4d94-93cc-4a65f59168a0)>. Acesso em: 22 jan. 2020.
11. YILDIZ, Esra; SAÇMACI, Serife; KARTAL, Senol; SAÇMACI, Mustafi. A new chelating reagent and application for coprecipitation of some metals in food samples by FAAS. **Food Chemistry**, v. 194, p. 143-148, 2016.
12. OZBEK, N.; BAYSAL, A. A new approach for the determination of sulphur in food samples by high-resolution continuum source flame atomic absorption spectrometer. **Food Chemistry**, v. 168, p. 460-463, 2015.
13. DE ANDRADE, Camila K; DE BRITO, Patrícia M. K.; DOS ANJOS, Vanessa E.; QUINÁIA, Sueli P. Determination of Cu, Cd, Pb and Cr in yogurt by slurry sampling electrothermal atomic absorption spectrometry: A case study for Brazilian yogurt. **Food Chemistry**, v. 240, p. 268-274, 2018.
14. MULLAPUDI, Venkata B. K.; CHANDRASEKARAN, Krishnan; VENKATESWARLU, Gumma; KARUNASAGAR, Dheram. Development of a simple and rapid microwave-assisted extraction method using very dilute solutions of perchloric acid and hydrogen peroxide for the multi-elemental analysis of food materials by ICP-OES: A green analytical method. **Microchemical Journal**, v. 146, p. 807-817, 2019.
15. LONDONIO, Agustín; MORZÁN, Ezequiel; SMICHOWSKI, Patrícia. Determination of toxic and potentially toxic elements in rice and rice-based products by inductively coupled plasma-mass spectrometry. **Food Chemistry**, v. 284, p. 149-154, 2019.
16. BOUMANS, Paul Willy Joseph Maria. Inductively coupled plasma emission spectroscopy. Part II: applications and fundamentals. Volume 2. 1987.
17. CONRADS, H.; SCHMIDT, M. Plasma generation and plasma sources. **Plasma Sources Science and Technology**, v. 9, n. 4, p. 441, 2000.
18. GOLIGHTLY, D. W.; MONTASER, Akbar (Ed.). **Inductively coupled plasmas in analytical atomic spectrometry**. VCH Publishers, 1992.
19. MONTASER, Akbar (Ed.). **Inductively coupled plasma mass spectrometry**. John Wiley

- & Sons, 1998.
20. TENDERO, Claire; TIXIER, Christelle; TRISTANT, Pascal; DESMAISON, Jean; LEPRINCE, Philippe. Atmospheric pressure plasmas: A review. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 61, n. 1, p. 2-30, 2006.
  21. MILLER, Myron H.; EASTWOOD, DeLyle; HENDRICK, Martha Schulz. Excitation of analytes and enhancement of emission intensities in a dc plasma jet: a critical review leading to proposed mechanistic models. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 39, n. 1, p. 13-56, 1984.
  22. THOMPSON, Michael. **Handbook of inductively coupled plasma spectrometry**. Springer Science & Business Media, 2012.
  23. JANKOWSKI, Krzysztof J.; RESZKE, Edward. **Microwave induced plasma analytical spectrometry**. Royal Society of Chemistry, 2011.
  24. JANKOWSKI, Krzysztof; RESZKE, Edward. Recent developments in instrumentation of microwave plasma sources for optical emission and mass spectrometry: Tutorial review. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 28, n. 8, p. 1196-1212, 2013.
  25. JANKOWSKI, K.; JACKOWSKA, A.; ŁUKASIAK, P. Determination of precious metals in geological samples by continuous powder introduction microwave induced plasma atomic emission spectrometry after preconcentration on activated carbon. **Analytica chimica acta**, v. 540, n. 1, p. 197-205, 2005.
  26. JIN, Qinhan; DUAN, Yixiang; OLIVARES, Jose A. Development and investigation of microwave plasma techniques in analytical atomic spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 52, n. 2, p. 131-161, 1997.
  27. COBINE, J. D.; WILBUR, D. A. The electronic torch and related high frequency phenomena. **Journal of Applied Physics**, v. 22, n. 6, p. 835-841, 1951.
  28. MURAYAMA, Seiichi. Effect of sodium on the intensity distribution of rare-earth elements in a 2469 MHz discharge. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 25, n. 4, p. 191-200, 1970.
