

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Programa de Pós-Graduação em Química



Dissertação de Mestrado

**Avaliação do Sistema Aberto com Refluxo no
Preparo das Amostras de Suco e Erva-mate e
Análise por Técnicas de Espectrometria Atômica**

Camila Corrêa Pereira

Pelotas, julho de 2014

Camila Corrêa Pereira

Avaliação do Sistema Aberto com Refluxo no Preparo das Amostras de Suco e Erva-mate e Análise por Técnicas de Espectrometria Atômica

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Química da Universidade
Federal de Pelotas, como requisito parcial à
obtenção do título de Mestre em Química
(ênfase em Química Analítica)

Orientador: Prof. Dr. Anderson Schwingel Ribeiro

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Mariana Antunes Vieira

Pelotas, 2014

A banca examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação de Mestrado intitulada:

Avaliação do Sistema Aberto com Refluxo no Preparo das Amostras de Suco e Erva-mate e Análise por Técnicas de Espectrometria Atômica

Elaborada por:

CAMILA CORRÊA PEREIRA

Banca examinadora:

.....
Prof Dr. Anderson Schwingel Ribeiro (Orientador - UFPel)

.....
Prof Dr. André Ricardo Fajardo (UFPel)

.....
Prof Dr. Alexandre de Jesus (UFRGS)

*“Para realizar grandes conquistas,
devemos não apenas agir, mas
também sonhar, não apenas
planejar, mas também acreditar.”*

(Anatole France)

Dedico este trabalho:

- À Deus;
- À minha mãe Fernanda;
- Aos meus avós João e Elecy;
- À minha tia Fabiana e primo Christopher;
- Ao meu namorado Alexander;

Por todo apoio, amor e compreensão que me passaram nesses anos, muito obrigada.

Amo vocês.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus por ter me dado saúde e forças para enfrentar todas as dificuldades encontradas ao longo do caminho.

À minha mãe Fernanda por todo amor e por ter estado sempre ao meu lado me apoiando e me incentivando a seguir em frente, além de ter sempre me proporcionado estudo. Mãe eu te amo, muito obrigada por tudo.

Aos meus avós João e Elecy que sempre estiveram presentes me dando amor, incentivo e sendo os melhores avós do mundo.

Aos meus tios; Fabiana que mesmo não estando na mesma cidade sempre esteve presente participando de todas minhas conquistas, e Fabrício que mesmo não estando mais aqui irá fazer parte da minha história para sempre.

Ao meu primo Christopher, por sempre entender quando a prima não podia dar atenção por estar estudando e sempre ser interessado nos meus estudos e trabalhos.

Ao meu grande amor Alexander, por estar ao meu lado em todos os momentos, sendo sempre incentivador dizendo que tudo daria certo e que venceríamos juntos! Por ter sido paciente nos momentos difíceis e companheiro nos momentos bons e ruins. Sem te ter ao meu lado eu não teria conseguido, és um presente de Deus para minha vida, te amo muito, obrigada por existir! Essa vitória também é tua.

À minha sogra Lorena, que eu adoro e tenho grande carinho e admiração, por cada palavra de incentivo, carinho, mimos e ajudas prestadas durante esses anos.

Aos bebês Pitica, Freeky Juin, Hidrocarboneto, Preto, Butiquim e Cota por estar sempre na volta dando carinho e sendo uma grande distração e felicidade na minha vida.

A toda minha família que sempre torceu pelas minhas conquistas e sempre acreditou que eu conseguiria.

Ao meu orientador Prof. Dr. Anderson S. Ribeiro, pela orientação, pelos grandes ensinamentos e oportunidade do meu crescimento profissional, além

da confiança prestada durante este período. À minha co-orientadora Prof^a. Dr^a. Mariana A. Vieira por toda ajuda e confiança depositada.

Aos grandes amigos que conquistei graças ao mestrado: Marta, Michele, Rodrigo e em especial ao Eliézer, obrigada pelos momentos de descontração e ajuda prestada, e que nossa amizade continue por muitos anos com muitos mates e churras!

Aos colegas do grupo: Camila Oliz, Eliete, Marcelo, Caroline, Meibel, Eliane, Ane, Aline Medina, Aline Almeida, Leila, Richard, Ana Clara, Mariana Antunes, Camila Piper, Laura, Emanoelli e Bruna pelas trocas de experiências e convivência durante esses dois anos. Agradeço também a Prof^a. Dr^a. Adriane M. Nunes por toda ajuda prestada e caronas!

Aos amigos: Wendel e Silvana, Camila e Michel, Mariana, Adriana e Maiéli por todos os momentos de descontração, incentivo, curtidas juntos e de grande amizade que sempre levarei comigo.

A todos os professores do curso de mestrado que contribuíram com a minha formação.

Meus sinceros agradecimentos aos membros da banca avaliadora Prof Dr. André Ricardo Fajardo e Prof Dr. Alexandre de Jesus, por sua disposição em estarem contribuindo com este trabalho.

Agradeço a CAPES e ao CNPq pelo suporte financeiro.

A todos de que certa forma contribuíram para minha formação e realização deste trabalho.

RESUMO

PEREIRA, Camila Corrêa. **Avaliação do Sistema Aberto com Refluxo no Preparo das Amostras de Suco e Erva-mate e Análise por Técnicas de Espectrometria Atômica** 2014. 146f. Dissertação (Mestrado em Química). Programa de Pós-Graduação em Química, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos. Universidade Federal de Pelotas.

Neste trabalho apresentam-se novos métodos analíticos para a análise de amostras de sucos e erva-mate por técnicas de espectrometria atômica. Os estudos realizados envolveram desde a etapa de preparo das amostras em sistema de copo aberto com refluxo, até a completa otimização dos equipamentos empregados para a análise instrumental.

Desta forma, o trabalho foi dividido em dois capítulos, um para cada tipo de amostra analisada. Afim de verificar a concentração de alguns elementos essenciais e um potencialmente tóxico, no primeiro capítulo, apresentam-se os resultados dos estudos realizados para a determinação de Cu, Cr, K, Mg, Na, Zn e Pb por técnicas como espectrometria de absorção atômica em chama (F AAS), espectrometria de emissão atômica em chama (F AES) e espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GF AAS) em amostras de sucos industrializados em caixa do tipo longa vida. Para as amostras de suco utilizou-se a decomposição ácida em bloco digestor com adaptação do sistema de refluxo aos tubos digestores. Com esse sistema foi possível elevar a temperatura do bloco digestor até 200 °C, evitando assim a perda de ácido e de analitos por volatilização. Para a mineralização de 15,0 mL das amostras de suco, foram utilizados 15,0 mL de HNO₃ e 1,0 mL de H₂O₂ por um tempo total de 3 h de aquecimento. Para avaliação da exatidão, teste de adição do analito foi realizado nas amostras, com três diferentes níveis de concentração dos analitos Cu, Cr, K, Mg, Na, Zn e Pb, obtendo resultados de recuperação na faixa de 80 a 119%.

No segundo capítulo, apresenta-se estudos de comparação entre dois métodos de decomposição ácida para a determinação de Al, Ca, Fe, Mg, Mn, Na e Zn em amostras de erva-mate (*Ilex paraguariensis*), utilizando a técnica de espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES). O primeiro método envolve a decomposição ácida usando o sistema de refluxo. As amostras foram tratadas com uma mistura de 5,0 mL de HNO₃ e 1,0 mL de H₂O₂ por um período de 3 h de aquecimento a 220 °C no bloco digestor. O segundo método utilizado foi o de decomposição assistida por radiação de micro-ondas, onde 0,5 g de amostra foram misturadas com 5,0 mL de HNO₃, 2,0 mL de H₂O₂ e 4,0 mL de H₂O em frascos fechados, e, em seguida,

submetidos a um programa de aquecimento do forno micro-ondas. Os resultados de cinco amostras de erva-mate comerciais foram comparados com os resultados obtidos utilizando-se digestão de micro-ondas. Boa concordância entre os métodos em um nível de confiança de 95% foi obtida com valores de RSD inferiores a 10,0%. A exatidão foi avaliada por meio de testes de adição do analito e as recuperações para ambos os procedimentos variaram entre 80,5 a 112,8%. O método proposto mostrou-se adequado para a determinação destes analitos em análises de rotina.

Palavras-chave: Suco, Erva-mate, Métodos de decomposição ácida, Técnicas de Espectrometria atômica.

ABSTRACT

PEREIRA, Camila Corrêa. **Evaluation of open system with reflux on sample preparation of juice and yerba mate samples and analysis by Atomic Spectrometry techniques.** 2014. 146f. Thesis (Master degree in Chemistry). Post Graduate Program in Chemistry. Center for Chemical, Pharmaceutical and Food Science, Federal University of Pelotas.

This work presents new analytical methods for the analysis of samples of juice and yerba mate by techniques of atomic spectrometry methods. The studies involved since the step of sample preparation in open system with reflux until the complete optimization of the equipment used for instrumental analysis.

Thus, this thesis was divided in two chapters, one for each type of sample analyzed. The first chapter presents the results of studies carried for out the determination of Cu, Cr, K, Mg, Na, Zn and Pb by Flame Atomic Absorption Spectrometry (F AAS), Flame Atomic Emission spectrometry (F AES) and Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry (GF AAS) thechniques on juice samples processed in long life packaging. The juice samples were digested by acid decomposition using a digester block equipper with a reflux system adapted in the digester tubes. With this system it was possible to reach the temperature of the digester block 200 °C, without losses of acid or analytes by evaporation. For the mineralization of 15.0 ml juice sample, 15.0 mL of HNO₃ and 1.0 mL of H₂O₂ followed of heating at 200 °C by 3 hours total were used. To evaluate the accuracy of method, the analyte addition test was performed with the samples using three different concentration levels of the analytes Cu, Cr, K, Mg, Na, Zn and Pb and the recovery ranged 80 to 119%.

In the second chapter, is presented studies of comparison between two different acid decomposition procedures for the determination of Al, Ca, Fe, Mg, Mn, Na and Zn in yerba mate samples using Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (ICP OES). The first method involves the acid decomposition using a reflux system. The samples were treated with a mixture of 5.0 mL HNO₃ and 1.0 mL H₂O₂ for a period of 3 hours with heating at 220°C in the digester block. The second method used was the decomposition assisted by microwave radiation, wherein 0.5 g of sample was mixed with 5.0 ml of HNO₃, H₂O₂ and 2.0 mL 4.0 mL of H₂O in closed flasks and then submitted to a heating program of microwave oven. The results from five commercial yerba mate samples were compared with the results obtained using microwave digestion. Good agreement between the methods at a 95% confidence level was obtained with RSD values lower than 10.0%. The accuracy was evaluated using addition and recovery experiments. The recoveries for both procedures

ranged between 80.5 to 112.8%. The proposed method proved to be adequate for the determination of these analytes in routine analysis.

Keywords: Juice, Yerba mate, Acid Decomposition Methods, Atomic Spectrometry Techniques.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Os 20 principais mercados de consumo de sucos, 2009 (Volumes em litros).....	9
Figura 2	Material da embalagem Tetra Pak®	11
Figura 3	Classificação dos elementos da tabela periódica.....	13
Figura 4	Minas de produção de chumbo por países.....	14
Figura 5	Desenho esquemático de (A) Dedo frio, (B) Tubo de digestão e (C) Tubo de digestão com dedo frio.....	27
Figura 6	(A) Diagrama esquemático do dedo frio acoplado ao tubo de digestão de vidro e (B) Foto do sistema de dedo frio.....	29
Figura 7	Faixa de limite de detecção para alguns métodos de análises.....	31
Figura 8	Processo de absorção atômica.....	33
Figura 9	Componentes básicos de um espectrômetro de absorção atômica com seus atomizadores (F AAS, GF AAS e CVG AAS).....	34
Figura 10	Desenho esquemático de um nebulizador pneumático e suas partes junto ao atomizador chama.....	36
Figura 11	Forno de grafite desenvolvido por Boris L'vov.....	38
Figura 12	Forno de grafite desenvolvido por Hans Massmann.....	38
Figura 13	Plataforma de L'vov.....	39
Figura 14	Etapas ilustrativas de um programa de aquecimento para análise por GF AAS.....	41
Figura 15	Sistema de refluxo utilizado no processo de preparo das amostras.....	46
Figura 16	Processo de decomposição ácida utilizando o sistema de refluxo.....	48
Figura 17	Sólidos totais presentes nas amostras de suco de laranja.....	49

Figura 18	Sinais analíticos para Mg, Zn e Cu por F AAS e Na e K por F AES.....	51
Figura 19	Amostras de suco de laranja com a adição de v1 (2,5 mL) de HNO ₃ e (A) 1 mL de H ₂ O ₂ , (B) 0 mL de H ₂ O ₂	52
Figura 20	Efeito do volume de ácido nas soluções resultantes das mineralizações.....	53
Figura 21	(A) Amostra teste 4, (B) Amostra teste 5 a temperatura do bloco digestor de 80 °C.....	54
Figura 22	(A) Amostra teste 4, (B) Amostra teste 5 a temperatura do bloco digestor de 120 °C.....	55
Figura 23	(A) Amostra teste 4, (B) Amostra teste 5 a temperatura do bloco digestor de 160 °C.....	55
Figura 24	(A) Amostra teste 4, (B) Amostra teste 5 a temperatura do bloco digestor de 200 °C.....	56
Figura 25	(A) Amostra teste 4, (B) Amostra teste 5 a temperatura do bloco digestor de 220 °C.....	56
Figura 26	Efeito da temperatura e tempo nas soluções resultantes das mineralizações.....	57
Figura 27	Curva de pirólise e atomização para Pb em meio aquoso e em meio de amostra utilizando o modificador químico universal Pd/Mg obtidos por GF AAS. Pirólise meio amostra (-■-), Atomização meio amostra (-▲-), Pirólise meio aquoso (-●-), Atomização meio aquoso (-▼-).	59
Figura 28	Erveira e folha de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> , St. Hill.).....	76
Figura 29	Chapa com aquecimento por condução.....	84
Figura 30	Aquecimento assistido por radiação micro-ondas.....	85
Figura 31	Componentes de um forno micro-ondas utilizado para o preparo das amostras.....	86
Figura 32	Processo de emissão atômica.....	89

Figura 33	Tocha de formação do plasma com as seções anulares externa, intermediária e interna.....	90
Figura 34	Fonte de plasma indutivamente acoplado.....	91
Figura 35	Processos que ocorrem na amostra após a sua introdução no plasma.....	93
Figura 37	Nebulizadores pneumáticos do tipo: (A) Fluxo Cruzado (Cross-flow); (B) concêntrico.....	94
Figura 38	Nebulizador do tipo concêntrico.....	95
Figura 39	Nebulizador ultrassônico.....	96
Figura 40	Amostra de erva-mate após decomposição em sistema fechado assistido por radiação micro-ondas.....	101

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Conceito STPF aplicado a GF AAS.....	40
Tabela 2	Condições operacionais utilizadas para as análises por F AAS e FAES.....	44
Tabela 3	Condições operacionais utilizadas no GF AAS para as determinações de Pb.....	45
Tabela 4	Programa de tempo e temperatura utilizados na determinação de Pb nas amostras de sucos por GF AAS.....	60
Tabela 5	Parâmetros de mérito obtidos para análise das amostras de suco por F AAS e F AES após digestão em copo aberto com sistema de refluxo.....	60
Tabela 6	Parâmetros de mérito obtidos para o Pb por GF AAS após digestão das amostras de sucos em copo aberto com sistema de refluxo.....	61
Tabela 7	Determinação de Cu por F AAS para as amostras de sucos e suas recuperações. (n=3).....	62
Tabela 8	Determinação de Cr por F AAS para as amostras de sucos e suas recuperações. (n=3).....	63
Tabela 9	Determinação de K por F AES para as amostras de sucos e suas recuperações. (n=3).....	64
Tabela 10	Determinação de Mg por F AAS para as amostras de sucos e suas recuperações. (n=3).....	65
Tabela 11	Determinação de Na por F AES para as amostras de sucos e suas recuperações. (n=3).....	66
Tabela 12	Determinação de Zn por F AAS para as amostras de sucos e suas recuperações. (n=3).....	67
Tabela 13	Determinação de Pb nas amostras de sucos por GF AAS e suas recuperações. (n=3).....	70
Tabela 14	Condições de operação do ICP OES.....	98
Tabela 15	Programa de aquecimento do forno de micro-ondas.....	101

Tabela 16	Parâmetros de mérito para os diferentes métodos de decomposição ácida de amostras de erva-mate obtida por ICP OES.....	103
Tabela 17	Resultados analíticos para os analitos avaliados em cinco amostras de erva-mate. (n=3).....	104
Tabela 18	Concentração encontrada após a adição de analito na amostra E. (n=3).....	107

LISTA DE ABREVIATURAS

α	Coeficiente de Correlação Angular da Curva
AAS	Espectrometria de Absorção Atômica, do inglês <i>Atomic Absorption Spectrometry</i>
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CVG AAS	Espectrometria de Absorção Atômica com Geração Química de Vapor, do inglês <i>Chemical Vapor Generation Atomic Absorption Spectrometry</i>
E	Energia
eV	Elétron-volt
F AAS	Espectrometria de Absorção Atômica em Chama, do inglês <i>Flame Atomic Absorption Spectrometry</i>
F AES	Espectrometria de Emissão Atômica em Chama, do inglês <i>Flame Atomic Emission Spectrometry</i>
GF AAS	Espectrometria de Absorção Atômica em Forno de Grafite, do inglês <i>Graphite furnace atomic absorption spectrometry</i>
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ICP OES	Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado, do inglês <i>Inductively Coupled Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry</i>
ICP-MS	Espectrometria de Massas com Plasma Indutivamente Acoplado, do inglês <i>Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry</i>
ILA	Associação Internacional de Chumbo, do inglês <i>International Lead Association</i>
Inmetro	Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia
LD	Limite de Detecção

LQ	Limite de Quantificação
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
PFA	Perfluoroalcoxi
PPB	Partes por bilhão
PPM	Partes por Milhão
PTFE	Politetrafluoroetileno
R²	Coeficiente de Correlação Linear ao quadrado
RSD	Desvio Padrão Relativo, do inglês <i>Relative Standard Deviation</i>
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
S	Sensibilidade
SD	Desvio Padrão, do inglês <i>Standard Deviation</i>
STPF	Forno Plataforma com Temperatura Estabilizada, do inglês <i>Stabilized Temperature Plataform Furnace</i>
TFMTM	Politetrafluoroetileno quimicamente modificado
V	Frequência
WHO	Organização Mundial da Saúde, do inglês <i>World Health Organization</i>
X	Média
Λ	Comprimento de Onda

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1

Desenvolvimento e Validação de Metodologia para Análise de Suco Industrializados

1.	Introdução.....	3
2.	Objetivo.....	6
2.1	Objetivos Gerais.....	6
2.2	Objetivos Específicos.....	6
3.	Revisão da Literatura.....	7
3.1	Sucos Industrializados.....	7
3.1.1	Exportação dos sucos.....	8
3.1.2	Embalagens cartonadas.....	10
3.1.3	Legislação brasileira do suco industrializado.....	11
3.2	Metais.....	12
3.2.1	Chumbo (Pb)	13
3.2.2	Cobre (Cu)	15
3.2.3	Cromo (Cr)	15
3.2.4	Magnésio (Mg)	16
3.2.5	Potássio (K)	17
3.2.6	Sódio (Na)	18
3.2.7	Zinco (Zn)	19
3.3	Preparo da amostra.....	19
3.3.1	Métodos para o preparo de amostras biológicas.....	21
3.3.1.1	Decomposição de amostras biológicas.....	21
3.3.1.2	Método de preparo de amostra para amostras de sucos.....	23
3.3.1.3	Sistema em refluxo para o preparo de amostras.....	25
3.4	Técnicas analíticas para determinação de Cu, Cr, K, Mg, Na, Pb e Zn.....	30
3.4.1	Espectrometria de absorção atômica (AAS).....	32
3.4.1.1	Espectrometria de absorção atômica em chama (F AAS).....	35
3.4.1.2	Interferências.....	36

3.4.1.3	Espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GF AAS)	37
3.4.1.3.1	Modificadores químicos.....	42
4.	Materiais e métodos.....	44
4.1	Instrumentação.....	44
4.2	Reagentes e materiais.....	46
4.3	Preparo das amostras e soluções de calibração.....	47
4.3.1	Preparo das amostras.....	47
4.3.2	Curvas de calibração para F AAS, F AES e GF AAS.....	48
5.	Resultados e discussão.....	49
5.1	Sólidos totais.....	49
5.2	Estudos de decomposição das amostras.....	49
5.3	Otimização do programa de temperatura GF AAS.....	57
5.3.1	Otimização do programa de temperatura para Pb.....	58
5.4	Parâmetros de mérito.....	60
5.4.1	Parâmetros de mérito obtidos para o Cu, Cr, K, Mg, Na e Zn por F AAS e F AES.....	60
5.4.2	Parâmetros de mérito obtidos para o Pb por GF AAS.....	61
5.5	Resultados da determinação de Cu, Cr, K, Mg, Na e Zn por F AAS e F AES em amostras de suco.....	61
5.6	Resultados da determinação de Pb por GF AAS em amostras de suco.....	69
6.	Considerações Finais.....	71