  29. MURAYAMA, Seiichi; MATSUNO, Hiromitsu; YAMAMOTO, Manabu. Excitation of solutions in a 2450 MHz discharge. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 23, n. 8, p. 513-520, 1968.
  30. MAVRODINEANU, R.; HUGHES, R. C. Excitation in radio-frequency discharges. **Spectrochimica Acta**, v. 19, n. 8, p. 1309-1317, 1963.
  31. MOISAN, Michel; BEAUDRY, Claude; LEPRINCE, Philippe. A small microwave plasma source for long column production without magnetic field. **IEEE Transactions on Plasma**

- Science*, v. 3, n. 2, p. 55-59, 1975.
32. HUBERT, J.; MOISAN, M.; RICARD, A. A new microwave plasma at atmospheric pressure. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 34, n. 1, p. 1-10, 1979.
  33. MOUSSOUNDA, P. S.; RANSON, P.; MERMET, J. M. Spatially resolved spectroscopic diagnostics of an argon MIP produced by surface wave propagation (Surfatron). **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 40, n. 4, p. 641-651, 1985.
  34. LUFFER, Debra R. et al. Evaluation of a supercritical fluid chromatograph coupled to a surface-wave-sustained microwave-induced-plasma detector. **Analytical Chemistry**, v. 60, n. 14, p. 1365-1369, 1988.
  35. GALANTE, Leonard J.; SELBY, Mark; LUFFER, Debra R.; HIEFTJE, Gary M.; NOVOTNY, Milos. Characterization of microwave-induced plasma as a detector for supercritical fluid chromatography. **Analytical Chemistry**, v. 60, n. 14, p. 1370-1376, 1988.
  36. BOUDREAU, D.; HUBERT, J. Atmospheric-pressure argon surface-wave plasma (SWP) as an ion source in elemental mass spectrometry. **Applied spectroscopy**, v. 47, n. 5, p. 609-614, 1993.
  37. BEENAKKER, C. I. M. A cavity for microwave-induced plasmas operated in helium and argon at atmospheric pressure. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 31, n. 8-9, p. 483-486, 1976.
  38. VAN DALEN, J. P. J.; DE LEZENNE COULANDER, P. A.; DE GALAN, L. Improvements of the cylindrical TM010 cavity for an atmospheric pressure microwave-induced plasma. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 33, n. 8, p. 545-549, 1978.
  39. BEENAKER, C. I. M. Evaluation of a microwave-induced plasma in helium at atmospheric pressure as an element-selective detector for gas chromatography. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 32, n. 3-4, p. 173-187, 1977.
  40. BEENAKKER, C. I. M.; BOSMAN, Bieneke; BOUSMAN, P. W. J. M. An assessment of a microwave-induced plasma generated in argon with a cylindrical TM010 cavity as an excitation source for emission spectrometric analysis of solutions. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 33, n. 7, p. 373-381, 1978.
  41. MOTLEY, Curtis B.; ASHRAF-KHORASSANI, Mehdi; LONG, Gary L. Microwave-induced plasma as an elemental detector for packed-column supercritical fluid chromatography. **Applied spectroscopy**, v. 43, n. 5, p. 737-741, 1989.

42. DOUGLAS, D. J.; FRENCH, J. B. Elemental analysis with a microwave-induced plasma/quadrupole mass spectrometer system. **Analytical Chemistry**, v. 53, n. 1, p. 37-41, 1981.
43. ARAI, Yuuki; SATO, Shigeo; WAGATSUMA, Kazuaki. Emission spectrometric analysis using an okamoto-cavity microwave-induced plasma with nitrogen-oxygen mixed gas. **ISIJ international**, v. 53, n. 11, p. 1993-1999, 2013.
44. MAEDA, Tetsuo; WAGATSUMA, Kazuaki. Direct loading of ethanol solution into high-power nitrogen–oxygen mixed gas microwave-induced plasma and the emission characteristics. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 60, n. 1, p. 81-87, 2005.
45. HAMMER, Michael R. A magnetically excited microwave plasma source for atomic emission spectroscopy with performance approaching that of the inductively coupled plasma. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 63, n. 4, p. 456-464, 2008.
46. AMAIS, Renata S; DONATA, George L.; SCHIAVO, Daniela; NÓBREGA, Joaquim A. A simple dilute-and-shoot procedure for Si determination in diesel and biodiesel by microwave-induced plasma optical emission spectrometry. **Microchemical Journal**, v. 106, p. 318-322, 2013.
47. DONATI, George L.; AMAIS, Renata S.; SCHIAVO, Daniela; NÓBREGA, Joaquim A. Determination of Cr, Ni, Pb and V in gasoline and ethanol fuel by microwave plasma optical emission spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 28, n. 5, p. 755-759, 2013.
48. KOVACHEV, N. *et al.* Development and characterization of a Flow Focusing multi nebulization system for sample introduction in ICP-based spectrometric techniques. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 24, n. 9, p. 1213, 2009.
49. NIEDZIELSKI, P.; KOZAK, L.; WACHELKA, M.; JAKUBOWSKI, K.; WYBIERALSKA, J. The microwave induced plasma with optical emission spectrometry (MIP–OES) in 23 elements determination in geological samples. **Talanta**, v. 132, p. 591-599, 2015.
50. OZBEK, Nil; AKMAN, Suleyman. Microwave plasma atomic emission spectrometric determination of Ca, K and Mg in various cheese varieties. **Food Chemistry**, v. 192, p. 295-298, 2016.
51. OZBEK, Nil; AKMAN, Suleyman. Method development for the determination of calcium, copper, magnesium, manganese, iron, potassium, phosphorus and zinc in different types of breads by microwave induced plasma-atomic emission spectrometry. **Food Chemistry**, v.

- 200, p. 245-248, 2016.
52. SAVOIE, Judith; ST-LOUIS, Richard; CLÉMENT, Marie. Facilitating local analysis in northern regions: microwave plasma-atomic emission spectrometry for mercury determination in wild Atlantic salmon. **International journal of environmental analytical chemistry**, v. 98, n. 6, p. 582-591, 2018.
53. LEMOS, Michelle S.; CRUZ, Allan S.; DANTAS, Kelly G. Fernandes. Microwave-Assisted Digestion Procedures Using Diluted Oxidant Mixture for Elemental Analysis of Crustaceans by MIP OES. **Biological trace element research**, v. 191, n. 1, p. 224-230, 2019.
54. LEMOS, Michelle S.; CRUZ, Allan S.; DANTAS, Kelly GF. Sample Preparation Using TMAH and Nitric Acid for Multielement Determination in Crustacean Samples by MIP OES. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 32, p. 455-461, 2021.
55. De SOUZA, Alexander Ossanes et al. Determination of total concentration and bioaccessible fraction of metals in infant cereals by MIP OES. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 77, p. 60-65, 2019.
56. JACOBS, Bruno.; BONEMANN, Daisa H.; PEREIRA, Camila C.; DE SOUZA, Alexander O.; LUCKOW, Ana Claudia B.; LISBOA, Meibel T.; RIBEIRO, Anderson S.; CADORE, Solange; NUNES, Adriane M. Avaliação da concentração total e da fração bioacessível de metais em amostras de casca de uva de cultivares Tannat e Cabernet Sauvignon por MIP OES. **Química Nova**, v. 44, p. 547-552, 2021.
57. DE SÁ, Ivero P.; HIGUERA, Julymar M.; COSTA, Vinicius C.; COSTA, José A. S.; DA SILVA, Caio M. P.; NOGUEIRA, Ana R. A. Determination of trace elements in meat and fish samples by MIP OES using solid-phase extraction. **Food Analytical Methods**, v. 13, n. 1, p. 238-248, 2020.
58. OZBEK, Nil; TINAS, Hande; ATESPARE, Asu Ece. A procedure for the determination of trace metals in rice varieties using microwave induced plasma atomic emission spectrometry. **Microchemical Journal**, v. 144, p. 474-478, 2019.
59. PINTO, Ane Martiele T. P.; BOEIRA, Ana C. S.; LISBOA, Meibel T.; MEDINA, Aline L.; RIBEIRO, Anderson S.; VIEIRA, Mariana A. 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**, v. 30, p. 2395-2403, 2019.
60. SAMPAIO, Maicon R. F.; LISBOA, Meibel T.; TIMM, Janaína G.; RIBEIRO, Anderson S.; VIEIRA, Mariana A.; OTERO, Deborah M., ZAMBLIAZI, Rui C. Multielemental

- determination in sugarcane products from the southern region of Brazil by microwave induced plasma optical emission spectrometry after acid decomposition with a reflux system. **Analytical Methods**, v. 12, n. 10, p. 1360-1367, 2020.