CAPÍTULO 2

Desenvolvimento e Validação de Metodologias para Análise de Erva-mate (Ilex Paraguariensis)

1.	Introdução.....	73
2.	Objetivo.....	75
2.1	Objetivos Gerais.....	75
2.2	Objetivos Específicos.....	75
3.	Revisão da Literatura.....	76

3.1	Erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i>)	76
3.1.1	Produção.....	77
3.1.1.1	Ciclo cancheamento.....	78
3.1.1.2	Ciclo do beneficiamento.....	79
3.1.2	Exportação.....	79
3.2	Metais.....	80
3.2.1	Alumínio (Al)	80
3.2.2	Cálcio (Ca)	81
3.2.3	Ferro (Fe)	82
3.2.4	Manganês (Mn)	82
3.3	Preparo da amostra.....	83
3.3.1	Decomposição ácida.....	83
3.3.1.1	Uso do forno de micro-ondas.....	83
3.3.1.2	Preparo de amostra de erva-mate.....	87
3.3.1.3	Uso do sistema de refluxo.....	87
3.4	Técnica de análise para determinação dos analitos.....	88
3.4.1	Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES)	88
3.4.1.1	Fonte de energia: Plasma.....	89
3.4.1.2	Introdução da amostra.....	93
3.4.1.3	Interferências.....	96
3.4.1.3.1	Efeitos de matriz.....	96
3.4.1.3.2	Interferências espectrais.....	97
4.	Materiais e métodos.....	98
4.1	Instrumentação.....	98
4.2	Reagentes e materiais.....	99
4.3	Preparo das amostras e soluções de calibração.....	99
4.3.1	Sistema de refluxo (Procedimento 1).....	100
4.3.2	Sistema fechado assistido por radiação micro-ondas (Procedimento 2)	100
5.	Resultados e discussão.....	102
5.1	Teor de cinzas e umidade na erva-mate.....	102
5.2	Parâmetros de mérito.....	102

5.3	Resultados da determinação de Al, Ca, Fe, Mg, Mn, Na e Zn em amostras de erva-mate.....	103
6.	Considerações Finais.....	109
	Referências Bibliográficas.....	110

CAPÍTULO 1

Desenvolvimento e Validação de Metodologia para Análise de Suco Industrializados

1. Introdução

Atualmente, estima-se que uma pessoa consuma em média 730 litros por ano de alimentos líquidos. No Brasil, o total consumido por pessoa por categoria de bebida como: café, refrigerantes, cerveja, água envasada, chá, bebidas alcoólicas, sucos, entre outras, é de aproximadamente 246 litros por ano. O mercado brasileiro de sucos prontos para beber (néctar) é responsável por movimentar cerca de 250 milhões de litros/ano. No entanto, os consumidores brasileiros resistem a ingerir sucos industrializados. Nesse contexto, as marcas procuram oferecer uma composição diferenciada para auxiliar na saúde do consumidor e inovação para atrair os consumidores (ROSA et al., 2006 e IBRAF, 2014).

Em geral, os sucos prontos para beber são comercializados em embalagens de vidro, lata e Tetra Pak®, tornando mais fácil o transporte e aquisição por parte da população (FROES et al., 2009). Dados estimam que o mercado mundial de sucos movimenta aproximadamente 5 bilhões de dólares por ano, com o consumo global centralizado nos países da Europa e América do Norte, onde a renda *per capita* é mais elevada. Em relação a exportação, o Brasil é um dos maiores polos mundiais de produção de sucos de frutas, alcançando cerca de US\$ 1,3 bilhão. O suco de laranja é o mais consumido correspondendo a 92,7% do mercado, os 7,3% restantes são referentes aos sucos de maçã, uva, abacaxi, pomelo e demais frutas (CITRUS, 2014).

A incorporação de elementos em produtos alimentícios provenientes da agricultura pode advir da composição do solo, que pode ser alterada a partir de ações antropogênicas ou naturais. Isso se torna uma grande preocupação, visto que metais potencialmente tóxicos podem ser absorvidos pelas plantas, comprometendo assim o produto final que chega até o consumidor (YIN et al., 2014).

Dentre os contaminantes que podem ser encontrados em alimentos líquidos destaca-se o Pb, sendo esse elemento tóxico ao ser humano e sua toxicidade está relacionada a sua capacidade de substituir os elementos essenciais, como o Ca e sua grande afinidade com grupamento –SH. Dessa forma, esse elemento pode causar estresse oxidativo, baixa taxa de excreção e

capacidade de acumulação no pulmão, fígado, rim e sistema ósseo (AZEVEDO e CHASIN, 2003). Além do Pb, também deve ser dada atenção aos elementos: Cu (CETESB, 2014), Cr (QUINTAES, 2000), Mg (FOOD INGREDIENTS, 2008), K (FOOD INGREDIENTS, 2008; VANNUCCHI et al., 2007), Na (FOOD INGREDIENTS, 2008; VANNUCCHI et al., 2007 e WHO, 2010b) e Zn (KOURY e DONANGELO, 2003) que em concentrações elevadas podem ser potencialmente tóxicos ao ser humano (TOKALIOĞLU e GÜRBÜZ, 2010).

Dessa forma, é necessário o emprego de métodos analíticos sensíveis e confiáveis para quantificação e controle destes elementos nos sucos, pois assim é possível fornecer uma segurança alimentar aos consumidores. A escolha da técnica de análise elementar é uma etapa importante, pois é a partir dela que serão obtidos os resultados analíticos. Atualmente, existe uma grande quantidade de técnicas analíticas e para que possa ser escolhida uma ideal deve-se saber a natureza da amostra, os analitos que serão determinados e a concentração dos mesmos na amostra, assim facilitando na escolha da melhor técnica para cada caso (HOLLER et al., 2009 e TORMEN et al., 2011).

A técnica de F AAS é muito utilizada nos laboratórios de rotina por ser simples, robusta, seletiva e capaz de diferenciar os analitos em matrizes distintas, além disso, o custo do equipamento e da manutenção são baixos (WELZ et al., 1999). Contudo, as técnicas de F AAS e F AES apresentam dificuldade na determinação de elementos traço, devido à baixa sensibilidade. Para os elementos propostos nesse primeiro capítulo da dissertação as técnicas mostram-se ideais para determinação de: Cu, Cr, K, Na, Mg e Zn que na amostra de suco apresentam concentração elevada, assim sendo possível a quantificação (TOKALIOĞLU e GÜRBÜZ, 2010).

Para o analito Pb é necessário utilizar uma técnica de determinação mais sensível, já que sua concentração na amostra é baixa. Dessa forma, para este estudo a técnica de GF AAS torna-se ideal já que apresenta como vantagens os baixos limites de detecção para diversos analitos, além de necessitar de pequena quantidade de amostra, possibilidade de análise direta e um mínimo tratamento da amostra para determinação. No entanto, pode apresentar como desvantagem o fornecimento de sinais de fundo altos no momento da atomização proveniente da matriz da amostra, dessa forma, o uso

de corretores de fundo é necessário para que esse sinal não sofra interferência no sinal do analito (WELZ et al., 1999 e NOMURA et al., 2008).

Para a matriz ser separada totalmente ou parcialmente do analito é necessário realizar o preparo da amostra, dessa forma a amostra é convertida em uma forma adequada para posterior análise (KRUG, 2010). Exceto para a técnica de análise direta de sólidos, os procedimentos analíticos em sua maioria, necessitam que a amostra esteja no estado líquido para que possa ser inserida nos equipamentos e fazer a determinação dos analitos (FLORES et al., 2007 e MASSON et al., 2007). Os processos de decomposição, geralmente, envolvem a adição de reagentes e/ou fornecimento de energia, que seja suficiente para romper algumas ligações químicas (KRUG, 2010 e OLIVEIRA, 2003).

Atualmente, existe a necessidade do desenvolvimento de novos métodos de preparo de amostras que sejam alternativos aos métodos já consagrados na literatura como os sistemas abertos e fechados, uma vez que estes podem apresentar, dependendo da matriz e as condições de trabalho, desvantagens como possíveis perdas de analitos por volatilização, necessidade de reposição de reagentes, elevado tempo e custo. O sistema de refluxo vem se destacando principalmente por apresentar baixo custo, o qual consiste de um recipiente comprido e circular que é encaixado em uma tampa de PTFE que por sua vez é encaixada ao tubo de digestão. O sistema faz com que os reagentes e analitos entrem em contato com o dedo frio que possui temperatura inferior à da solução e condensem, voltando assim para a solução, sem que tenha a perda de analitos e reagentes por volatilização (ORESTE et al., 2013a).

2. Objetivos

2.1 Objetivos gerais

Este trabalho tem como objetivo geral propor um método de preparo de amostras para a determinação de Cu, Cr, K, Mg, Na, Zn e Pb em amostras de suco industrializados armazenados em caixa do tipo longa vida por F AAS, F AES e GF AAS.

2.2 Objetivos Específicos

- Apresentar estudos para avaliar eficiência do sistema de refluxo na etapa de preparo das amostras em copo aberto;
- Salientar as vantagens e desvantagens do sistema proposto com os demais métodos convencionais apresentados na literatura;
- Discutir os resultados obtidos para o processo de decomposição ácida;
- Avaliar se a metodologia desenvolvida pode ser aplicada para o controle dos elementos estudados para as amostras de sucos industrializados.

3. Revisão da Literatura

3.1 Sucos industrializados

Nos últimos anos os sucos industrializados tem apresentado um forte potencial de crescimento. Dessa forma tem incentivado o ingresso de várias empresas nesse mercado. Os sucos para consumo podem ser classificados em cinco categorias (ROSA et al., 2006):

I) *sucos naturais*: elaborados espremendo ou esmagando diretamente a própria fruta;

II) *sucos em pó*: produzidos por um processo de desidratação que retira a água presente na fruta, assim permitindo a conservação da fruta por longos períodos, além de poder ser preparado com facilidade;

III) *sucos concentrados*: suco natural desidratado a fim de torná-lo mais concentrado e denso, com volume reduzido;

IV) *sucos néctar (prontos para beber)*: fabricados através da composição do extrato de suco, da água e de uma série de aditivos, como edulcorantes, aromatizantes, corantes e conservantes, que intensificam, conservam e aprimoram as características do suco;

V) *sucos de polpa*: é caracterizado pela ausência de qualquer processo químico e industrial para a preservação de todas as propriedades organolépticas das frutas, não perdendo assim suas vitaminas, fibras, sabores e a coloração natural mediante o congelamento da polpa *in natura*.

A maioria da população brasileira tem preferência por sucos naturais, espremidos na hora, e muitos são contra o consumo dos sucos industrializados. Isso se deve a grande facilidade que o consumidor tem de adquirir frutas, principalmente as tropicais, a preços baixos, em qualquer época do ano. O suco em pó é o segundo mais consumido, em 2004 movimentou 2,4 bilhões de litros (medida inclui a água adicionada) e é a categoria que mais cresceu no país nos últimos anos. Características como preços baixos, praticidade, alto rendimento de envelope (40 g de suco em pó rendem 1 L de suco) garantem alta demanda do produto no mercado. Além disso, nos últimos anos, as empresas estão conseguindo desvincular os sucos em pó da imagem

de artificialidade com menos adição de açúcar, com mais propriedades nutritivas e com uma consistência mais próxima a do suco natural assim, impulsionando as vendas entre os consumidores de menor poder aquisitivo (ROSA et al., 2006).

Já os mercados dos sucos concentrados e dos sucos de polpas baseiam-se no aspecto da conservação das propriedades nutritivas das frutas e assim conquistam seus consumidores. Além disso, para os sucos concentrados existe grande praticidade em relação ao consumo e a distribuição, já para os sucos de polpas, é necessário o uso de congelador para conservar as polpas *in natura* e embalá-las em sacos plásticos, o que dificulta a sua comercialização (ROSA et al., 2006 e IBRAF, 2014).

3.1.1 Exportação dos sucos

Os sucos de frutas são comercializados globalmente principalmente na forma concentrada, pela facilidade de transporte e longa conservação do produto. Dados do ano de 2004, estimam que o mercado mundial de sucos movimentou aproximadamente 5 bilhões de dólares, com o consumo global centralizado nos países da Europa e América do Norte, onde a renda *per capita* é mais elevada. Em países com níveis de renda menores, o consumo não ultrapassa a marca de 4 litros (per capita) por ano. O suco de laranja é o mais consumido no mercado internacional de sucos e suas exportações alcançaram cerca de 1,5 bilhão de dólares em 2004. Já em relação aos outros sucos de frutas, com os dados de 2011, é possível observar que as exportações dos sucos de maçã cresceram 17,25% em volume e 23,21% em valor, porém as exportações de sucos de uva recuaram 45,52% em volume e 58,0% em valor (ROSA et al., 2006 e IBRAF, 2014).

O Brasil é um dos maiores polos mundiais de produção de sucos de frutas, em 2004, as exportações alcançaram US\$ 1,3 bilhão, o suco de laranja correspondeu a 92,7%, os 7,3% restantes são referentes aos sucos de maçã, uva, abacaxi, pomelo e demais frutas. Os quatro maiores exportadores de sucos de frutas são o Brasil, Estados Unidos, Espanha e México. Contudo, mesmo que o Brasil seja o maior produtor mundial de suco de laranja, as

exportações brasileiras referem-se ao produto processado básico, posteriormente ele é colocado no mercado com marcas próprias por distribuidores locais (ROSA et al., 2006 e CITRUS, 2014). Na Figura 1 pode observar os 20 principais mercados de consumo de sucos no mundo no ano de 2009.

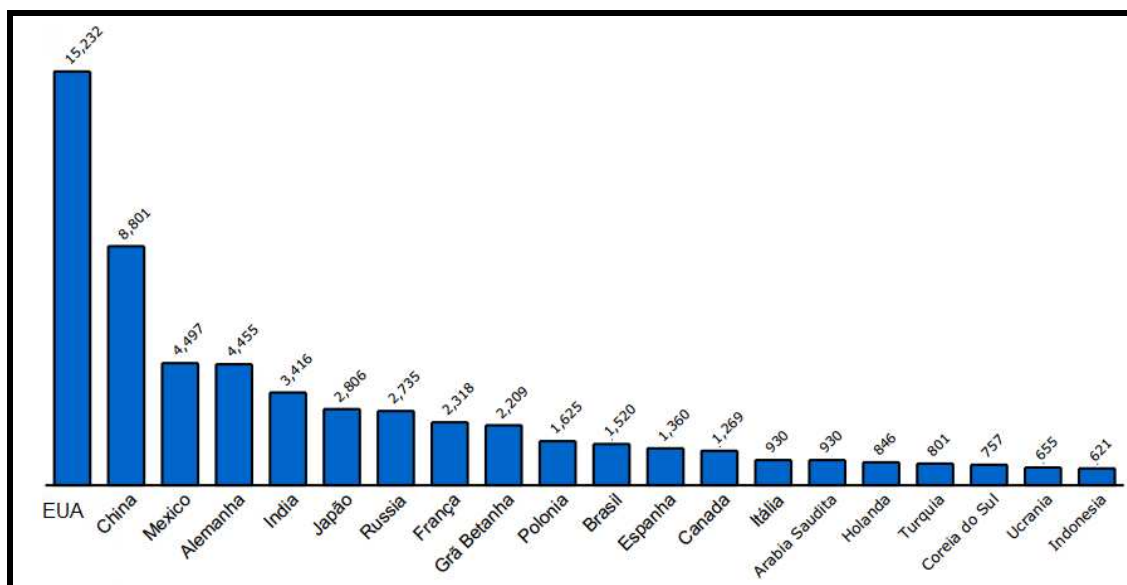


Figura 1 – Os 20 principais mercados de consumo de sucos, 2009 (Volumes em litros). Adaptado de CITRUS (2014).

O principal importador do suco brasileiro foi a União Europeia, no ano de 2004, através da Bélgica e Holanda, as quais representam juntas 65% do valor das exportações, visto que são os países que distribuem o suco brasileiro pelo continente europeu. Os Estados Unidos e Japão também são importadores significativos e representam, respectivamente, 13% e 7% das vendas. Depois da laranja, os sucos de uva, maçã e abacaxi também se destacam em relação às exportações brasileiras, pois a produção interna dos países importadores não é capaz de suprir seus próprios mercados, necessitando de complementação, via importação, durante as entressafras. O governo brasileiro investe na publicidade internacional de frutas tropicais nacionais, como uma forma de diversificar a exportação de sucos de frutas e, assim, enfrentar comercialmente as dificuldades originárias de barreiras culturais. Este tipo de política tem sido um estímulo para que as empresas do setor invistam, cada vez mais, na produção para exportação de sucos de frutas

tropicais, como manga, maracujá, caju e goiaba (ROSA et al., 2006 e CITRUS, 2014).

Visto que os sucos em embalagens cartonadas ou do tipo longa vida são extremamente consumidos pela população, torna-se importante conhecer os constituintes presentes nas embalagens e se não trazem riscos à saúde da população.

3.1.2 Embalagens cartonadas

As embalagens do tipo longa vida, popularmente conhecidas como Tetra Pak® surgiram no ano de 1951, na Suécia, onde foi idealizada a embalagem cartonada, em formato de tetraedro (quatro faces, triangular, com base horizontal) prevendo uma necessidade do mercado de acondicionar alimentos em embalagens práticas que pudessem ser vendidas em lojas de conveniência. No ano de 1961 foi criada a embalagem tipo Longa Vida que protege o leite, sem necessidade de conservantes e refrigeração (TETRA PAK, 2014).

Atualmente as embalagens são compostas por várias camadas de materiais. Estas criam uma barreira que impedem a entrada de luz, ar, água e micro-organismos e, ao mesmo tempo, não permitem que o aroma dos alimentos deixe a embalagem. A proteção contra luz é fundamental, pois evita a destruição de importantes vitaminas dos alimentos (Vitamina C e Vitamina B), principalmente no caso de leite e sucos. Já o oxigênio, presente no ar, poderia produzir nos alimentos uma reação de oxidação e causar uma redução das suas qualidades (TETRA PAK, 2014).

As embalagens são feitas de papel (cartão), plástico (polietileno de baixa densidade) e alumínio. O papel cartão é utilizado para garantir a estabilidade da embalagem, sem adicionar peso desnecessário; o polietileno é adicionado em finas camadas para que o alimento fique armazenado no interior de embalagem sem contato com o alumínio e para proteger a embalagem da umidade externa; o alumínio é utilizado para proteger o alimento do oxigênio, da luz e dos odores externos (TETRA PAK, 2014). A organização destes três constituintes na embalagem pode ser visualizada na Figura 2.

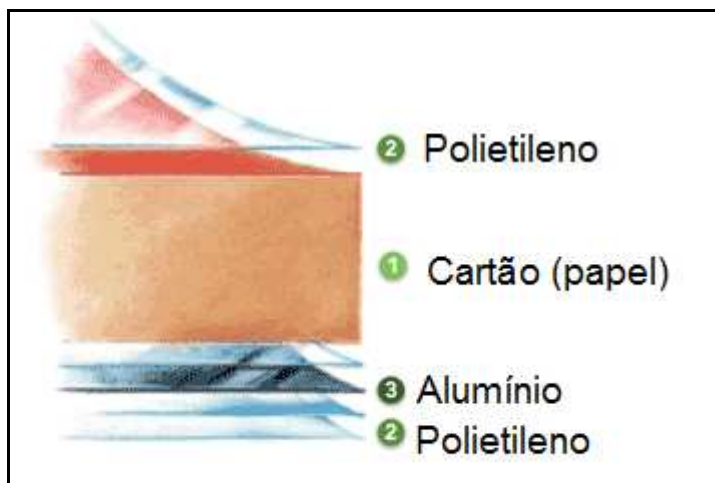


Figura 2 – Material da embalagem Tetra Pak®. Adaptado de TETRA PAK (2014).

No ano de 2004, 93,8% dos sucos foram comercializados em embalagens do tipo Tetra Pak®, 5,0% em latas e 1,2% em vidro. A tendência é que as embalagens cartonadas aumentem ainda mais sua participação nos sucos prontos para beber, pois aumentam a conservação do produto por até um ano e possibilitam de forma mais eficiente o consumo de sucos de frutas fora de época, além de disponibilizarem tais produtos em outras regiões e permitirem que sucos de frutas exóticas ou de difícil processamento sejam consumidos pela maior parte da população (ROSA et al., 2006 e TETRA PAK, 2014).