61. PISTÓN, Mariela; SUÁREZ, Analía; BUHL, Valery; TISSOT, Florencia; SILVA, Javier; PANIZZOLO, Luis. Influence of cooking processes on Cu, Fe, Mn, Ni, and Zn levels in beef cuts. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 94, p. 103624, 2020.
62. BONEMANN, Daisa H.; LUCKOW, Ana C. B.; PEREIRA, Camila C.; DE SOUZA, Alexander O.; CADORE, Solange; NUNES, Adriane M.; VIEIRA, Mariana A.; RIBEIRO, Anderson S. Determination of total concentration and bioaccessible fraction of metals in tomatoes and their derivatives by MIP OES. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 96, p. 103716, 2021.
63. DE MESTRAL, Carlos; CHATELAN, Angeline; MARQUES-VIDAL, Pedro; STRINGHINI, Silvia; BOCHUD, Murielle. The contribution of diet quality to socioeconomic inequalities in obesity: A population-based study of Swiss adults. **Nutrients**, v. 11, n. 7, p. 1573, 2019.
64. SCHMIDT, Maria I.; DUNCAN, Bruce B.; E SILVA, Gulnar A.; MENEZES, Ana M.; MONTEIRO, Carlos A.; BARRETO, Sandhi M.; CHOR, Dora; MENEZES, Paulo R. Chronic non-communicable diseases in Brazil: burden and current challenges. **Lancet**, v. 377, n. 9781, p. 1949-61, 2011.
65. STRAZZULLO, Pasquale; D'ELIA, Lanfranco; KANDALA, Ngianga-Bakwin; CAPUCCIO, Francesco P. Salt intake, stroke, and cardiovascular disease: meta-analysis of prospective studies. **Bmj**, v. 339, 2009.
66. TARBAH, Fuad A.; MAHLER, Hellmut; TEMME, Oliver; DALDRUP, Thomas. An analytical method for the rapid screening of organophosphate pesticides in human biological samples and foodstuffs. **Forensic science international**, v. 121, n. 1-2, p. 126-133, 2001.
67. COSTA, Nádia; CRUZ, Rebeca; GRAÇA, Pedro; BREDA, João; CASAL, Susana. Trans fatty acids in the Portuguese food market. **Food Control**, v. 64, p. 128-134, 2016.
68. PIKNOVÁ, Ľubica; JANSKÁ, Veronika; SIEKEL, Peter. Detection method based on real-time polymerase chain reaction for celery (*Apium graveolens*) in beverages and dehydrated soups. **Journal of Food & Nutrition Research**, v. 55, n. 4, 2016.
69. SHIM, You-Shin; KIM, Jong-Chan; JEONG, Seung-Weon. Simultaneous determination of piperine, capsaicin, and dihydrocapsaicin in Korean instant-noodle (Ramyun) soup base using high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection. **Journal of**

- AOAC International**, v. 99, n. 1, p. 187-192, 2016.
70. KREJČOVÁ, Anna; ČERNOHORSKÝ, Tomáš; MEIXNER, Daniel. Elemental analysis of instant soups and seasoning mixtures by ICP–OES. **Food chemistry**, v. 105, n. 1, p. 242-247, 2007.
71. PRESCHA, Anna; ZABŁOCKA-SŁOWIŃSKA, Katarzyna; HOJKA, Anna; GRAJETA, Halina. Instant food products as a source of silicon. **Food chemistry**, v. 135, n. 3, p. 1756-1761, 2012.
72. MARTINEZ, Barbara S.; DE OLIVEIRA, Adriana P.; PEDRO, Francisca G. G.; DE OLIVEIRA, José C.; VILLA, Ricardo D. Determination of the sodium concentration in Brazilian light and non-light powdered instant soups by flame photometry. *Current Nutrition & Food Science*, v. 11, n. 2, p. 131-135, 2015.
73. IUPAC Gold Book. Disponível em: <http://goldbook.iupac.org/PDF/goldbook.pdf>. Acesso em: 21 jul. 2019.
74. BEN-GIGIREY, Begoña; RODRÍGUEZ-VELASCO, María L.; GAGO-MARTÍNEZ, Ana. Extension of the validation of AOAC official method SM 2005.06 for dc-GTX2, 3: interlaboratory study. **Journal of AOAC International**, v. 95, n. 1, p. 111-121, 2012.
75. GONÇALVES, Daniel A.; MCSWEENEY, Tina; DONATI, George L. Characteristics of a resonant iris microwave-induced nitrogen plasma. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, v. 31, n. 5, p. 1097-1104, 2016.
76. NETO, Benício de B.; PIMENTEL, Maria Fernanda; ARAÚJO, Mário César U. Recomendações para calibração em química analítica: parte I. Fundamentos e calibração com um componente (calibração univariada). **Química Nova**, v. 25, p. 856-865, 2002.
77. SKOOG, Douglas A.; WEST, Donald M.; HOLLER, F. James; CROUCH, Stanley R. Fundamentos de Química Analítica, trad. da 9a edição norte-americana. **CENGAGE Learning**, 2014.
78. BARAN, E. J. Suplementação de elementos-traços. **Cadernos Temáticos de Química**, 2005.
79. BREMNER, Ian. Manifestations of copper excess. **The American journal of clinical nutrition**, v. 67, n. 5, p. 1069S-1073S, 1998.
80. ELLIOTT, Taiwona L.; BRAUN, Michael. Electrolytes: Potassium Disorders. **FP essentials**, v. 459, p. 21-28, 2017.
81. KARDALAS, Efstratios; PASCHOU, Stavroula A.; ANAGNOSTIS, Panagiotis; MUSCOGIURI, Giovanna; SIASOS, Gerasimos; VRYNIDOU, Andromachi. Hypokalemia: a clinical update. **Endocrine connections**, v. 7, n. 4, p. R135-R146, 2018.

82. STEFFENSEN, Inger-Lise; FRØLICH, Wenche; DAHL, Knut H.; IVERSEN, Per Ole; LYCHE, Jan L.; LILLEGAARD, Inger T. L.; ALEXANDER, Jan. Benefit and risk assessment of increasing potassium intake by replacement of sodium chloride with potassium chloride in industrial food products in Norway. **Food and Chemical Toxicology**, v. 111, p. 329-340, 2018.
83. GRÖBER, Uwe; SCHMIDT, Joachim; KISTERS, Klaus. Magnesium in prevention and therapy. **Nutrients**, v. 7, n. 9, p. 8199-8226, 2015.
84. ERIKSON, Keith M.; ASCHNER, Michael. **Essential Metals in Medicine: Therapeutic Use and Toxicity of Metal Ions in the Clinic**, p. 253-266, Berlin: De Gruyter, 2019.
85. HUGHES, Erik A. B.; ROBINSON, Thomas E.; BASSET, David B.; COX, Sophie C; GROVER, Liam M. Critical and diverse roles of phosphates in human bone formation. **Journal of Materials Chemistry B**, v. 7, n. 47, p. 7460-7470, 2019.
86. MOCCHEGIANI, Eugenio; ROMEO, Javier; MALAVOLTA, Marco; COSTARELLI, Laura; GIACCONI, Robertina; DIAZ, Ligia-Esperanza; MARCOS, Ascension. Zinc: dietary intake and impact of supplementation on immune function in elderly. **Age**, v. 35, n. 3, p. 839-860, 2013.
87. MERMET, J. M. Trends in instrumentation and data processing in ICP-AES Plenary Lecture. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 17, n. 9, p. 1065-1071, 2002.
88. TREVIZAN, Lilian C.; NÓBREGA, Joaquim A. Inductively coupled plasma optical emission spectrometry with axially viewed configuration: an overview of applications. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 18, n. 4, p. 678-690, 2007.
89. GOLIGHTLY, D. W.; MONTASER, Akbar (Ed.). **Inductively coupled plasmas in analytical atomic spectrometry**. VCH Publishers, 1992.
90. KRUG, Francisco J.; ROCHA, Fábio R. P. **Métodos de preparo de amostras para análise elementar**. EditSBQ, Sociedade Brasileira de Química, São Paulo, 572p, 2016.