3.1.3 Legislação brasileira do suco industrializado

Na área dos alimentos a legislação brasileira é regida pelo Ministério da Saúde, por intermédio da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). A Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, do MAPA regulamenta as bebidas e é regida pelo Decreto nº 2.314, de 4 de setembro de 1997, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas, dessa forma os sucos devem atender à essas legislações específicas, além de atender à legislação sobre rotulagem de alimentos embalados (MAPA, 1994 e RECEITA FEDERAL, 1997).

A rotulagem dos sucos de fruta prontos para beber deve atender às exigências da ANVISA sobre rotulagem de alimentos embalados, conforme os Regulamentos Técnicos da Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 259, de 20 de setembro de 2002, sobre rotulagem de alimentos embalados, a RDC nº 360, de 23 de dezembro de 2003, sobre rotulagem nutricional de alimentos, a Portaria nº 27, de 13 de janeiro de 1998, referente à informação nutricional complementar, a RDC nº 359, de 23 de dezembro de 2003, sobre porções de alimentos embalados para fins de rotulagem nutricional, e a Lei nº 10.674, de 16 de maio de 2003, que obriga todos os produtos alimentícios comercializados a informar sobre a presença de glúten (ANVISA 1998, 2002, 2003b, 2003c, 2003d).

O Decreto nº 2.314 do MAPA, de 1997, estabelece os Padrões de Identidade e Qualidade de bebidas, os registros, a classificação, a padronização e a rotulagem, bem como as formas de controle das matérias-primas, das bebidas e dos estabelecimentos. A adição de aromas e corantes artificiais em sucos é proibida e não é permitida a associação de açúcares e edulcorantes hipocalóricos e não energéticos, respectivamente de acordo com o Artigo 40 do Decreto nº 2.3145 (RECEITA FEDERAL, 1997).

3.2 Metais

Em seu estudo Burguera mostra uma tabela periódica com destaque para os elementos essenciais e os não essenciais (Figura 3). Os elementos em destaque na cor verde oliva são os mais abundantes, os micronutrientes apresentam-se na coloração amarela, os metais essenciais a vida com coloração verde e os elementos considerados tóxicos ao organismo humano na coloração lilás (BURGUERA e BURGUERA, 2009).

1 H																	2 He																			
3 Li	4 Be																	5 B	6 C	7 N	8 O	9 F	10 Ne													
11 Na	12 Mg																	13 Al	14 Si	15 P	16 S	17 Cl	18 Ar													
19 K	20 Ca	21 Sc	22 Ti	23 V	24 Cr	25 Mn	26 Fe	27 Co	28 Ni	29 Cu	30 Zn	31 Ga	32 Ge	33 As	34 Se	35 Br	36 Kr	37 Rb	38 Sr	39 Y	40 Zr	41 Nb	42 Mo	43 Tc	44 Ru	45 Rh	46 Pd	47 Ag	48 Cd	49 In	50 Sn	51 Sb	52 Te	53 I	54 Xe	
55 Cs	56 Ba	57 La	72 Hf	73 Ta	74 W	75 Re	76 Os	77 Ir	78 Pt	79 Au	80 Hg	81 Tl	82 Pb	83 Bi	84 Po	85 At	86 Rn	87 Fr	88 Ra	89 Ac	90 Th	91 Pa	92 U	93 Np	94 Pu	95 Am	96 Cm	97 Bk	98 Cf	99 Es	100 Fm	101 Md	102 No	103 Lr		
		58 Ce	59 Pr	60 Nd	61 Pm	62 Sm	63 Eu	64 Gd	65 Tb	66 Dy	67 Ho	68 Er	69 Tm	70 Yb	71 Lu																					
		90 Th	91 Pa	92 U	93 Np	94 Pu	95 Am	96 Cm	97 Bk	98 Cf	99 Es	100 Fm	101 Md	102 No	103 Lr																					

MACROELEMENTOS

ELEMENTOS TRAÇO

MICROELEMENTOS

ESSENCIAIS

TÓXICOS

ADICIONADOS

FUNÇÃO DESCONHECIDA

Figura 3 – Classificação dos elementos da tabela periódica. Adaptado de BURGUERA (2009).

3.2.1 Chumbo (Pb)

O Pb é um metal potencialmente tóxico que pode ser encontrado nas erupções vulcânicas, além de estar presente na crosta terrestre através da sua combinação com o enxofre, sob a forma de sulfeto de chumbo (PbS, galena) que é um dos mais abundantes minérios de chumbo (AZEVEDO e CHASIN, 2003 e THORNTON et al., 2001).

Este metal possui grande aplicação na indústria, sendo muito utilizado na construção civil, fabricação de baterias de ácido, munição, proteção contra raios-X e forma parte de ligas metálicas para a produção de soldas, fusíveis, revestimentos de cabos elétricos, materiais antifricção, metais de tipografia, etc., torna-se assim um importante produto comercial. De acordo com os dados da *International Lead Association (ILA)* são extraídos mais de três milhões de toneladas por ano de minérios de chumbo, com um valor de mercado com cerca de 1 bilhão de dólares. Já para o mercado mundial de chumbo refinado é este valor é cerca de 15 bilhões de dólares (ILA, 2014).

Na Figura 4 pode ser visualizado o gráfico com dados do ILA do ano de 2012 com a relação as minas de produção de chumbo por países. A China é o país que lidera com cerca de 52% de produção, seguido da Austrália com 11,5% e Estados Unidos com 6,9%. Dessa forma, a exposição humana a este metal pode ser diretamente pelo meio ambiente, pois além da parcela antropogênica de contaminação ambiental pode existir uma contribuição por emissões naturais, como a lixiviação através da chuva carreando para o solo e rios elevados níveis deste elemento (AZEVEDO e CHASIN, 2003). Williams e colaboradores descobriram no ano de 2009 que a concentração de Pb no suco de limão selecionado na Nigéria foi além dos níveis locais permitidos, dessa forma, atestando que as plantas absorvem Pb devido ao crescimento em solo contaminado (WILLIAMS et al., 2009 e YIN et al., 2014).

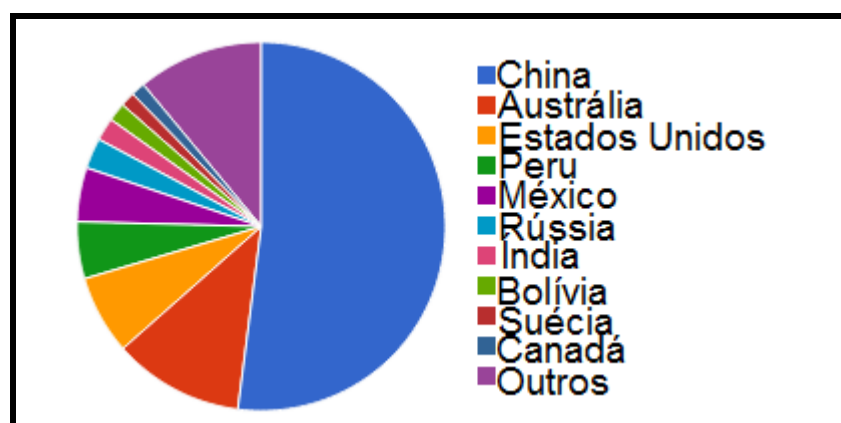


Figura 4 – Minas de produção de chumbo por países. Adaptado de ILA (2014).

A toxicidade do Pb está relacionada a sua capacidade de substituir os elementos essenciais, como por exemplo o Ca, e sua grande afinidade com grupamento –SH, dessa forma, causando stress oxidativo, baixa taxa de excreção e capacidade de acumulação no pulmão, fígado, rim e sistema ósseo. Em concentrações elevadas pode ser cancerígeno (afetar principalmente a bexiga, próstata, e endométrio) seu limite diário indicado nos Estados Unidos é de 30 µg, já o limite máximo estabelecido pela legislação brasileira que é 0,03 mg kg⁻¹ (AZEVEDO e CHASIN, 2003 e OKADA et al., 1997).

Diante de todos os efeitos que o Pb pode causar a saúde do ser humano, a *World Health Organization (WHO)* sugere que se tenha um

monitoramento do sangue das pessoas expostas a este elemento, bem como, o controle dos produtos de gênero alimentícios com métodos analíticos sensíveis, possibilitando a identificação dos alimentos comprometidos e as fontes de contaminação, para que essas informações se tornem públicas e auxiliem na tomada de medidas apropriadas para cada caso (WHO, 2010a).

3.2.2 Cobre (Cu)

O Cu apresenta características de metal maleável, dúctil, e muito resistente à corrosão, com alta condutividade térmica e elétrica (NAIME et al., 2010). Além disso, 66% do consumo anual de cobre é voltado para aplicações elétricas sendo empregado na geração e na transmissão de energia, em fiações e em praticamente todos os equipamentos eletrônicos como celulares e televisões (VALE, 2014).

O cobre é um elemento essencial aos organismos vivos em pequenas quantidades, a população pode ser exposta por inalação, ingestão de alimentos e água ou contato dérmico. Porém, a principal via de exposição não ocupacional é a oral, a ingestão de sais de cobre podem causar vômito, letargia, anemia hemolítica aguda, dano renal e hepático e, em alguns casos, morte (CETESB, 2014). Além disso, existe um distúrbio hereditário no qual há cobre em excesso nos tecidos do corpo, chamado de doença de Wilson. O excesso de cobre danifica o fígado e o sistema nervoso causam morte de tecidos e surgimento de cicatrizes, que levam os órgãos afetados a parar de funcionar corretamente (BRITO et al., 2005).

3.2.3 Cromo (Cr)

O Cr é metal de transição, que apresenta algumas características resistência a corrosão, ser duro e quebradiço. Além disso, este elemento apresenta grande aplicação em metalurgia para aumentar a resistência à corrosão e dar um acabamento brilhante ao aço inoxidável (MERTZ, 1993).

O requerimento nutricional de cromo para adultos é de 5-200 µg/dia, para alguns organismos esse elemento é essencial sob a forma Cr^{+3} já que é

considerado não tóxico, porém ele não é produzido pelo corpo e deve ser fornecido pela dieta, além de ser importante para o metabolismo das gorduras e carboidratos e estimular a síntese de ácidos graxos e colesterol sendo um ativador de várias enzimas. No entanto, na forma Cr^{+6} é altamente tóxico com altos riscos de câncer de pulmão principalmente em pessoas frequentemente expostas, dessa forma torna-se importante o controle desse metal nos alimentos, água e meio ambiente para segurança do ser humano (QUINTAES, 2000).

3.2.4 Magnésio (Mg)

O Mg é o segundo cátion intracelular mais importante, ficando atrás somente do K, é um mineral essencial pois, é indispensável para as atividades anabólicas e catabólicas de várias reações celulares, mesmo não estando presente no organismo humano em grande quantidade como os macro elementos (Na, K e Ca). Aproximadamente 300 sistemas enzimáticos são dependentes da presença e da ação do Mg, dentre algumas destas atividades incluem a glicólise, o metabolismo proteico e lipídico (FOOD INGREDIENTS, 2008 e LUKASKI, 2004).

As fontes deste elemento são em verduras, legumes verdes, cereais integrais e oleaginosas, a ingestão máxima diária é de 260 mg (FOOD INGREDIENTS, 2008; MONTEIRO e VANUCCHI, 2010; LUKASKI, 2004 e AMORIM et al., 2008).

A deficiência de Mg pode causar a diminuição da atividade neuromuscular e aumentar a sensibilidade ao estresse, no entanto, não há evidências de efeitos adversos em casos da ingestão em excesso de Mg, se esse for provido a partir da alimentos naturais; porém efeitos adversos foram evidenciados em casos da utilização de suplementos alimentares, o qual ocasionará diarreia osmótica (FOOD INGREDIENTS, 2008).

3.2.5 Potássio (K)

O K além de ser o principal cátion intracelular que contribui para o metabolismo e a síntese de proteínas e glicogênio. Ele constitui cerca de 5% da carga mineral total do corpo e exerce um papel importante na regulação hídrica do organismo. O K, juntamente com o Na, trabalha para manter o balanceamento da água no corpo, além disso, é responsável pela contração muscular, pelo funcionamento cardíaco e participa da transmissão dos impulsos nervosos (FOOD INGREDIENTS, 2008).

As fontes desse nutriente em alimentos são abundantes, sendo o mineral mais importante encontrado em frutas, legumes, verduras, estando presente também em carnes, leite e oleaginosas (FOOD INGREDIENTS, 2008 e ANDERSON et al., 2008). O consumo diário ideal de K para adultos é de aproximadamente 3.510 mg, exceto para atletas que realizam exercícios físicos pesados e rotineiramente, necessitando de concentrações diárias mais elevadas pela perda excessiva desse mineral, principalmente devido à eliminação volumosa de líquidos pela transpiração. Um aumento moderado de K na dieta, através de suplementos, pode ser benéfico, especialmente para as pessoas com risco a hipertensão, reduzindo o excesso de Na no organismo humano (ANDERSON et al., 2008 e WHO, 2012b).

A relação Na/K exerce um papel essencial no mecanismo da hipertensão, pois os níveis de Na e K, através de uma diferença eletroquímica, controlam o potencial das membranas, o que está diretamente ligado a bomba de Na/K/ATPase que desempenha a função de manter o potencial das membranas regulado, utilizando energia para realizar a troca de Na (para fora da célula) e K (para dentro da célula). Sendo assim, o bom funcionamento dessa bomba e do sistema se faz necessário para a transmissão do impulso nervoso, contração muscular e funcionamento do coração. A falta de K no organismo pode levar a sintomas de fadiga, fraqueza muscular, câimbras e paralisia intestinal (FOOD INGREDIENTS, 2008 e VANNUCCHI et al., 2007).

3.2.6 Sódio (Na)

O Na é considerado um dos 22 minerais essenciais para a saúde humana e apresenta-se como o principal cátion dos líquidos extracelulares do corpo, constituindo 2% do conteúdo mineral total do organismo e 0,15% do peso corporal total, contribuindo para regulação do equilíbrio hídrico e ácido/básico do organismo, além disso, apresenta como característica coloração branco-prateado (FOOD INGREDIENTS, 2008 e VANNUCCHI et al., 2007).

Este elemento é encontrado em praticamente todos os alimentos na forma de sais como o NaCl, já para os alimentos de origem animal, as concentrações de Na são mais abundantes, sendo principalmente encontrado como conservantes em produtos cárneos, derivados de laticínios, ovos, entre outros (FOOD INGREDIENTS, 2008).

Estudos mostram que em média são consumidos 9,6 g de Na (NaCl) por dia pela população brasileira, representando quase o dobro do limite máximo recomendado pela WHO (Organização Mundial de Saúde), que fixa em no máximo 5 g o consumo diário de sal (SARNO et al., 2009 e WHO, 2010b).

A ingestão excessiva de Na implica na hipertensão arterial (doença que afeta 25% dos brasileiros) e acarreta outras doenças cardíacas, além disso, o excesso de Na afeta o sistema renal e induz a doenças crônicas, bem como interfere na absorção e no metabolismo do cálcio, podendo ter impacto negativo na saúde óssea. Já a falta de Na é raramente encontrada, porém quando ocorre uma grande retenção de líquido ou de uma dieta pobre em sal, estas condições levam a baixos níveis de Na, definida como Hiponatremia, cujos sintomas incluem dores de cabeça, náuseas, vômitos, desorientação e fadiga (FOOD INGREDIENTS, 2008; VANNUCCHI et al., 2007 e WHO, 2010b).

3.2.7 Zinco (Zn)

A principal aplicação do Zn, cerca de 50% do consumo anual, é na galvanização do aço ou ferro como proteção contra a corrosão (TRUMBO et al., 2001).

Ele é considerado um elemento essencial para todos os organismos, além disso, é também um componente importante de enzimas e apresenta baixa toxicidade. A sua importância no organismo humano é explicada através de seu papel catalítico e/ou estrutural em mais de 200 enzimas e pela sua ação na estabilização no domínio de proteínas que interagem com DNA ou de proteínas com papel estrutural ou de sinalização (KING et al., 2000).

A ingestão diária de zinco recomendada é de 10 a 15 mg (TRUMBO et al., 2001). Na maioria das vezes a deficiência desse elemento é mais comum em atletas do gênero feminino, pois o consumo de energia é usualmente menor em mulheres e a restrição voluntária de ingestão de energia é também mais frequente neste grupo (KING et al., 2000 e KOURY e DONANGELO, 2003). No entanto, ingestão excessiva desse elemento, cerca de 50 mg/dia, através do uso de suplementos pode inibir a absorção de cobre proveniente da dieta (LUKASKI, 1995). Já a sua deficiência pode produzir problemas no crescimento, ocasionar diarreia, amnésia entre outras anomalias (KOURY e DONANGELO, 2003).

3.3 Preparo da amostra

O preparo da amostra é uma etapa extremamente importante, pois é nela que a amostra é convertida em uma forma adequada para posterior análise. Além de ser uma das etapas mais críticas da sequência analítica, pois é escolhida a forma com que a matriz será separada totalmente ou parcialmente do analito, de acordo com o método de determinação a ser empregado (KRUG, 2010).

Além do preparo das amostras, também deve se destacar as etapas de pré-tratamento que em sua maioria envolve métodos físicos como lavagem,

secagem, moagem, peneiramento, refrigeração, entre outros, dependendo do tipo de amostra (KRUG, 2010).

Devido a grande importância da etapa de preparo da amostra, estimasse que 61% do tempo gasto na sequência analítica sejam nela, além disto, 30% dos erros de uma análise podem estar associados a essa etapa (KRUG, 2010 e OLIVEIRA, 2003).

Os erros dessa etapa podem estar associados a perdas de analitos por volatilização ou adsorção, dissolução incompleta do analito e contaminação, que pode ser proveniente de diversas fontes de erro, como: ar, reagentes ou impurezas nos materiais. Além disso, a desqualificação e falta de treinamento do analista podem contribuir com os erros associados a esta etapa (KRUG, 2010).

O objetivo da etapa de preparo de amostra é sempre obter os melhores resultados, ou seja, converter a amostra na forma apropriada para ser inserida no equipamento, no menor espaço de tempo, com mínima contaminação, baixo consumo de reagentes e com a menor geração de resíduos, assim contribuindo com os princípios abordados pela química verde (KRUG, 2010 e LENARDÃO et al., 2003).

Dessa forma, para um preparo de amostra eficiente devem-se conhecer as características dos analitos que se desejam determinar, as faixas de concentração desses analito, a quantidade de amostra disponível, para verificar se há possibilidade de realizar as determinações com o preparo da amostra disponível na literatura, o tempo que será gasto, o custo relacionado e qualificação e/ou experiência do analista que irá manusear as amostras. Contudo, caso não exista na literatura métodos de preparo de amostra compatíveis com a amostra, analito e/ou método de determinação que se deseja, cabe aos pesquisadores desenvolver métodos que supram as necessidades exigidas com o intuito de atingir os objetivos das análises químicas que se buscam (KRUG, 2010).

3.3.1 Métodos para o preparo de amostras biológicas

Sabe-se que é de extrema importância conhecer o tipo de amostra que será submetida aos procedimentos analíticos, bem como, o método escolhido para o preparo das amostras deve ser compatível com a técnica utilizada para a determinação dos analitos em questão (KRUG, 2010).

Dentre os métodos de preparo de amostra a análise direta de sólidos vem ganhando grande destaque na literatura, devido a mínima manipulação das amostras, contudo, alguns tratamentos preliminares ainda são necessários como moagem e peneiramento para garantir a homogeneidade da amostra utilizada. A calibração instrumental é uma das maiores dificuldades dessa técnica, pois pode tornar-se complexa dependendo da natureza da amostra em estudo (KRUG, 2010 e NOMURA et al., 2008).

Exceto para a análise direta de sólidos, a maioria das técnicas analíticas necessitam que a amostra esteja no estado líquido para que possa ser inserida nos equipamentos para a quantificação dos analitos (FLORES et al., 2007 e MASSON et al., 2007).

3.3.1.1 Decomposição de amostras biológicas

Levando em consideração o processo de decomposição de amostras, diferentes métodos podem ser utilizados, dependendo da natureza da amostra e da técnica de determinação utilizada. Na maioria das vezes, os processos de decomposição envolvem a adição de reagentes e o uso de energia. A qual deve ser suficiente para romper algumas ligações químicas (KRUG, 2010 e OLIVEIRA, 2003).

A decomposição por via úmida é umas das técnicas de decomposição mais utilizadas, empregando diferentes tipos de energia, como por exemplo radiação e aquecimento, para vários tipos de amostras, sendo aplicada tanto para sistema aberto como em sistema fechado (OLIVEIRA, 2003).