91. NÓBREGA, Joaquim A.; SANTOS, Mirian C.; de SOUSA, RAFAEL A.; CADORE, Solange; BARNES, Ramon M.; TATRO, Mark. Sample preparation in alkaline media. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 61, n. 5, p. 465-495, 2006.
92. LEUFROY, Axelle; NOËL; BEAUCHEMIN, Diane; GUÉRIN, Thierry. Bioaccessibility of total arsenic and arsenic species in seafood as determined by a continuous online leaching method. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 402, n. 9, p. 2849-2859, 2012.
93. OOMEN, A. G. et al. Development of an in vitro digestion model for estimating the bioaccessibility of soil contaminants. **Archives of environmental contamination and toxicology**, v. 44, n. 3, p. 0281-0287, 2003.

94. MESTER, Zoltan; STURGEON, Ralph E. **Sample preparation for trace element analysis**. Elsevier, 2003.
95. MONK, David J.; SOANE, David S.; HOWE, Roger T. A review of the chemical reaction mechanism and kinetics for hydrofluoric acid etching of silicon dioxide for surface micromachining applications. **Thin Solid Films**, v. 232, n. 1, p. 1-12, 1993.
96. TODOLI, Jose-Luis; MERMET, Jean-Michel; CASALS, Antonio; HERNANDIS, Vicente. Acid effects in inductively coupled plasma atomic emission spectrometry with different nebulizers operated at very low sample consumption rates. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 13, n. 1, p. 55-62, 1998.
97. OLIVEIRA, Elisabeth de. Sample preparation for atomic spectroscopy: evolution and future trends. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 14, n. 2, p. 174-182, 2003.
98. BARROS, Juan A. V. A.; de SOUZA, Paulino F.; SCHIAVO, Daniela; NÓBREGA, Joaquim A. Microwave-assisted digestion using diluted acid and base solutions for plant analysis by ICP OES. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 31, n. 1, p. 337-343, 2016.
99. BIZZI, Cezar A.; FLORES, Erico M. M.; BARIN, Juliano S.; GARCIA, Edivaldo E.; NÓBREGA, Joaquim A. Understanding the process of microwave-assisted digestion combining diluted nitric acid and oxygen as auxiliary reagent. **Microchemical Journal**, v. 99, n. 2, p. 193-196, 2011.
100. BARBOSA, José Tiago P; SANTOS, Clarissa M. M.; PERALVA, Vanessa N.; FLORES, Erico M. M.; KORN, Mauro; NÓBREGA, Joaquim N.; KORN, Maria G. A. Microwave-assisted diluted acid digestion for trace elements analysis of edible soybean products. **Food Chemistry**, v. 175, p. 212-217, 2015.
101. MOREDA-PIÑEIRO, Antonio; MOREDA-PIÑEIRO, Jorge; BERMEJO-BARRERA, Pilar. Sample pre-treatment methods for organometallic species determination. **Speciation studies in soil, sediment and environmental samples**, v. 19, p. 202, 2013.
102. NOMURA, Cassiana S.; da SILVA, Cíntia S.; OLIVEIRA, Pedro V. Análise direta de sólidos por espectrometria de absorção atômica com atomização em forno de grafite: uma revisão. **Química Nova**, v. 31, p. 104-113, 2008.
103. MOREDA-PIÑEIRO, Jorge; ALONSO-RODRÍGUEZ, Elia; ROMARÍS-HORTAS, Vanessa; MOREDA-PIÑEIRO, Antonio; LÓPEZ-MAHÍA, Purificación; MUNIATEGUI-LORENZO, Soledad; PRADA-RODRÍGUEZ, Darío; BERMEJO-BARRERA, Pilar. Assessment of the bioavailability of toxic and non-toxic arsenic species in seafood samples. **Food Chemistry**, v. 130, n. 3, p. 552-560, 2012.

104. WOLTERS, Mechteldis G. E.; SCHREUDER, Hendrika A. W.; HEUVEL, Grietje V. D.; LONKHUIJSEN, Henk V.; HERMUS, Ruud J. J.; VORAGEN, Alfons G. J. A continuous in vitro method for estimation of the bioavailability of minerals and trace elements in foods: application to breads varying in phytic acid content. **British Journal of Nutrition**, v. 69, n. 3, p. 849-861, 1993.
105. JÚNIOR, Dario S.; KRUG, Francisco J.; PEREIRA, Madson de G.; KORN, Mauro. Currents on ultrasound-assisted extraction for sample preparation and spectroscopic analytes determination. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 41, n. 3, p. 305-321, 2006.
106. KORN, Maria G. A.; BOA MORTE, Elane S.; dos SANTOS, Daniele C. M. B.; CASTRO, Jacira T.; BARBOSA, José T. P.; TEIXEIRA, Alete P.; FERNANDES, Andrea P.; WELZ, Bernhard; dos SANTOS, Wagna P. C.; dos SANTOS, Eduardo B. G. N.; KORN, Mauro. Sample preparation for the determination of metals in food samples using spectroanalytical methods—a review. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 43, n. 2, p. 67-92, 2008.
107. SZYMCZYCHA-MADEJA, Anna; WELNA, Maja; POHL, Pawel. Fast method of elements determination in slim coffees by ICP OES. **Food Chemistry**, v. 146, p. 220-225, 2014.
108. WELNA, Maja; SZYMCZYCHA-MADEJA, Anna. Effect of sample preparation procedure for the determination of As, Sb and Se in fruit juices by HG-ICP-OES. **Food Chemistry**, v. 159, p. 414-419, 2014.
109. NÓBREGA, Joaquim A.; GÉLINAS, Yves; KRUSHEVSA, Antoaneta; BARNES, Ramon M. Determination of elements in biological and botanical materials by inductively coupled plasma atomic emission and mass spectrometry after extraction with a tertiary amine reagent. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, v. 12, n. 10, p. 1239-1242, 1997.
110. MURTHY, Lalitha; MENDEN, Edward E.; ELLER, Peter M; PETERING, Harold G. Atomic absorption determination of zinc, copper, cadmium, and lead in tissues solubilized by aqueous tetramethylammonium hydroxide. **Analytical Biochemistry**, v. 53, n. 2, p. 365-372, 1973.
111. SKOOG, Douglas A.; HOLLER, F. James; CROUCH, Stanley R. **Instrumental analysis**. Belmont: Brooks/Cole, Cengage Learning, 2007.
112. AL-AMMAR, Assad S.; BARNES, Ramon M. Correction for non-spectroscopic matrix effects in inductively coupled plasma-atomic emission spectroscopy by internal standardization using spectral lines of the same analyte. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 53, n. 11, p. 1583-1593, 1998.

113. MYERS, S. A.; TRACY, D. H. Improved performance using internal standardization in inductively-coupled plasma emission spectroscopy. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 38, n. 9, p. 1227-1253, 1983.
114. GROTTI, Marco; MAGI, Emanuele; LEARDI, Riccardo. Selection of internal standards in inductively coupled plasma atomic emission spectrometry by principal component analysis. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 18, n. 3, p. 274-281, 2003.
115. MARQUES, Thiago L.; NOBREGA, Joaquim A. Fast and simple flow-batch extraction procedure for screening of macro and micronutrients in dried plant leaves by ICP OES. **Microchemical Journal**, v. 134, p. 27-34, 2017.
116. MIYAZAWA, M.; PAVAN, M. A.; BLOCK, M. F. M. Determination of Ca, Mg, K, Mn, Cu, Zn, Fe, and P in coffee, soybean, corn, sunflower, and pasture grass leaf tissues by a HCl extraction method. **Communications in soil science and plant analysis**, v. 15, n. 2, p. 141-147, 1984.
117. MAY, Thomas W.; KAISER, Millie L. Evaluation of cryogenic impact grinding technique for powdering whole fish for metal determinations. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, v. 67, n. 3, p. 589-593, 1984.
118. BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução nº 899, de 29 de maio de 2003. Determina a Publicação do “Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos”. **Diário Oficial da União**, 2003.
119. HONDROGIANNIS, E.; PETERSON, K; ZAPF, C. M.; ROY, W.; BLACKNEY, B.; DAILEY, K. The use of wavelength dispersive X-ray fluorescence and discriminant analysis in the identification of the elemental composition of cumin samples and the determination of the country of origin. **Food Chemistry**, v. 135, n. 4, p. 2825-2831, 2012.
120. MONTASER, A. **Inductively coupled plasmas in analytical atomic spectrometry**. Ed. by Montaser A., Golightly DW. 1992.