Para a decomposição das amostras podem ser empregados como reagentes ácidos ou mistura de ácidos como: HNO_3 , H_2SO_4 , HCl , entre outros, além da utilização de uma mistura de ácido com outros reagentes oxidantes

como, por exemplo, o peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Dessa forma, a matéria orgânica é oxidada a CO_2 e H_2O , liberando os analitos na solução na forma de cátions inorgânicos (KRUG, 2010).

A decomposição por via úmida pode proceder em sistema aberto utilizando energia térmica através do bloco digestor, chapa de aquecimento, bico de Bunsen ou em forno mufla. No entanto, a utilização de sistema aberto não é adequada para determinação de elementos voláteis como Pb, Cd, As e Hg já que pode haver perda do analito. Ao se utilizar temperaturas elevadas, além de reposição constante de reagentes se for utilizada temperatura acima do ponto de ebulição, para evitar a secura do sistema, o que torna-se um inconveniente já que o gasto de reagentes é maior e um longo tempo para decomposição é necessário (KRUG, 2010).

Um dos ácidos com menor temperatura de ebulição é o HCl, 109 °C, seguido do HNO_3 com temperatura de 121 °C, já o H_2SO_4 é um dos ácidos com maior temperatura de 339 °C, todos estes ácidos podem ser utilizados individualmente para o preparo da amostra. O HNO_3 é o mais empregado para decomposições por via úmida, já que quase todos os nitratos são solúveis em água, além disto, é um ácido eficiente no processo de oxidação da matéria orgânica, além de apresentar fácil purificação e preço acessível (KRUG, 2010 e GONZALEZ et al., 2009).

Em decomposição por via seca, a amostra é submetida a aquecimento por forno mufla até a queima da fração orgânica e obtenção de um resíduo em forma de cinzas que é solúvel em ácidos diluídos. No entanto, este tipo de preparo de amostra não é indicado para determinação de elementos voláteis como o Pb devido ao sistema ser aberto, além disso existe o risco de contaminação pelas paredes do forno e/ou através da porosidade do cadinho de porcelana que senão estiver descontaminados devidamente podem influenciar nos resultados (KRUG, 2010 e KLAIC et al., 2011).

Por conta dos vários inconvenientes causados pelo sistema aberto, o emprego de sistemas fechados vem ganhando espaço, principalmente para o preparo de amostras que posteriormente sejam determinadas elementos voláteis. Dessa forma, o sistema fechado elimina a perda de ácidos e aumenta

a eficiência de decomposição das amostras (FLORES et al., 2007 e OLIVEIRA, 2003).

Os primeiros estudos de sistemas fechados desenvolvidos foram relatados por Carius (1860), no qual o sistema consistia em um tubo de vidro que foi adicionado amostra e HNO_3 sendo posteriormente aquecido a temperaturas elevadas (250 a 300 °C) por algumas horas. A grande desvantagem desse sistema é a possibilidade de explosão dos fracos durante a decomposição e/ou no momento de abrir o sistema ocorrer erupções em direção ao analista (KRUG, 2010 e OLIVEIRA, 2003).

Com o passar dos anos os métodos que utilizam sistema fechado ganharam grande destaque na literatura relacionada ao preparo de amostras, principalmente a utilização de decomposição assistida por radiação micro-ondas, por ser um sistema simples, rápido, seguro e com grande aplicabilidade para diversos tipos de matrizes. Além dessas vantagens o forno micro-ondas permite a utilização de frascos de quartzo, que diminuem contaminações, apresenta possibilidade de pressurização com O_2 , para promover a regeneração do ácido e aumentar a eficiência da decomposição das amostras, além disso, permite a utilização de ácidos diluídos. Contudo, nem todos os laboratórios de pesquisas podem ter acesso a este tipo de equipamento por apresentar custo elevado (FLORIAN et al., 2001 e KRUG, 2010).

O uso da decomposição assistida por radiação micro-ondas será melhor discutido no segundo capítulo desta dissertação.

3.3.1.2 Método de preparo de amostra para amostras de sucos

A literatura reporta artigos que em sua maioria utilizam o forno micro-ondas para decomposição das amostras de sucos. No ano 2000, Simpkins e colaboradores propuseram a decomposição apenas com ácido nítrico utilizando o forno micro-ondas para uma amostra de suco de laranja proveniente da Austrália (SIMPKINS et al., 2000). Passados 10 anos Jalbani e colaboradores relataram em seu artigo uma comparação utilizando o forno micro-ondas com a decomposição tradicional através da chapa de aquecimento para decomposição dos sucos de manga, maçã, abacaxi e laranja. O fator de maior

destaque foi em relação ao volume de amostra e de reagentes utilizados, já que para a decomposição através do forno micro-ondas foi necessário 2 mL de amostra, 10 mL de ácido nítrico e 2 mL de H_2O_2 , já para decomposição com chapa de aquecimento foi necessário volumes de 50 mL de amostra, 10 mL de HNO_3 e 5 mL H_2O_2 , além disso o tempo utilizado nesse método foi maior. Os autores relatam que foi necessário fazer esse tipo de comparação de metodologia e testes de adição e recuperação, pois não existia material de referência certificado de suco, no entanto se os autores escolhessem trabalhar com elementos voláteis a metodologia de decomposição com chapa de aquecimento não seria indicada (JALBANI et al., 2010).

No ano de 2008, Schiavo e colaboradores utilizaram apenas uma diluição 1:6 (v/v) de 0,14 mol L^{-1} de HNO_3 para determinação de Cu por F AAS para o suco de uva (SCHIAVO et al., 2008). Cerca de 1 anos depois Froes e colaboradores propuseram uma diluição 1:1 com HNO_3 2% (v/v) e amostras de sucos de uva, laranja, morango, abacaxi e maracujá para posterior determinação de Al, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Sb, Sn e Zn por ICP OES (FROES et al., 2009).

A literatura tem reportado a utilização de forno micro-ondas para decomposição de amostras devido as suas vantagens de menor tempo de decomposição, sem perdas de elementos voláteis e ácidos, porém essa metodologia não se mostra eficiente para decomposição de grandes volumes de amostra, além disso, o suco apresenta grande quantidade de água em sua constituição assim diluindo os analitos presentes, com isso para alguns elementos a nível traço esse método se torna inviável necessitando de uma pré-concentração de analito. Já o método que utiliza o volume maior de amostras, por exemplo 50 mL de amostra em sistema aberto, embora possa fornecer melhores LDs, possibilita também as perdas de elementos voláteis. A análise direta do suco, sem nenhuma decomposição, apenas com uma diluição é uma boa alternativa quando a técnica utilizada permitir, pois o efeito de matriz pode gerar interferências desde as espectrais e não espectrais, por exemplo, nos sucos naturais com fragmentos suspensos da fruta, essa técnica se torna inviável, pois pode obstruir o nebulizador, podendo apenas ser empregada no forno de grafite, porém a homogeneidade não é garantida. Sendo assim, há

necessidade de desenvolver novos métodos que sejam eficientes e acessíveis a todos os laboratórios para que possa ser realizada a quantificação de metais nesse tipo de amostra.

3.3.1.3 Sistema em refluxo para o preparo de amostras

Atualmente, os pesquisadores estão sendo impulsionados a desenvolver métodos alternativos de preparo de amostras, a fim de contornar inconvenientes como o elevado custo dos sistemas fechados e algumas desvantagens dos sistemas abertos, assim novas metodologias estão sendo desenvolvidas com a mesma eficiência dos sistemas já existentes comercialmente e reportados na literatura, sem perdas de analitos e reagentes.

Há muitos anos o uso de condensadores vem sendo muito utilizado na química, o qual se trata de um sistema que promove a mudança da fase vapor para a líquida, além disso, também é utilizado para destilação de líquidos em processos de purificação (DIAS et al., 2004).

Em 1972 Tölg em um artigo de revisão, relata o uso do sistema de refluxo, chamado de “dedo frio”, para o processo de decomposição de amostras por combustão com oxigênio. No sistema descrito pelo o autor o dedo frio apresenta entrada e saída de água fria, assim mantendo a circulação e tornando o ambiente sempre frio, conta também com uma abertura central para entrada de oxigênio e outra para vácuo, para facilitar o processo de combustão das amostras que estão mantidas no interior do tubo. Dessa forma, foi possível a determinação de elementos traços em diversas matrizes de origem orgânica (TÖLG, 1972).

Recentemente, Ferreira e colaboradores publicaram um artigo de revisão a respeito do uso de condensadores nos sistemas de preparo de amostra convencional de copo aberto com aquecimento em blocos digestores, uma das observações ressaltada por eles, é que o uso dos sistemas de refluxo, embora já existam alguns trabalhos descritos na literatura, ainda necessita de mais informações e estudos com relação ao desempenho, principalmente para determinação de elementos voláteis (FERREIRA et al., 2013). Nieuwenhuize e colaboradores fizeram uma comparação do sistema em refluxo com o forno

micro-ondas para determinação de alguns analitos entre eles Cd e Pb em amostras de solo, sedimentos e lodo. O autor descreve que obteve resultados concordantes entre as duas técnicas estudadas (NIEUWENHUIZE et al., 1991). Saraswati e colaboradores também utilizaram o sistema de refluxo em três trabalhos distintos com amostras de material de referência certificada (MRC) para determinação dos analitos voláteis: As, Se e Hg e obteve ao final do estudo resultados satisfatórios (SARASWATI et al., 1994 e 1995).

Ferreira e colaboradores apresentam o desenho esquemático do sistema de refluxo utilizado em suas pesquisas. Os autores relatam conseguir bons resultados na determinação dos analitos incluindo os elementos voláteis. Na Figura 5 pode ser observado uma representação esquemática do dedo frio empregado no preparo das amostras (FERREIRA et al., 2013). No entanto, no sistema desenvolvido por Ferreira e colaboradores, a água fica parada no recipiente acima do tubo, dessa forma com o tempo pode ficar morna e diminuir a eficiência de condensação. Além disso, não há alívio de pressão se elevar muito a temperatura poderão ocorrer erupções da amostra.

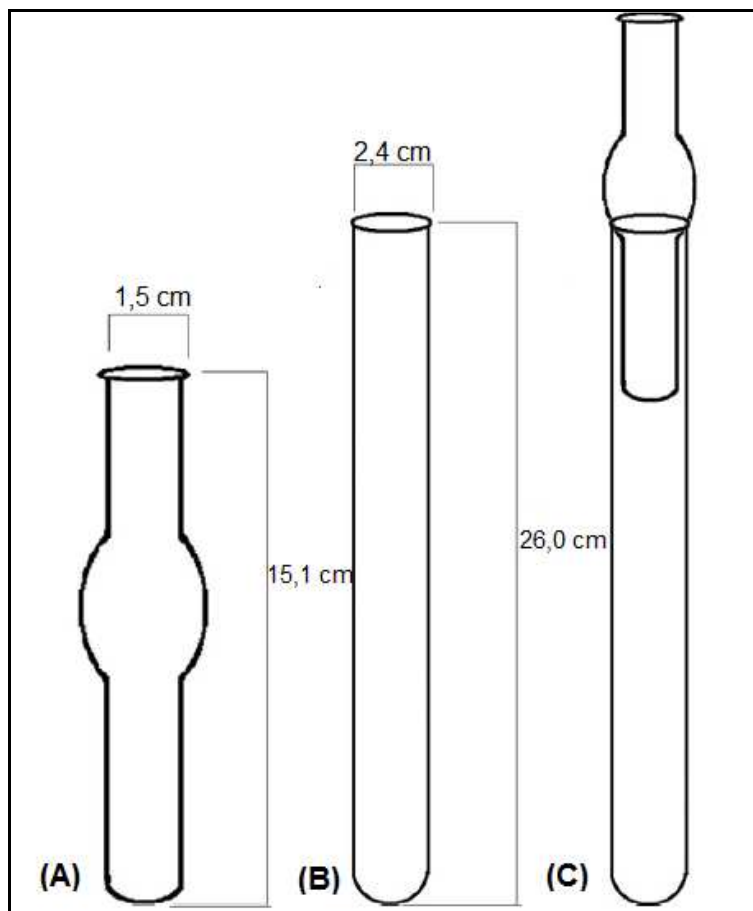


Figura 5 – Desenho esquemático de (A) Dedo frio, (B) Tubo de digestão e (C) Tubo de digestão com dedo frio. Adaptado de FERREIRA et al. (2013).

Oreste e colaboradores no ano de 2013, aprimoraram o sistema de dedo frio já existente na literatura. O novo desenho permitiu o uso nos tradicionais tubos digestores de origem comercial, tornando muito eficiente e robusto. Ele consiste de um recipiente comprido e circular que é encaixado em uma tampa de PTFE e que por sua vez é encaixada ao tubo de digestão (ORESTE et al., 2013a).

O sucesso do sistema de refluxo em reter quantitativamente os analitos e evitar perdas por volatilização se deve ao fato da superfície fria do “dedo frio” permitir a formação de um filme líquido de uma solução absorvedora, rica em vapores de água e ácidos utilizados durante a mineralização das amostras. Dessa forma, por exemplo, quando se utiliza uma quantidade adequada de HNO_3 no frasco de decomposição e aliada ao emprego de temperatura para o aquecimento do bloco digestor superior a sua temperatura de ebulição, propicia

uma formação da solução absorvedora (mistura azeotrópica) na superfície do frasco de refluxo, com elevada força iônica, o qual propicia a retenção dos analitos na forma de nitratos solúveis em água e após condensação e gotejamento, retornam para o meio reacional no tubo digestor.

Vale ressaltar que a temperatura de condensação é controlada por um banho termostaticado, que garante uma temperatura baixa e continua durante todo o tempo que for necessário para a completa mineralização das amostras, além disso, contribuindo para não ter desperdício de água. Na Figura 6 pode ser visualizado o esquema utilizado pelos autores, bem como uma imagem do sistema em refluxo (ORESTE et al., 2013a).

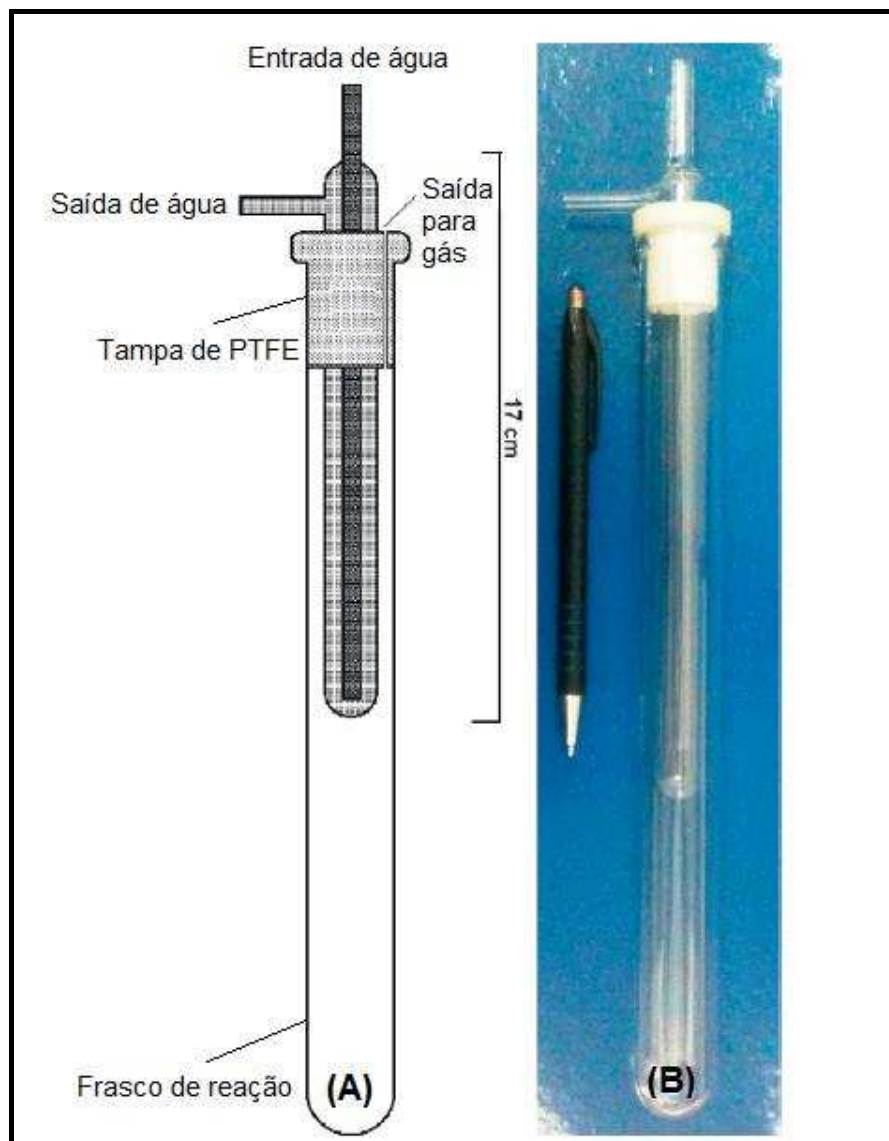


Figura 6 – (A) Diagrama esquemático do dedo frio acoplado ao tubo de digestão de vidro e (B) Foto do sistema de dedo frio. Adaptado de ORESTE et al. (2013b).

Um dos primeiros trabalhos publicados na literatura com o modelo desenvolvido por Oreste e colaboradores no ano de 2013 foi em amostras biológicas para determinação de Hg. Esse trabalho foi desenvolvido a fim de avaliar a capacidade de condensação do sistema de refluxo, já que Hg é um elemento extremamente volátil. Os autores relatam que bons resultados foram obtidos na recuperação deste analito, além disso, desenvolveram outro trabalho visando a determinação de Cd e Pb em amostras de carnes *in natura*

onde novamente foi possível obter resultados satisfatórios (ORESTE et al., 2013b).

3.4 Técnicas analíticas para determinação de Cu, Cr, K, Mg, Na, Pb e Zn

A escolha da técnica de análise elementar é de extrema importância, pois, é a partir dela que serão obtidos os resultados analíticos. Atualmente existe uma grande quantidade de técnicas analíticas e para que possa ser escolhida uma ideal deve-se saber a natureza da amostra, os analitos que serão determinados e a concentração dos mesmos na amostra, assim facilitando na escolha da melhor técnica para cada caso (HOLLER et al., 2009).

Após ser escolhida a técnica de determinação alguns parâmetros devem ser apresentados a fim de garantir uma maior confiabilidade nos dados originais como linearidade, curva de calibração, sensibilidade, limite de detecção, limite de quantificação, precisão, exatidão, recuperação, especificidade, estabilidade e robustez. O Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (Inmetro) informa as técnicas aplicáveis a validação de métodos analíticos, a fim de orientar os laboratórios a obterem resultados com a qualidade exigida (INMETRO, 2010).

Na Figura 7 é possível observar a relação entre os limites de detecção e as técnicas de determinação de metais de uma forma geral.

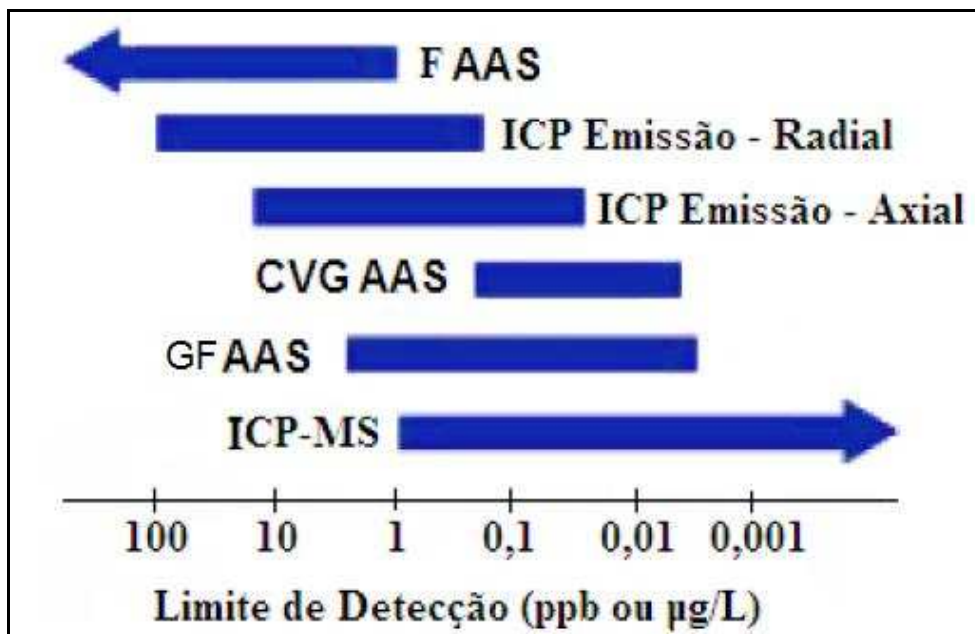


Figura 7 – Faixa de limite de detecção para alguns métodos de análises. Adaptado de PerkinElmer (2000).

Dessa forma, a Figura 7 faz uma comparação entre as técnicas e seus limites de detecção (LD) que segundo a ANVISA trata-se da menor quantidade de analito que pode ser detectada em uma amostra. No entanto, não necessariamente quantificada sob as condições do procedimento analítico. O limite de quantificação (LQ) também pode ser diferenciado para cada técnica já que se trata da menor quantidade de analito que pode ser encontrada com precisão e exatidão aceitáveis para as condições adotadas no procedimento analítico (ANVISA, 2003a).

Para ambos os parâmetros existe os limites de detecção e quantificação instrumental (LD_I e LQ_I) os quais são diferentes dos limites de detecção e quantificação do método (LD_M e LQ_M). O LD_I e LQ_I são estabelecidos através de uma resposta do instrumento que uma dada concentração do analito produz. Já o LD_M e LQ_M estão relacionados com o sinal produzido a partir da amostra que foi submetida a todo o processo analítico (CHASIN et al., 1998).

A determinação do LD e LQ são feitas através de uma equação para cada caso. Para o LD é necessário levar em conta um fator multiplicativo $K = 3$ e a fração entre o desvio padrão (SD) da leitura de dez sinais do branco e a sensibilidade (S). Já para o LQ a diferença na equação é o fator multiplicativo,

que neste caso trata-se de $K = 10$ (ANVISA, 2003a e LONG et al., 1983). As equações podem ser visualizadas abaixo na Equação 1A e 1B.

$$LD = \frac{3 \times SD}{S} \qquad LQ = \frac{10 \times SD}{S} \qquad \text{Equação 1 (A e B)}$$

Como pode ser observado na Figura 7, as técnicas que apresentam menores LDs são: CVG AAS, GF AAS e ICP-MS, pois geram sinais mensuráveis e reprodutivos em pequenas quantidades dos elementos, ao contrário das demais técnicas que necessitam operar em maiores concentrações dos analitos. Dessa forma, as técnicas acabam sendo complementares umas às outras.

Além disso, as técnicas como ICP OES ou ICP-MS, apresentam a vantagem de realizar determinações multi-elementar para diversos tipos de matrizes assim sendo mais rápidas para obter os resultados, fornecendo seletividade com elevada sensibilidade. (HOLLER et al., 2009). As duas técnicas serão melhor exploradas no segundo capítulo dessa dissertação.

3.4.1 Espectrometria de absorção atômica (AAS)

O desenvolvimento da técnica de espectrometria atômica teve início em 1648 com os experimentos de Joannes M. Marci, através de seus relatos sobre a formação do arco íris até os estudos de emissão de Kirchhoff e Bunsen, em 1860, onde a espectrometria atômica estava em seu ápice de pesquisa e desenvolvimento, principalmente para elementos em altas concentrações e que modificassem a coloração da chama. Passados os anos os estudos começaram a caminhar lentamente devido à falta de instrumentação apropriada para a época. No ano de 1954, o cientista australiano Alan Walsh propôs uma técnica para determinação de metais, chamada de espectrometria de absorção atômica em chama, onde quatro anos após ter sido lançada, foi aceita pela sociedade acadêmica, assim sendo reconhecido na comunidade científica como o “pai” da AAS moderna (WALSH, 1955). Essa técnica somente foi consolidada devido ao desenvolvimento e

aprimoramento das lâmpadas de radiação, monocromadores, lentes colimadoras, entre outras partes que compõe este instrumento (AMORIM et al., 2008; HOLLER et al., 2009 e WELZ et al., 1999).

Dessa forma, AAS ganhou grande espaço nas pesquisas e em análises de rotina, por se tratar de uma técnica com alta sensibilidade, seletividade, além de ser simples e ter baixo custo, assim auxiliando na determinação dos analitos e no desenvolvimento de novas metodologias (AMORIM et al., 2008). No entanto, esta técnica geralmente é mono-elementar e baseia-se na medida da intensidade de absorção de energia por átomos no estado fundamental e gasoso. Após a absorção de energia os átomos passam para o estado excitado de maior energia conforme pode ser observado na Figura 8 (WELZ et al., 1999).

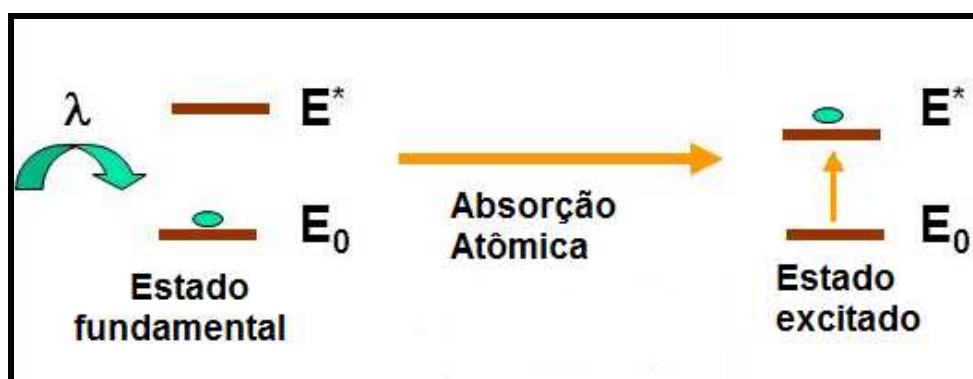


Figura 8 – Processo de absorção atômica.

A energia (E) necessária para o processo de absorção atômica é específica para cada átomo e está relacionada com a frequência (ν) e o comprimento de onda (λ) da radiação envolvida no processo (WELZ et al., 1999 e HOLLER et al., 2009). Com a lei de absorção ou lei de Lambert-Beer, é possível perceber que a concentração de um analito é diretamente proporcional a sua absorvância, com a Equação 2 é possível observar essa relação onde ϵ é a constante de proporcionalidade ou absortividade molar (unidade de $L \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$), b é o caminho óptico do meio absorvente e c é a concentração de uma espécie.

$$A = \epsilon bc$$

Equação 2

Na técnica de AAS o processo de absorção dos átomos é feito após serem atomizados no estado fundamental, assim formando uma nuvem atômica no caminho ótico do equipamento. Existem algumas formas em que pode ocorrer a atomização em AAS: por chama (F AAS), forno de grafite (GF AAS) e ainda por técnicas de geração química de vapor e que utilizam filamentos ou tubos de quartzo (CVG AAS). Com a Figura 9 é possível observar os componentes básicos de um espectrômetro de absorção atômica com os diferentes tipos de atomizadores que podem ser empregados comercialmente a medida que se necessita especificamente de cada técnica.

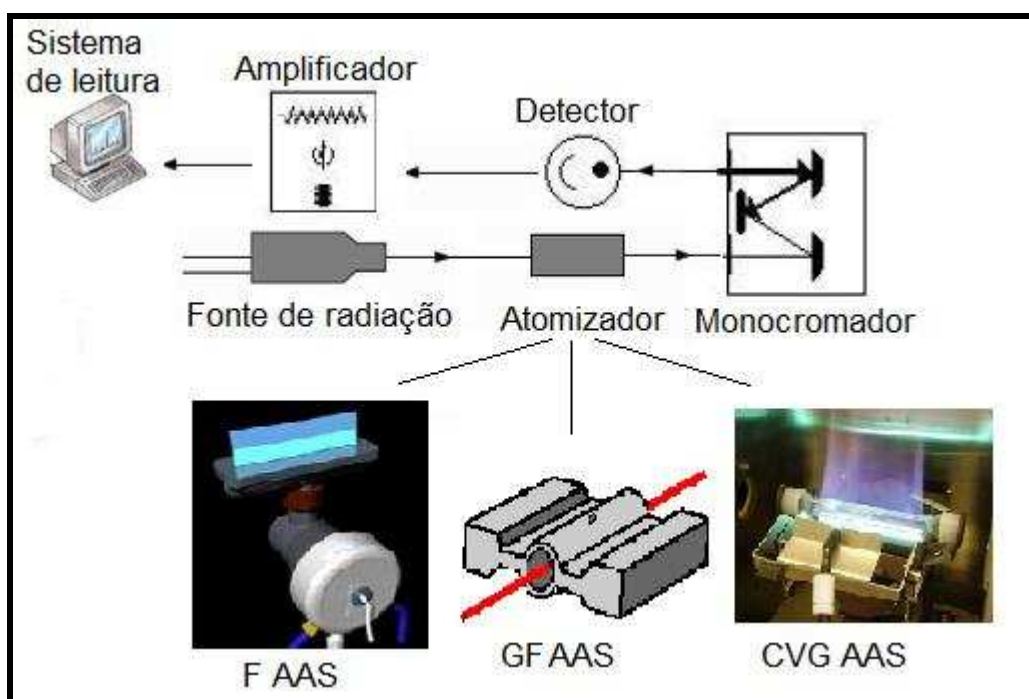


Figura 9 – Componentes básicos de um espectrômetro de absorção atômica com seus atomizadores (F AAS, GF AAS e CVG AAS).

A fenda espectral é de extrema importância na qualidade e desempenho do monocromador, ela é constituída de duas peças de metal exatamente paralelas uma a outra, existindo uma fenda de entrada e uma de saída aos quais são de mesma largura (WELZ et al., 1999 e HOLLER et al., 2009). Já as lâmpadas de cátodo oco são formadas por um ânodo de tungstênio e de um cátodo cilíndrico (constituído ou revestido com o elemento do espectro desejado) selado em um tubo cilíndrico preenchido com gás inerte.

Nessa lâmpada é aplicada uma diferença de potencial e assim é gerada uma corrente que faz com que os íons e elétrons migrem para os eletrodos, caso a voltagem seja suficiente os cátions gasosos adquirem energia cinética suficiente para colidir com o cátodo e produzir uma nuvem atômica com o elemento de interesse, uma parte dos elementos removidos encontram-se em estado excitado emitindo sua radiação para retornar ao estado fundamental. Altas correntes empregadas na lâmpada de cátodo oco geram maior potencial, dessa forma, gera um grande número de átomos não excitados que podem absorver a radiação dos átomos excitados, essa alta absorção diminui a intensidade da lâmpada, fenômeno conhecido como auto-absorção. Já correntes mais baixas podem não fornecer potenciais suficientes para excitar átomos necessários para uma intensidade aceitável (WELZ et al., 1999 e HOLLER et al., 2009).

3.4.1.1 Espectrometria de absorção atômica em chama (F AAS)

A técnica de F AAS é muito utilizada nos laboratórios de rotina por ser simples, robusta, seletiva e capaz de diferenciar os analitos em matrizes distintas. Além disso, o custo do equipamento e da manutenção é baixo (WELZ et al., 1999).

A amostra em contato com a chama gera uma nuvem de átomos e íons, pela chama passa a radiação da lâmpada de cátodo oco, dessa forma, há necessidade de ajustar a altura do atomizador para que a incidência da radiação da lâmpada atinja uma região onde apresente a nuvem atômica mais concentrada de átomos no estado fundamental. A chama é constituída de uma mistura de gás combustível e oxidante, sendo que a proporção e o tipo de gás utilizado são escolhidos de acordo com a temperatura de queima desejada para a máxima atomização de cada analito (WELZ et al., 1999 e HOLLER et al., 2009).

A introdução das amostras é feita através de nebulizadores pneumáticos, que são responsáveis em converter a solução da amostra em um aerossol líquido para determinação dos analitos, o qual pode ser visualizado na Figura 10, que mostra um esquema contendo o nebulizador pneumático junto

ao atomizador chama. No entanto, apenas as menores gotículas chegam ao atomizador, as maiores que são em cerca de 90% da solução de amostra aspirada são descartadas (TAKASE et al., 2002).

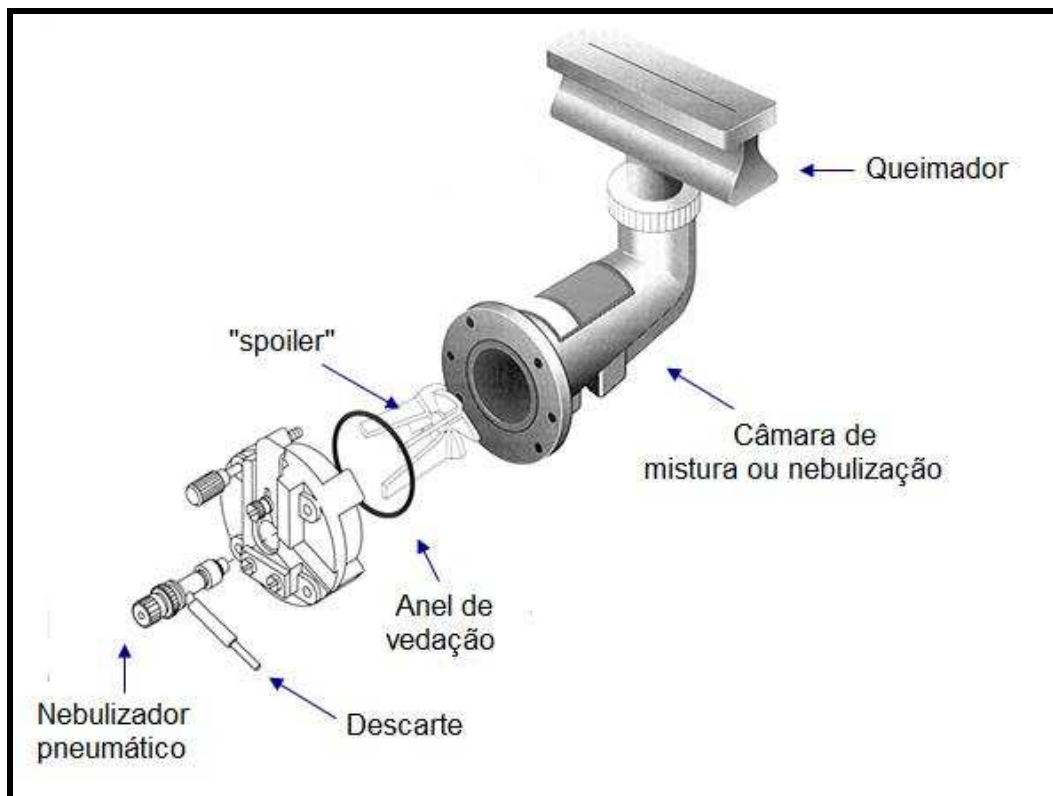


Figura 10 – Desenho esquemático de um nebulizador pneumático e suas partes junto ao atomizador chama. Adaptado de PerkinElmer (2000).

3.4.1.2 Interferências

Existem basicamente dois tipos de interferências relacionadas com as técnicas de espectrometria atômica: as interferências espectrais e não espectrais. As interferências espectrais acontecem quando a emissão ou absorção de uma espécie indesejada se sobrepõe ou fica muito próxima da emissão ou absorção da linha do analito, limitando a atuação do monocromador para separar essas linhas de radiação. Já as interferências não espectrais geralmente são decorrentes de vários processos que ocorrem durante a etapa de atomização e transporte, variando de forma representativa a população de átomos na cela de absorção e assim alteram as características de absorção do analito (HOLLER et al., 2009).

Um exemplo muito evidenciado de interferência não espectral são as interferências químicas como a ionização, que ocorrem pelas altas temperaturas de algumas chamas que, dependendo do analito a ser determinado, essa alta energia ultrapassa a etapa de atomização, resultando na dissociação de íons e, que por vez, reduz a quantidade de átomos no estado fundamental, o que acaba por diminuir a absorvância das espécies. Metais alcalinos e alcalinos terrosos são os mais suscetíveis a essas interferências, pois apresentam baixos potenciais de ionização, ou seja, se ionizam com maior facilidade quando comparados a outros elementos. O método mais aplicado para minimizar os efeitos dessas interferências é o uso de soluções tampão (tampões de ionização), sendo estes padrões de um sal (Cloreto de cézio, lantânio, lítio), contendo um elemento com menor potencial de ionização que a espécie a ser determinada (WELZ et al., 1999; HOLLER et al., 2009 e OLIZ et al., 2013).

Além dessas interferências, a matriz influencia diretamente na análise, modificando sua viscosidade e tensão superficial, assim necessitando que a curva de calibração seja feita de forma que simule a solução da amostra para não haver diferença na aspiração das soluções. Também pode influenciar na diminuição do calor, ou seja, na energia da chama sendo gasto para eliminar possíveis compostos orgânicos ao invés de atomizar os analitos; gerar sinais de fundo ou espalhamento da radiação, assim gerando resultados incorretos (HOLLER et al., 2009).

3.4.1.3 Espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GF AAS)

No ano de 1959 Boris L'vov desenvolveu o forno de grafite com a ideia de utilizá-lo para amostragem direta de sólidos, assim teve o surgimento do atomizador eletrotérmico, que pode ser visualizado na Figura 11. Passados seis anos Hans Massmann aprimorou o forno de grafite de L'vov, transformando em uma peça única com circulação de gás inerte, no qual o fluxo externo é responsável por evitar a entrada de ar e, conseqüentemente, evitando a queima do tubo. Já o fluxo interno é responsável por eliminar os

vapores gerados pela matriz da amostra durante os estágios de aquecimento do forno. Além disso, o aquecimento era feito eletricamente com uma corrente de baixa voltagem. Dessa forma, o aquecimento por resistência elétrica permitiu a mudança gradual da temperatura em estágios assim possibilitando a seleção das condições ótimas de temperatura para a atomização de cada analito. A Figura 12 é possível observar o forno de Massmann com os sentidos do fluxo de gás inerte externo e interno.

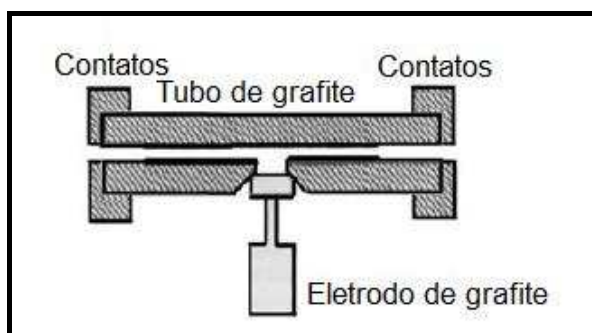


Figura 11 – Forno de grafite desenvolvido por Boris L'vov. Adaptado de WELZ et al. (1999).

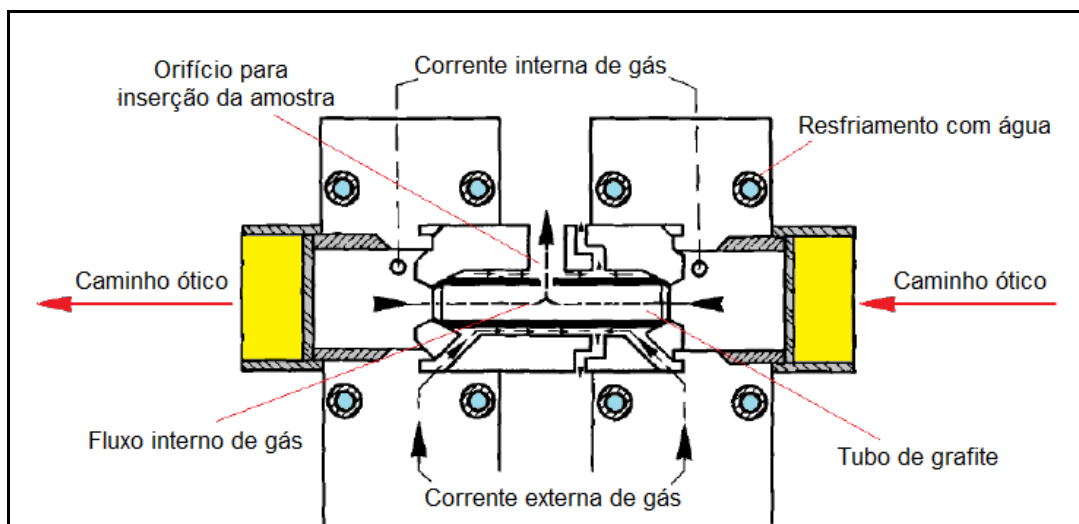


Figura 12 – Forno de grafite desenvolvido por Hans Massmann. Adaptado de WELZ et al. (1999).