121. TREVIZAN, Lilian C.; NÓBREGA, Joaquim A. Inductively coupled plasma optical emission spectrometry with axially viewed configuration: an overview of applications. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 18, n. 4, p. 678-690, 2007.
122. MERMET, J. M. Trends in instrumentation and data processing in ICP-AES. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 17, n. 9, p. 1065–1071, 3 set. 2002.
123. LEMOS, Valfredo Azevedo; SANTOS, Luana Novaes; BEZERRA, Marcos Almeida. Determination of cobalt and manganese in food seasonings by flame atomic absorption spectrometry after preconcentration with 2-hydroxyacetophenone-functionalized polyurethane foam. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 23, n. 3, p. 277-281,

- 2010.
124. WELZ, Bernhard. Atomic absorption spectrometry—pregnant again after 45 years. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 54, n. 14, p. 2081-2094, 1999.
  125. KAMALA, C. T. et al. Application of Microwave Plasma Atomic Emission Spectrometry (MP-AES) for environmental monitoring of industrially contaminated sites in Hyderabad City. **Environmental monitoring and assessment**, v. 186, n. 11, p. 7097-7113, 2014.
  126. MCCORMACK, A. J.; TONG, S. C.; COOKE, W. D. Sensitive selective gas chromatography detector based on emission spectrometry of organic compounds. **Analytical chemistry**, v. 37, p. 1470–1476, 1965.
  127. LI, W. *et al.* Microwave plasma-atomic emission spectroscopy as a tool for the determination of copper, iron, manganese and zinc in animal feed and fertilizer. **Talanta**, v. 112, p. 43–48, 2013.
  128. PEREIRA, Catarina D.; AGUIRRE, Miguel Á.; NÓBREGA, Joaquim A.; MONTSERRAT, Hidalgo; CANALS, Antonio. Correction of matrix effects for As and Se in ICP OES using a Flow Blurring® multiple nebulizer. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 27, n. 12, p. 2132-2137, 2012.
  129. OZBEK, N.; AKMAN, S. Determination of boron in Turkish wines by microwave plasma atomic emission spectrometry. **LWT - Food Science and Technology**, v. 61, n. 2, p. 532–535, 2015.
  130. LOWERY, K. L. *et al.* Signal correction using molecular species to improve biodiesel analysis by microwave-induced plasma optical emission spectrometry. **Microchemical Journal**, v. 129, p. 58–62, 2016.
  131. WHITTY-LÉVEILLÉ, Laurence et al. A comparative study of sample dissolution techniques and plasma-based instruments for the precise and accurate quantification of REEs in mineral matrices. **Analytica chimica acta**, v. 961, p. 33-41, 2017.
  132. BARANYAI, Edina; TÓTH, Csilla Noémi; FÁBIÁN, István. Elemental Analysis of Human Blood Serum by Microwave Plasma—Investigation of the Matrix Effects Caused by Sodium Using Model Solutions. **Biological Trace Element Research**, v. 194, n. 1, p. 13-23, 2020.
  133. ZHAO, Y. *et al.* Determination of heavy metals in leather and fur by microwave plasma-atomic emission spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 112, p. 6–9, 2015.
  134. FLORENCE, T. M. Electrochemical approaches to trace element speciation in waters.

- A review. **The Analyst**, v. 111, n. 5, p. 489, 1986.
- 135.** TEMPLETON, D. M. *et al.* Guidelines for terms related to chemical speciation and fractionation of elements. Definitions, structural aspects, and methodological approaches (IUPAC Recommendations 2000). **Pure and Applied Chemistry**, v. 72, n. 8, p. 1453–1470, 1 jan. 2000.
- 136.** BARRIENTOS, E. Y.; WROBEL, K.; GUZMAN, J. C. T.; ESCOBOSAA, A. R. C.; WROBEL, K. Determination of SeMet and Se(IV) in biofortified yeast by ion-pair reversed phase liquid chromatography-hydride generation-microwave induced nitrogen plasma atomic emission spectrometry (HPLC-HG-MP-AES). **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 31, n. June 2016, p. 203–211, 2016.
- 137.** CRUZ, Tania Lizeth Espinoza *et al.* Determination of major and minor elements in Mexican red wines by microwave-induced plasma optical emission spectrometry, evaluating different calibration methods and exploring potential of the obtained data in the assessment of wine provenance. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 164, p. 105754, 2020.