Logo após a criação do forno de Massmann, L'vov e outros pesquisadores constataram algumas dificuldades durante o processo de leitura, ocasionando sinais analíticos baixos, dessa forma estudos para aprimorar o atomizador começaram a ser feitos. Além disso, L'vov sugeriu o uso de uma

plataforma de grafite no interior do tubo, consistindo de uma pequena lâmina de grafite pirolítico com uma leve depressão no centro presa por ranhuras na parede do tubo atuando como trilhos, gerando assim uma maior homogeneidade durante o aquecimento interno. As plataformas começaram a ser conhecidas como “plataforma de L’vov” e está representado na Figura 13, fizeram com que houvesse uma diminuição de interferências químicas, já que a amostra é colocada sobre a plataforma tornando o aquecimento gradual por meio da radiação vinda das paredes do tubo e posteriormente pelo gás (WELZ et al., 1999).

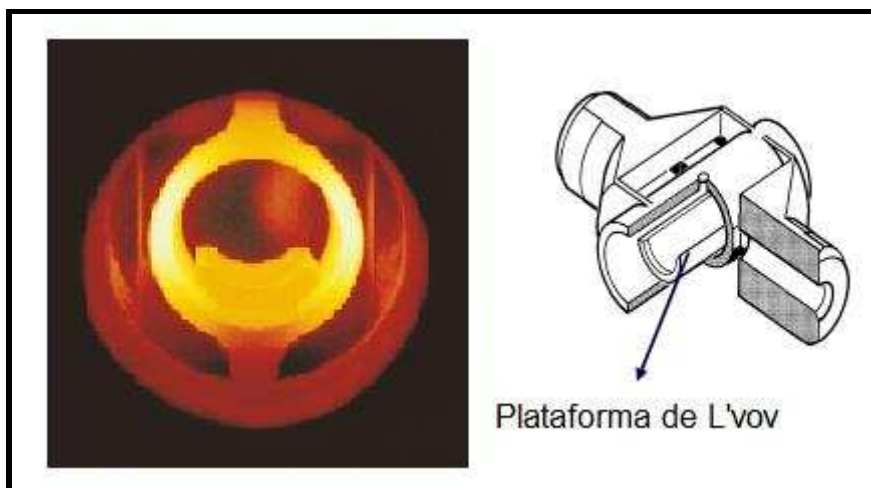


Figura 13 – Plataforma de L’vov.

O uso das plataformas de L’vov melhoraram os sinais analíticos, no entanto, existem vários fatores que devem ser levados em consideração para obter resultados confiáveis. As condições ideais para a realização de uma análise com GF AAS foram estabelecidas em 1981 por Walter Slavin e assim ficaram conhecidas como Forno Plataforma de Temperatura Estabilizada (*Stabilized Temperature Platform Furnace* - STPF) que se encontram na Tabela 1 (WELZ et al., 1999 e CORREIA et al., 2003).

Tabela 1. Conceito STPF aplicado a GF AAS. Adaptado de CORREIA et al. (2003).

Condições STPF	Observações
Uso da Plataforma de L'vov	Aquecimento mais homogêneo do tubo durante a atomização
Sinais de absorvância registrados em área, ao invés de altura do sinal	Minimização dos efeitos das variações cinéticas do processo de atomização
Uso de tubos revestidos com grafite pirolítico	Redução de perdas por difusão através da parede do atomizador
Aquecimento transversal do tubo de grafite	Estabelecimento de um ambiente espacialmente isotérmico
Uso de corretor de fundo eficiente	Correções das interferências espectrais
Uso de modificador químico	Aumento da eficiência do tratamento térmico durante a etapa de pirólise
Interrupção do fluxo de gás durante a etapa de atomização	Aumento do tempo de residência da nuvem atômica no caminho ótico
Elevada taxa de aquecimento do tubo de grafite durante as etapas	Redução de interferências na fase vapor e formação de uma densa nuvem atômica
Eletrônica rápida e adequada	Obtenção do registro dos sinais de absorvância em tempo real

Para cada tipo de análise é necessário otimizar um programa de temperatura e tempo específico, o qual é composto de cinco etapas essenciais: secagem (evaporação dos solventes), pirólise, atomização, limpeza e resfriamento, como pode ser observado pela Figura 14.

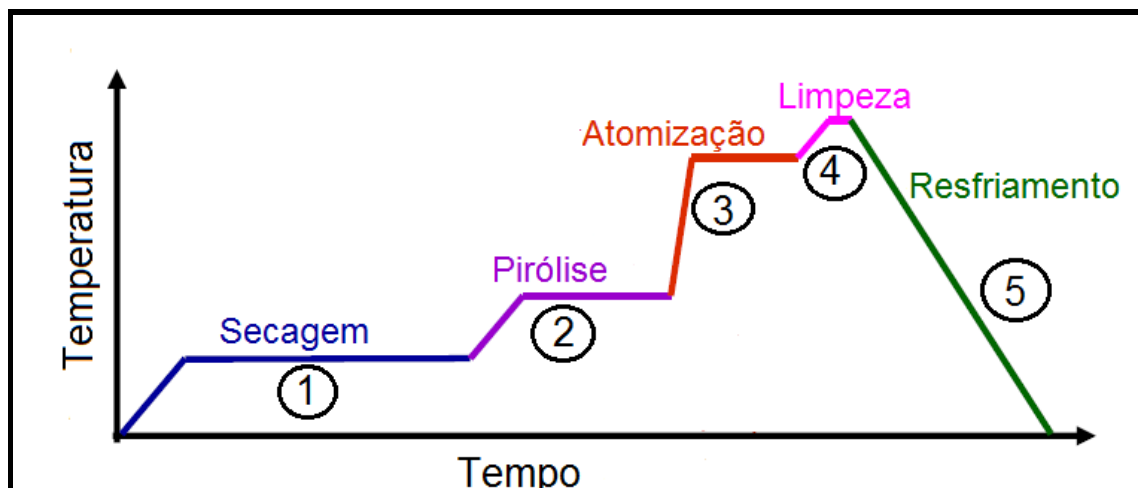


Figura 14 - Etapas ilustrativas de um programa de aquecimento para análise por GF AAS.

Na etapa de secagem os solventes são evaporados da amostra, para qual o aquecimento do tubo tem que ser lento e de forma uniforme, para que não haja ebulição da solução e consequentemente, perdas da amostra para fora do tubo, refletindo na reprodutibilidade das medidas. A pirólise é responsável pela eliminação dos componentes da matriz, nela o objetivo é atingir a máxima temperatura possível, sem que haja perda de analito por volatilização. Na atomização a temperatura fornecida formará uma nuvem atômica com o analito no estado fundamental e assim é possível gerar um sinal transiente que representa a quantidade de analito presente na amostra analisada. A limpeza é realizada para eliminar possíveis resíduos de amostra que possam ter ficado no tubo de grafite, dessa forma é empregado temperaturas elevadas, assim não propicia um efeito de memória nas próximas leituras instrumentais. Por último é feita a etapa de resfriamento, onde a temperatura é diminuída até chegar na temperatura ambiente, para que se possa realizar um novo ciclo no tubo de grafite (WELZ et al., 1999; HOLLER et al., 2009).

Existem dois tipos de aquecimento no forno de grafite, o aquecimento transversal e o longitudinal. O que apresenta maior eficiência é o de aquecimento transversal, pois proporciona um aquecimento mais homogêneo sem a perda dos elementos voláteis. Já os tubos com aquecimento longitudinais não são recomendados devido aos elementos migrarem para as

extremidades mais frias do tubo, ocasionando dispersão da nuvem atômica e eventuais processos de recombinação (WELZ et al., 1999; HOLLER et al., 2009 e FRESCHI et al., 2000).

As principais vantagens da técnica de GF AAS são os baixos limites de detecção para diversos analitos, além de necessitar de pequena quantidade de amostra, possibilidade de análise direta de sólido e um mínimo tratamento da amostra para determinação. No entanto, pode apresentar como desvantagem o fornecimento de sinais de fundo mais elevado no momento da atomização, proveniente da matriz da amostra, dessa forma, o uso de corretores de fundo é necessário para que esse não interfira no sinal do analito. Os corretores são responsáveis por medir a intensidade do fundo separadamente do sinal de absorvância total, e assim por subtração de ambos os valores é possível obter o sinal analítico sem interferências. Existem quatro tipos de corretores de fundo diferentes: fonte contínua, efeito Zeeman, corrente pulsada e medição próxima da linha analítica. Cada corretor apresenta suas características para medir e corrigir o sinal de fundo, no entanto, o corretor de efeito Zeeman é o mais recomendado, pois ele atua nos comprimentos de onda de 190 a 900 nm. Além disso, a absorção total e a de fundo são medidas no mesmo comprimento de onda, assim ele faz a correção de fundos estruturados, porém esse fundo não deve sofrer variação com o campo magnético que é aplicado e nem variar ao longo do tempo (entre o campo magnético ligado e desligado) (WELZ et al., 1999 e NOMURA et al., 2008).

3.4.1.3.1 Modificadores químicos

Como já descrito anteriormente as etapas de pirólise e atomização devem ser estudadas, sempre no intuito de se utilizar a maior temperatura de pirólise para garantir a máxima eliminação da matriz e a menor temperatura de atomização, com intuito de também preservar a vida útil do tubo de grafite. Contudo, nem sempre é possível, pois alguns elementos se volatilizam na etapa de pirólise. Para garantir que os elementos permaneçam no tubo, para apenas formar a nuvem atômica na etapa de atomização é comum utilizar modificadores químicos (WELZ et al., 1999; HOLLER et al., 2009).

No ano de 1975, com Ediger, o uso de modificadores químicos teve início onde foram definidas as propriedades que um modificador deveria exercer, como uma substância capaz de aumentar a estabilidade térmica do analito ou volatilizar componentes da matriz. Logo após os estudos de Ediger, Schlemmer e Welz ampliaram as características dos modificadores químicos, além de estabilizar o analito em temperaturas mais elevadas e remover componentes da matriz, ele deveria ser eficiente para mais de um analito e para mais de uma forma química que pudesse apresentar, além de ter alto grau de pureza, não degradar os forno de grafite ou os componentes do equipamento (SCHLEMMER e WELZ, 1986).

Existem duas formas que pode se utilizar o modificador químico, uma delas é diretamente na amostra, podendo adicionar o modificador no tubo de grafite e a amostra ser pipeta por cima, ou vice-versa, ou misturar os dois em solução; a segunda opção é a utilização de um modificador permanente, para isso é pipetado o modificador na plataforma e logo após é utilizado um programa de aquecimento para ocorrer a deposição, térmica recobrando assim a plataforma (BORGES et al., 2014).

Os modificadores químicos mais utilizados são: Cu, Ni, Pd e Mg, já os modificadores permanentes são os do grupo da platina: Pd, Pt, Ir, Ru e Rh e os formadores de carbetos: Zr, W, Nb e Ta. O chamado modificador químico universal trata-se da mistura de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2/\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ descoberto devido os estudos de WELZ e colaboradores, que conseguiram determinar 21 elementos, mostrando sua eficiência na etapa de pirólise e na remoção da matriz (BORGES et al., 2014).

4. Materiais e Métodos

4.1 Instrumentação

Para a determinação dos elementos metálicos Cu, Cr, Mg e Zn foi utilizado um espectrômetro de absorção atômica em chama (F AAS), enquanto que para K e Na um espectrômetro de emissão atômica em chama (F AES) modelo AAnalyst 200 (Perkin Elmer, Singapura), equipado com uma lâmpada de cátodo oco para cada analito a ser determinado (Lumina, Perkin Elmer) e uma lâmpada de arco de deutério como corretor de fundo, exceto para o Na e K que tiveram as suas determinações realizadas no modo de emissão atômica. Além disto, foi utilizado como gás combustível o acetileno (Linde, Barueri, SP, Brasil) e como gás oxidante o ar comprimido. A altura do atomizador utilizada foi de 0,5 cm e a vazão do gás acetileno foi de 2,5 L min⁻¹ para todos os analitos, as demais condições operacionais utilizadas estão apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2. Condições operacionais utilizadas para as análises por F AAS e FAES.

Parâmetro	Analito					
	Cu	Cr	K	Mg	Na	Zn
Comprimento de onda (nm)	324,75	357,87	766,49	285,21	589,00	213,86
Fenda espectral (nm)	2,7/0,8	2,7/0,8	2,7/0,45	2,7/1,05	1,8/0,6	2,7/1,8
Corrente da lâmpada (mA)	15,0	25,0	-	6,0	-	15,0

Para a determinação do analito Pb foi utilizado um espectrômetro de absorção atômica em forno de grafite (GF AAS) modelo PinAAcle 900Z (Perkin Elmer, Singapura) equipado com amostrador automático modelo AS900. O sistema é gerenciado por computador com programa WinLab 32 for AA Version 7.3 em ambiente Windows®. Sinal transiente foi utilizado para calcular a

concentração do analito e a área de pico foi corrigida através de um corretor de fundo baseado no Efeito Zeeman. Foram utilizados tubos de grafite com plataforma de L'vov com revestimento de grafite pirolítico, com aquecimento transversal (Perkin Elmer), lâmpadas de cátodo oco de Pb (Lumina, Perkin Elmer), argônio como gás de purga e de refrigeração, com pureza de 99,996% (Linde, Barueri, SP, Brasil). O modificador químico utilizado foi Pd/Mg (5 µg + 3 µg). As condições operacionais utilizadas do espectrômetro são apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3. Condições operacionais utilizadas no GF AAS para as determinações de Pb.

Parâmetro	Analito
	Pb
Comprimento de onda (nm)	283,31
Fenda espectral (nm)	0,7
Corrente da lâmpada (mA)	10

A sequência de pipetagem utilizadas para introdução de amostra e modificadores no tubo de grafite foi realizada em três etapas amostra, modificador de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ e modificador $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, intercaladas com limpeza da ponteira, para posteriormente processar o programa de tempo e temperatura do atomizador eletrotérmico.

Para realizar a decomposição ácida das amostras, foi utilizado um bloco digestor modelo MA-4025 (Marconi, Piracicaba, SP, Brasil) e a cada tubo foi introduzido um sistema de refluxo, o qual consiste de um sistema com circulação interna de água a temperatura de aproximadamente 15 °C resfriado por um banho termostatizado modelo Q-214M2 (Quimis, Brasil). Esse sistema é adaptado aos tubos por intermédio de um encaixe de teflon que contém uma ranhura lateral para alívio da pressão, fazendo com que o sistema opere a pressão atmosférica. O processo de circulação de água garante que a superfície do “dedo” continue sempre fria e sem risco de aquecimento, a fim de evitar perdas de analito e reagente por volatilização, conforme descrito por

Oreste e colaboradores (ORESTE et al., 2013b). O esquema pode ser visualizado na Figura 15 abaixo.

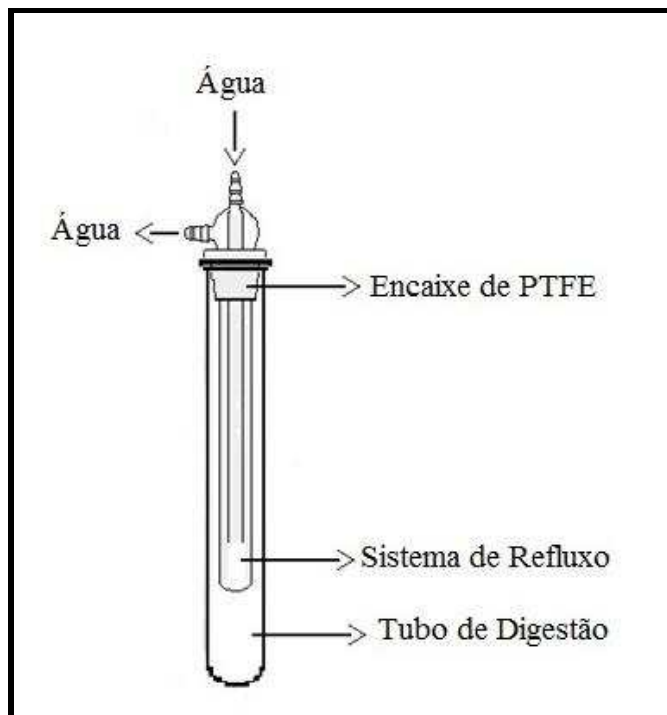


Figura 15 - Sistema de refluxo utilizado no processo de preparo das amostras.

4.2 Reagentes e Materiais

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico. Para o preparo de todas as soluções, utilizou-se água desionizada obtida a partir de um sistema de purificação Direct-Q 3 da Millipore (BedFord, MA, Estados Unidos), com resistividade de 18,3 M Ω cm a temperatura de 25 °C. As soluções padrões utilizadas na calibração instrumental foram obtidas de suas respectivas soluções estoque (100 mg L⁻¹ para: Cr, K, Mg, Na e Zn, 1000 mg L⁻¹ para: Cu e Pb) preparadas em meio de HNO₃ a 1% (v/v) (Merck, Darmstadt, Alemanha).

Para a determinação de Mg por F AAS uma solução de cloreto de cézio 1% (m/v) e cloreto de lantânio 10% (m/v) (Fluka, Buchs, Alemanha), como supressor de ionização e formação de óxidos, respectivamente.

Como modificadores químicos na determinação de Pb por GF AAS, foram utilizadas soluções de paládio e magnésio (Sigma-Aldrich, Alemanha), ambos em uma concentração de 1000 mg L⁻¹.

O ácido nítrico (Synth, Brasil) utilizado na etapa de preparo das amostras foi bidestilado abaixo do seu ponto de ebulição em um destilador de quartzo MA-075 (Marconi, Piracicaba, SP, Brasil). Além desse, também foi utilizado peróxido de hidrogênio concentrado (Synth, Brasil) para essa etapa.

As amostras foram pesadas utilizando uma balança analítica Ohaus Adventurer modelo AR 2140 (Pine Brook, NJ, Estados Unidos) com resolução de 0,1 mg e tara máxima de 210 g para realização dos sólidos totais.

Toda a vidraria e materiais de laboratório foram limpos com água e detergente, após secar a temperatura ambiente foram imersos em uma solução de HNO₃ 10% (v/v) por 48 h. Posteriormente foram enxaguados com água desionizada e secos a temperatura ambiente antes de seu uso.

4.3 Preparo das amostras e soluções de calibração

4.3.1 Preparo das Amostras

Foram utilizadas para o desenvolvimento do procedimento proposto e verificação das concentrações dos analitos, quatro amostras de sucos comercializadas em embalagem do tipo Tetra Pak® nos sabores: morango, manga, pêssego e laranja, os quais foram adquiridos em comércio local na cidade de Pelotas, RS.

Para todas as amostras foram adicionados 15 mL de suco diretamente nos frascos do bloco digestor com a posterior adição de 15 mL de HNO₃ concentrado para a mineralização das amostras. Também foi adicionado ao frasco de digestão 20 pérolas de ebulição para evitar erupções da solução. Em seguida, foi acoplado o sistema de refluxo a esses frascos, e levados ao aquecimento por 2 h a 200 °C do bloco digestor. Após o resfriamento das amostras a temperatura de 120 °C, foi adicionado 1 mL de H₂O₂ e as soluções foram encaminhadas novamente ao aquecimento por mais 30 min na mesma temperatura citada anteriormente. Posteriormente, as soluções resultantes

foram transferidas para frascos volumétricos e o volume foi completado a 40 mL com água desionizada. A Figura 16 ilustra o processo de decomposição ácida.

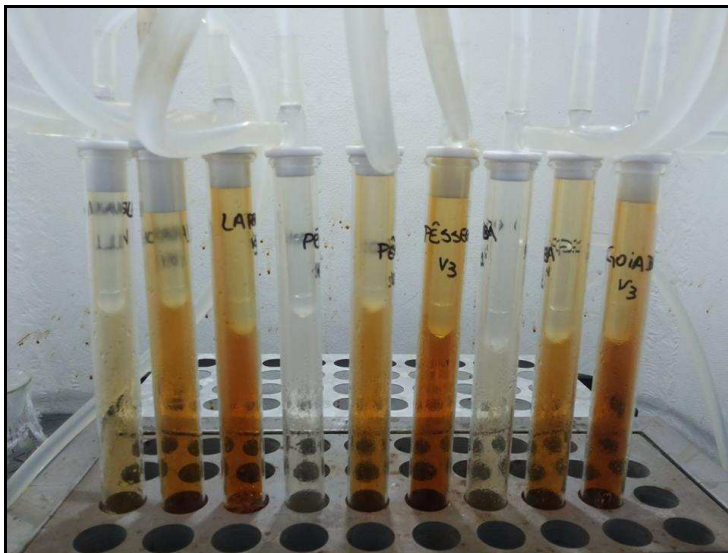


Figura 16 - Processo de decomposição ácida utilizando o sistema de refluxo.

4.3.2 Curvas de Calibração para F AAS, F AES e GF AAS

Foi realizada uma única calibração em meio ácido para a leitura dos elementos. Para F AAS, as faixas lineares adotadas foram: Cu e Cr (1 a 4 mg L⁻¹), K (0,5 a 2 mg L⁻¹), Mg (0,1 a 0,5 mg L⁻¹), Na (0,5 a 2 mg L⁻¹) e Zn (0,5 a 3 mg L⁻¹). Para a determinação do microconstituente Pb no GF AAS a faixa linear foi: Pb (10 a 60 µg L⁻¹).

5. Resultados e Discussão

5.1 Sólidos Totais

Para avaliar a quantidade de água e açúcares presentes nos sucos fez-se o teste de sólidos totais, onde primeiramente levou-se os vidros relógios a estufa e deixou-se secando por 30 min a 100 °C e registrou-se sua massa. Posteriormente 5 mL de cada suco foi pipetado nos vidros relógio e também anotou-se as respectivas massas. Com isso, esses vidros foram encaminhados a estufa a 100 °C, até a massa do sistema ser constante. Sendo assim, por diferença de massas foi possível verificar a porcentagem de sólidos totais presentes nos sucos, os quais apresentaram cerca de 88% (m/m) de água e dessa forma 12% (m/m) de suco sólido. A Figura 17 mostra os vidros relógio após esse procedimento experimental descrito.



Figura 17 - Sólidos totais presente nas amostras de suco de laranja.

5.2 Estudos de Decomposição das Amostras

Após verificar a porcentagem de sólidos totais presente nos sucos, estudos de decomposição ácida foram realizados e serão descritos abaixo.

- **Estudo 1:**

Adicionou-se ao tubo de digestão 15 mL de cada suco (morango, manga, pêssgo ou laranja) e 10 mL de HNO_3 bidestilado. Colocou-se o sistema de refluxo e levou-se ao bloco digestor onde a temperatura foi aumentada de 80 °C até 150 °C onde permaneceu por 2h. Posteriormente, a temperatura do bloco digestor foi reduzida para 100 °C para adicionar 1 mL de H_2O_2 . No entanto, o suco de pêssgo projetou e assim perdeu-se amostra, além disto ao final da digestão observou-se que para os sucos de manga e laranja a digestão não foi completa, precipitando amostra no fundo do tubo, não sendo assim eficiente.

- **Estudo 2:**

Adicionou-se ao tubo de digestão 10 mL de cada suco (morango, manga, pêssgo ou laranja) e 10 mL de HNO_3 bidestilado. Colocou-se o sistema de refluxo e levou-se ao bloco digestor onde a temperatura foi aumentada através de uma rampa de aquecimento, que permaneceu por 30 min a 80 °C, após atingir 120 °C permaneceu-se por mais 30 min e por fim ao atingir 160 °C onde permaneceu por 3h, ao final aferiu-se a 50 mL com água desionizada.

Posteriormente, a temperatura do bloco digestor foi reduzida para 100 °C para adicionar 1 mL de H_2O_2 , onde permaneceu mais 1h na temperatura de 160 °C. Observou-se que para algumas amostras houve a formação de bolhas devido ao aquecimento, assim aumentando o risco de ocasionar erupções, dessa forma, uma alternativa seria o uso de pérolas de ebulição, que servem para evitar a ebulição tumultuosa de um líquido sob pressão atmosférica. Assim, quando são adicionadas a solução se aquecem e liberam pequenas bolhas que ajudam a promover uma ebulição mais regular.

Observou-se uma boa decomposição para as amostras de suco de morango e laranja, no entanto, para os sucos de manga e pêssgo algumas partículas ficaram suspensas, sendo assim, temperaturas maiores foram estudadas.

Como todas as amostras apresentaram uma melhor decomposição em relação ao primeiro teste, utilizou-se elas para fazer o estudo de sinal de alguns analitos. Utilizou-se o F AAS para estudar o sinal de absorvância dos analitos: Cu, Mg e Zn e o espectrômetro de emissão atômica em chama F AES para o estudo do sinal de emissão dos analitos: K e Na. Onde os valores dos sinais analíticos estão ilustrados na Figura 18.

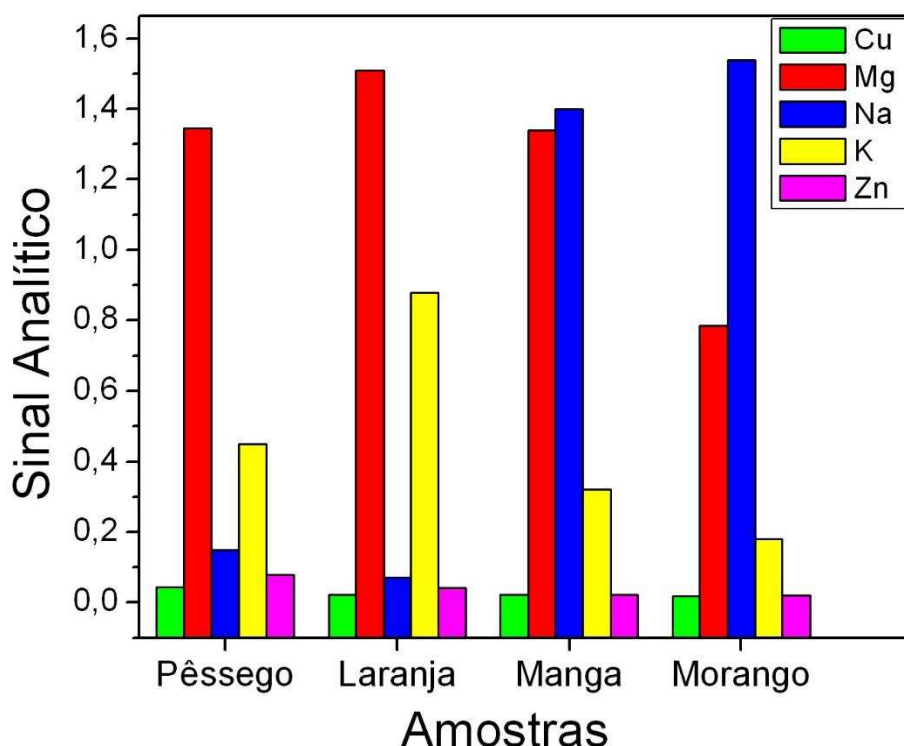


Figura 18 - Sinais analíticos para Mg, Zn e Cu por F AAS e Na e K por F AES.

Com os resultados dos sinais é possível observar que há uma quantidade considerável dos elementos estudados no suco, já que a digestão foi avolumada a 50 mL estima-se que o fator diluição para essas amostras foi de 5 vezes.

- **Estudo 3:**

Neste estudo, optou-se por somente variar o volume de HNO_3 adicionado a 5 mL de cada suco (morango, manga, pêssego ou laranja).

Utilizou-se uma rampa de aquecimento de 80 °C, 120 °C e 160 °C aumentados a cada 30 min, permanecendo na última temperatura por 3h. O volume de ácido adicionado a cada tubo de digestão foi de 2,5 mL, 5 mL e 10 mL, respectivamente v1, v2 e v3, ao final da digestão as amostras foram avolumadas a 25 mL com água desionizada.

Visualmente as amostras não apresentaram nenhum sólido ou precipitação, porém foi observado que as amostras de suco de laranja e pêssago, o v1 (2,5 mL) apresentou coloração mais amarelada que o v2 (5 mL) e v3 (10 mL) apresentando aspecto límpido.

Sendo assim, resolveu-se testar o v1 (2,5 mL) do suco de laranja e colocou-se a solução já avolumada com água desionizada a 25 mL novamente no sistema de refluxo, a fim de se observar se a coloração iria ficar mais límpida. Adicionou-se mais 1 mL de H_2O_2 por 1h a 160 °C no bloco digestor.

Ao final desse tempo observou-se que a solução de suco de laranja tornou-se mais límpida com a adição de H_2O_2 em relação ao suco de laranja sem adição de H_2O_2 como pode ser observado na Figura 19 abaixo.

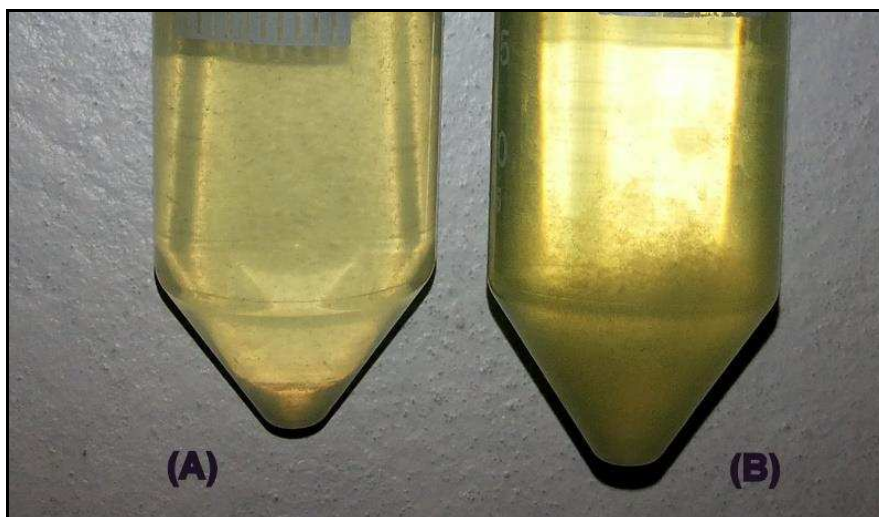


Figura 19 – Amostras de suco de laranja com a adição de v1 (2,5 mL) de HNO_3 e (A) 1 mL de H_2O_2 , (B) 0 mL de H_2O_2 .

Ao final da decomposição de todas as amostras de sucos fez-se uma titulação a fim de descobrir a quantidade de ácido remanescente nas amostras, já que com o sistema de refluxo é empregado temperaturas superiores ao ponto de ebulição do ácido.

Para isto, utilizou-se uma solução padronizada de NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ como titulante e uma solução vermelho de fenol como indicador. Conforme demonstrado no gráfico da Figura 20, pode se observar a concentração de H^+ nas amostras digeridas, na qual percebe-se que a digestão foi eficiente para os três volumes de ácido, uma vez que o sistema de refluxo permitiu a condensação dos vapores desse reagente, além de se observar nitidamente comportamento semelhante das amostras.

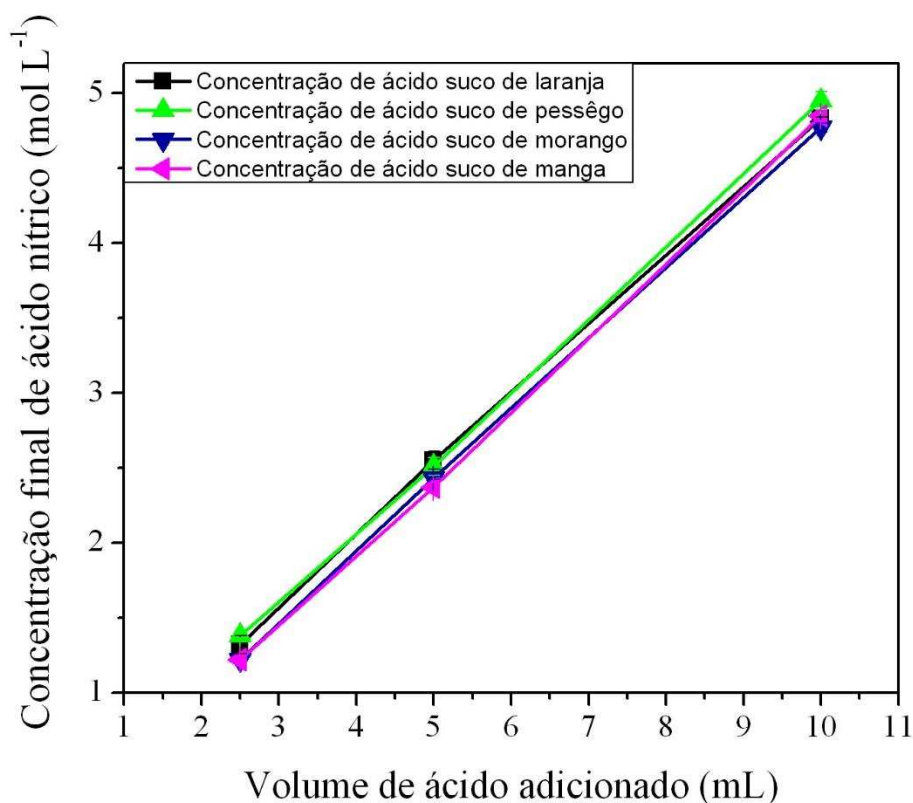


Figura 20 - Efeito do volume de ácido nas soluções resultantes das mineralizações.

- **Estudo 4:**

A partir dos dados obtidos no estudo 3, o estudo 4 foi realizado visando determinar a melhor temperatura de trabalho para o bloco digestor.

Para isto utilizou-se 5 mL do suco de laranja e 2,5 mL de HNO_3 , conforme a seguinte rampa de aquecimento: 80 °C, 120 °C, 160 °C, 200 °C e 220 °C. A cada 30 min a temperatura do bloco foi aumentada e um tubo de

digestão foi retirado em cada temperatura. Na última temperatura o último tubo totalizou o tempo de 2h.

No entanto, a decomposição não apresentou um solução límpida, possivelmente pelo volume baixo de ácido adicionado, assim diluindo muito a solução e não sendo eficiente a decomposição das amostras.

- **Estudo 5:**

Resolveu-se repetir o estudo 4, no entanto, aumentando a quantidade de ácido (HNO_3) para um volume de 5 mL.

Nitidamente a proporção 1:1 suco de laranja e ácido deste estudo mostrou-se mais límpida, abaixo pode-se comparar as decomposições a partir das imagens fotográficas representadas nas Figuras 21 a 25 comparando o estudo 4 e 5 nas diferentes temperaturas estudadas.

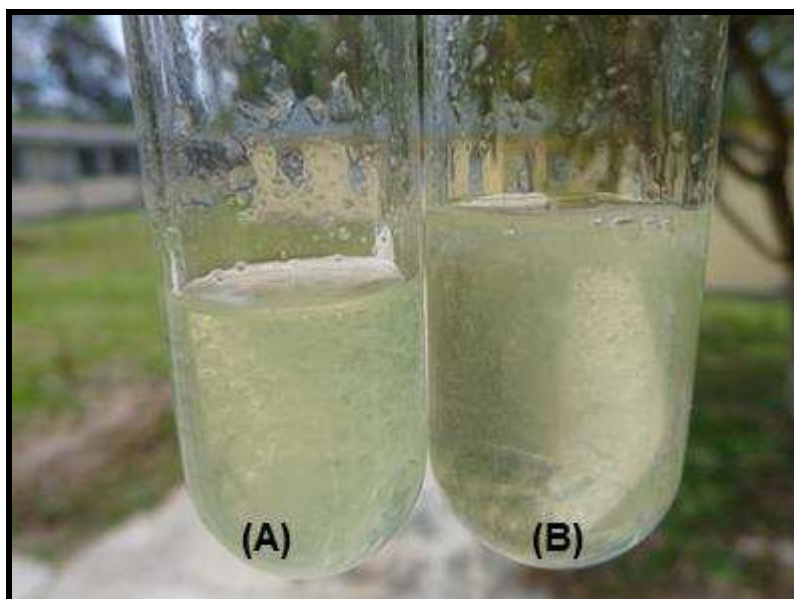


Figura 21 - (A) Amostra teste 4, (B) Amostra teste 5 a temperatura do bloco digestor de 80 °C.

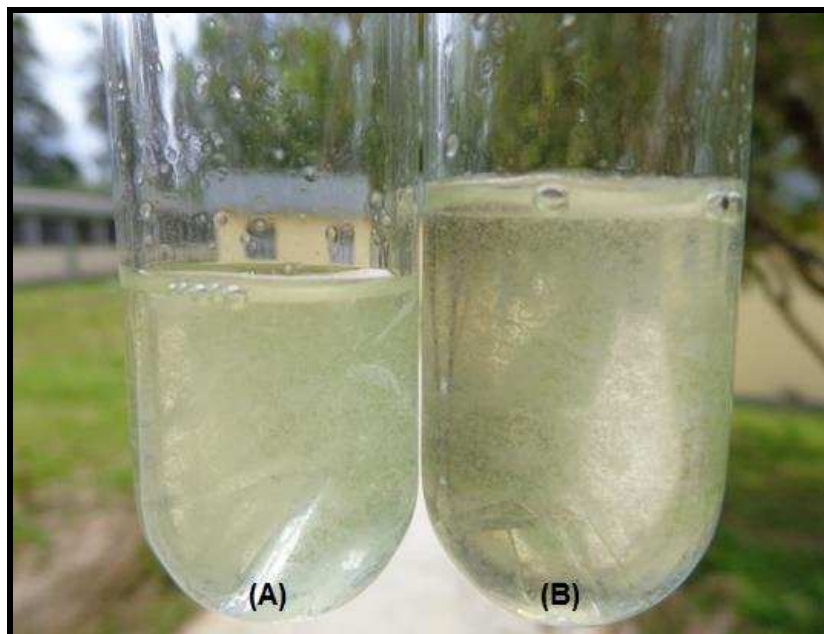


Figura 22 - (A) Amostra teste 4, (B) Amostra teste 5 a temperatura do bloco digestor de 120 °C.

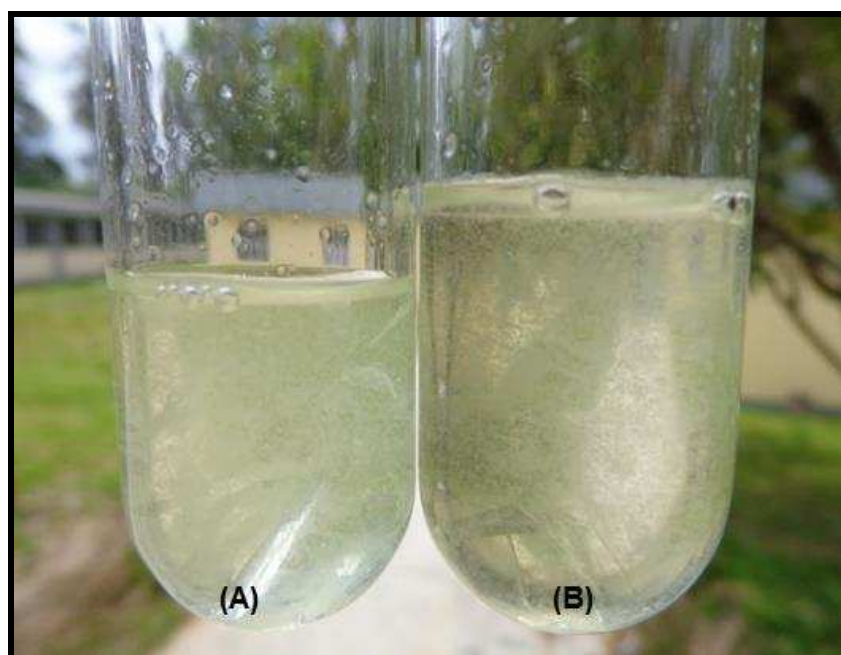


Figura 23 - (A) Amostra teste 4, (B) Amostra teste 5 a temperatura do bloco digestor de 160 °C.

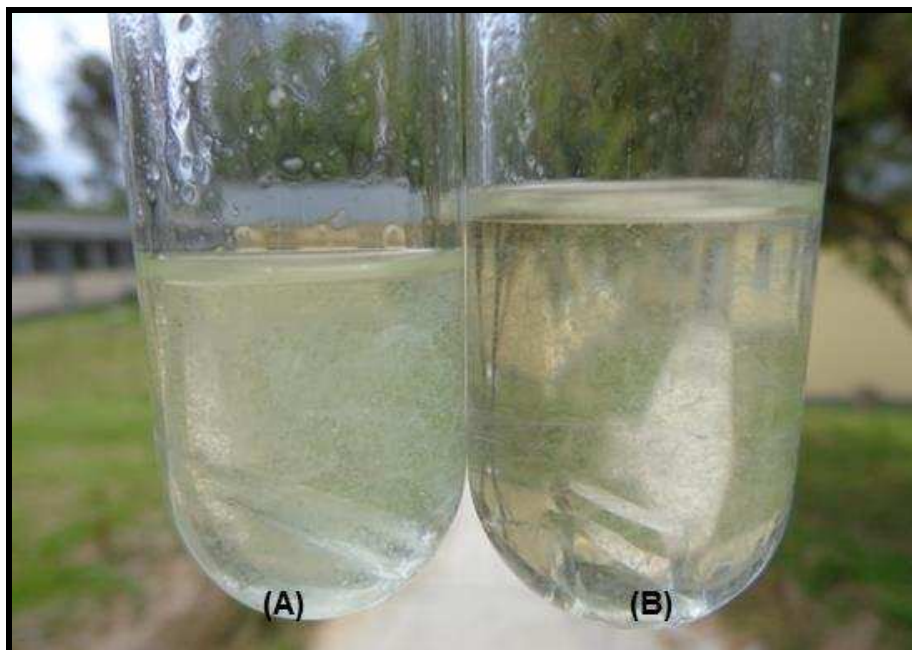


Figura 24 - (A) Amostra teste 4, (B) Amostra teste 5 a temperatura do bloco digestor de 200 °C.

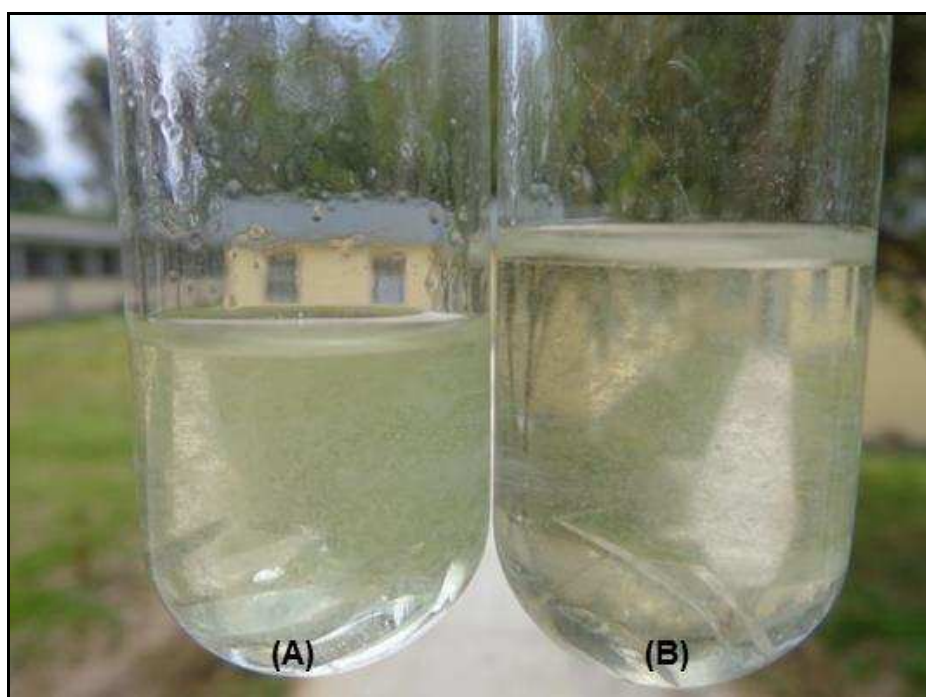


Figura 25 - (A) Amostra teste 4, (B) Amostra teste 5 a temperatura do bloco digestor de 220 °C.

Para este estudo também fez-se uma titulação a fim de descobrir a quantidade de ácido remanescente nas amostras em relação a temperatura e ao tempo gasto na decomposição. Utilizou-se uma solução padronizada de

NaOH 0,1 mol L⁻¹ como titulante e uma solução vermelho de fenol como indicador.

O que se observou através dos dados apresentados na Figura 26 é que não houve grandes perdas de ácido em nenhuma temperatura e tempo, o que mostra a eficiência do sistema.

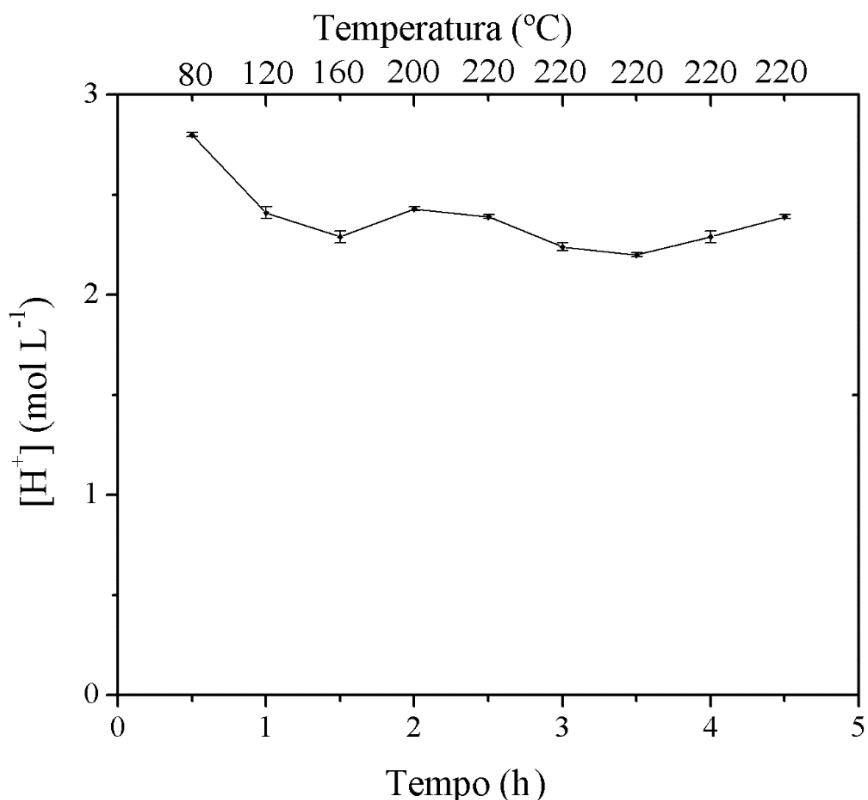


Figura 26 - Efeito da temperatura e tempo nas soluções resultantes das mineralizações.

Sendo assim, o preparo de amostra utilizado no presente trabalho foi o de uma proporção 1:1 entre a amostra de suco e o ácido, com a temperatura de aquecimento do bloco digestor de 200 °C, já que esta temperatura se mostrou eficiente e não houve erupções que resultassem em perdas das soluções.

5.3 Otimização do programa de temperatura GF AAS

A fim de avaliar o melhor programa de aquecimento adotado para a determinação de Pb em amostras de suco, otimizações para temperatura de

pirólise e atomização foram realizadas com a adição de uma quantidade conhecida de analito ($30 \mu\text{g L}^{-1}$), em meio aquoso e na presença da amostra preparada a partir da decomposição ácida em um sistema de refluxo. Além disto, verificou se o modificador químico universal Pd/Mg estava em concordância com o meio aquoso e meio da amostra.

5.3.1 Otimização do programa de temperatura para Pb

O estudo realizado para determinação de Pb está apresentado na Figura 27, onde é possível avaliar o comportamento do sinal analítico em meio aquoso e em meio de amostra com adição dos modificadores químicos ($5 \mu\text{g}$ de Pd + $3 \mu\text{g}$ de Mg).

Foi realizado o estudo de pirólise na faixa de 400 a 1300 °C, para o meio da amostra e o meio aquoso, a fim de verificar a similaridade das intensidades dos sinais analíticos. O mesmo estudo foi feito para a atomização onde a variação da temperatura foi de 1200 a 2100 °C, ambos aumentados a cada 100 °C.

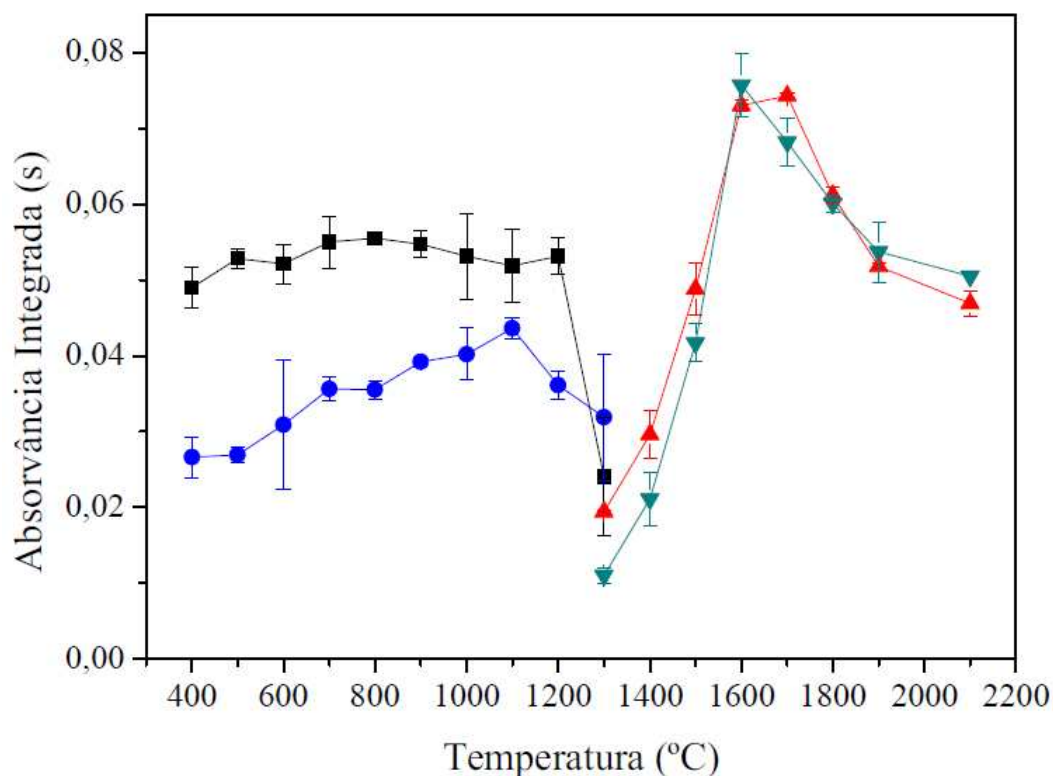


Figura 27 – Curva de pirólise e atomização para Pb utilizando o modificador químico universal Pd/Mg obtidos por GF AAS. Pirólise meio amostra (-■-), Atomização meio amostra (-▲-), Pirólise meio aquoso (-●-), Atomização meio aquoso (-▼-).

Dessa forma, fixou-se a temperatura de 1100 °C para pirólise e 1600 °C para atomização onde houve uma similaridade entre a intensidade do sinal analítico do meio da amostra e em meio aquoso para as determinações de Pb, mostrando que com esse modificador o comportamento do analito ocorre da mesma forma para os diferentes meios das soluções.

De acordo com as temperaturas de pirólise e atomização descritas acima a Tabela 4 apresenta o programa completo de temperatura e tempo utilizado para as determinações de Pb nas amostras de sucos por GF AAS.

Tabela 4. Programa de tempo e temperatura utilizados na determinação de Pb nas amostras de sucos por GF AAS.

Etapas	Temperatura (°C)	Rampa (s)	Permanência (s)	Vazão de Gás (mL min⁻¹)
Secagem	110	5	30	250
Secagem	130	10	30	250
Pirólise	1100	15	20	250
Atomização	1600	0	5	0
Limpeza	2450	1	3	250

5.4 Parâmetros de Mérito

5.4.1 Parâmetros de mérito obtidos para o Cu, Cr, K, Mg, Na e Zn por F AAS e F AES

Os parâmetros de mérito obtidos para as determinações dos analitos por F AAS e F AES estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. Parâmetros de mérito obtidos para análise das amostras de suco por F AAS e F AES após digestão em copo aberto com sistema de refluxo.

Analito	Faixa Linear (mg L⁻¹)	<i>a</i> (L mg⁻¹)	R²	LD (mg L⁻¹)	LQ (mg L⁻¹)
Cu	1 – 4	0,095	0,999	0,028	0,093
Mg	0,1 - 0,5	0,926	0,999	0,008	0,025
Na	0,5 – 2	8565,012	0,990	0,026	0,086
K	0,5 – 2	10215,312	0,997	0,792	2,612
Cr	1 – 4	0,013	0,998	0,243	0,802
Zn	0,5 – 3	0,312	0,992	0,056	0,185

a: coeficiente de correlação angular da curva; LD: limite de detecção; LQ: limite de quantificação; R²: coeficiente de correlação linear.

Conforme visualizado na Tabela 5 é possível observar que foi obtida boa linearidade para todos os analitos investigados ($R^2 > 0,99$).

5.4.2 Parâmetros de mérito obtido para o Pb por GF AAS

Os parâmetros de mérito para a determinação do Pb por GF AAS estão apresentados na Tabela 6, na qual é possível observar que foi obtida uma boa linearidade ($R^2 > 0,99$).

Tabela 6. Parâmetros de mérito obtidos para o Pb por GF AAS após digestão das amostras de sucos em copo aberto com sistema de refluxo.

Analito	Faixa Linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	a ($\text{L } \mu\text{g}^{-1}$)	R^2	LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Pb	10 – 60	0,0005	0,999	0,992	3,142

a : coeficiente de correlação angular da curva; LD: limite de detecção; LQ: limite de quantificação; R^2 : coeficiente de correlação linear.

5.5 Resultados da determinação de Cu, Cr, K, Mg, Na e Zn por F AAS e F AES em amostras de suco

Sabe-se que é de extrema importância o monitoramento de metais em alimentos a fim de preservar a saúde do consumidor, dessa forma, para se obter os resultados apresentados nas Tabelas 7 a 12 foi empregado o preparo de amostra citado anteriormente para as amostras de suco industrializados.

Conforme apresentado, as amostras de sucos foram primeiramente analisadas para verificar a concentração presente dos analitos em questão. Para avaliar a exatidão, diferentes adições de uma concentração de cada analito foi adicionado e os resultados obtidos de recuperação também encontram-se nas Tabelas 7 a 12.

Tabela 7. Determinação de Cu por F AAS para as amostras de sucos e suas recuperações. (n=3)

Suco	Sem adição	Adição 1,3 (mg L⁻¹)	Recuperação (%)	Adição 2,6 (mg L⁻¹)	Recuperação (%)	Adição 5,3 (mg L⁻¹)	Recuperação (%)
Morango							
$\bar{x}^a \pm SD^b$ (RSD ^c)	< LD ^d	1,39 $\pm$ 0,01 (0,7)	104,2	2,83 $\pm$ 0,13 (4,6)	106,2	5,54 $\pm$ 0,04 (0,7)	103,9
Pêssego							
$\bar{x}^a \pm SD^b$ (RSD ^c)	0,16 $\pm$ 0,01 (6,3)	1,56 $\pm$ 0,03 (1,9)	108,7	2,93 $\pm$ 0,03 (1,0)	105,6	5,54 $\pm$ 0,02 (0,4)	101,7
Manga							
$\bar{x}^a \pm SD^b$ (RSD ^c)	0,23 $\pm$ 0,01 (4,4)	1,63 $\pm$ 0,01 (0,6)	105,4	2,94 $\pm$ 0,04 (1,4)	101,9	6,02 $\pm$ 0,04 (0,6)	108,6
Laranja							
$\bar{x}^a \pm SD^b$ (RSD ^c)	0,16 $\pm$ 0,01 (6,2)	1,67 $\pm$ 0,01 (0,6)	113,4	3,23 $\pm$ 0,02 (0,6)	114,6	6,13 $\pm$ 0,08 (1,3)	111,8

^a. média (mg L⁻¹); ^b. desvio-padrão (mg L⁻¹); ^c. desvio-padrão relativo (%); < LD^d. Valores abaixo do limite de detecção.

Tabela 8. Determinação de Cr por F AAS para as amostras de sucos e suas recuperações. (n=3)							
Suco	Sem adição	Adição 4,0 (mg L ⁻¹)	Recuperação (%)	Adição 9,3 (mg L ⁻¹)	Recuperação (%)	Adição 13,3 (mg L ⁻¹)	Recuperação (%)
Morango							
X ^a ± SD ^b (RSD ^c)	< LD ^d	4,07 ± 0,04 (0,9)	101,7	10,22 ± 0,63 (6,2)	109,5	14,37 ± 0,64 (4,5)	107,8
Pêssego							
X ^a ± SD ^b (RSD ^c)	< LD ^d	4,07 ± 0,05 (1,2)	101,7	9,89 ± 0,04 (0,4)	105,9	14,53 ± 0,70 (4,8)	109,0
Manga							
X ^a ± SD ^b (RSD ^c)	< LD ^d	4,01 ± 0,04 (1,0)	100,1	9,23 ± 0,14 (1,5)	99,0	12,75 ± 1,68 (13,2)	95,6
Laranja							
X ^a ± SD ^b (RSD ^c)	< LD ^d	4,04 ± 0,07 (1,7)	100,9	9,34 ± 0,02 (0,2)	100,1	12,01 ± 0,74 (6,2)	90,1

^a. média (mg L⁻¹); ^b. desvio-padrão (mg L⁻¹); ^c. desvio-padrão relativo (%); < LD^d. Valores abaixo do limite de detecção.

Tabela 9. Determinação de K por F AES para as amostras de sucos e suas recuperações. (n=3)

Suco	Sem adição	Adição 66,6 (mg L⁻¹)	Recuperação (%)	Adição 133,3 (mg L⁻¹)	Recuperação (%)	Adição 200,0 (mg L⁻¹)	Recuperação (%)
Morango	231,87 ± 4,90	293,76 ± 5,20	92,8	375,89 ± 9,05	108,0	452,0 ± 1,51	110,1
X ^a ± SD ^b (RSD ^c)	(2,1)	(1,8)		(2,4)		(0,3)	
Pêssego	777,0 ± 9,90	837,0 ± 14,50	90,0	898,33 ± 33,47	91,0	950,0 ± 66,0	86,5
X ^a ± SD ^b (RSD ^c)	(1,3)	(1,7)		(3,7)		(6,9)	
Manga	458,93 ± 0,75	522,26 ± 30,0	95	602,80 ± 14,71	107,9	660,53 ± 35,83	100,8
X ^a ± SD ^b (RSD ^c)	(0,2)	(5,7)		(2,4)		(5,4)	
Laranja	1390,33 ± 20,27	1448,40 ± 35,64	87,1	1509,33 ± 30,17	89,2	1626,0 ± 17,92	117,8
X ^a ± SD ^b (RSD ^c)	(1,5)	(2,4)		(2,0)		(1,1)	

a.: média (mg L⁻¹); b.: desvio-padrão (mg L⁻¹); c.: desvio-padrão relativo (%).

Tabela 10. Determinação de Mg por F AAS para as amostras de sucos e suas recuperações. (n=3)

Suco	Sem adição	Adição 26,6 (mg L ⁻¹)	Recuperação (%)	Adição 53,3 (mg L ⁻¹)	Recuperação (%)	Adição 80,0 (mg L ⁻¹)	Recuperação (%)
Morango	8,55 ± 0,16	38,20 ± 0,62	111,2	66,53 ± 0,19	108,7	98,03 ± 1,36	111,8
X ^a ± SD ^b (RSD ^c)	(1,9)	(1,6)		(0,3)		(1,4)	
Pêssego	34,72 ± 2,72	63,68 ± 0,15	108,6	89,60 ± 4,90	102,9	114,61 ± 1,58	99,9
X ^a ± SD ^b (RSD ^c)	(7,8)	(0,2)		(5,5)		(1,4)	
Manga	35,68 ± 0,45	62,64 ± 2,38	101,1	95,60 ± 0,94	112,4	122,60 ± 0,85	108,6
X ^a ± SD ^b (RSD ^c)	(1,3)	(3,8)		(1,0)		(0,7)	
Laranja	77,55 ± 3,47	105,60 ± 0,36	105	138,67 ± 0,15	114,6	163,47 ± 9,43	
X ^a ± SD ^b (RSD ^c)	(4,5)	(0,3)		(0,1)		(5,7)	107,4

^a: média (mg L⁻¹); ^b: desvio-padrão (mg L⁻¹); ^c: desvio-padrão relativo (%).

Tabela 11. Determinação de Na por F AES para as amostras de sucos e suas recuperações. (n=3)

Suco	Sem adição	Adição 13,3 (mg L ⁻¹)	Recuperação (%)	Adição 26,6 (mg L ⁻¹)	Recuperação (%)	Adição 40,0 (mg L ⁻¹)	Recuperação (%)
Morango	9,88 ± 0,24	24,56 ± 0,18	110,1	35,20 ± 0,32	94,9	45,43 ± 1,49	88,9
x ^a ± SD ^b (RSD ^c)	(2,4)	(0,7)		(0,9)		(3,3)	
Pêssego	58,80 ± 4,98	71,96 ± 4,19	98,7	82,58 ± 0,04	89,2	94,05 ± 0,79	88,1
x ^a ± SD ^b (RSD ^c)	(8,5)	(5,8)		(0,05)		(0,8)	
Manga	7,15 ± 0,09	22,91 ± 0,44	118,2	36,73 ± 0,15	110,9	45,39 ± 0,04	95,6
x ^a ± SD ^b (RSD ^c)	(1,3)	(1,9)		(0,4)		(0,1)	
Laranja	25,43 ± 0,53	38,18 ± 2,01	95,6	54,12 ± 2,76	107,6	66,55 ± 0,40	103,0
x ^a ± SD ^b (RSD ^c)	(2,1)	(5,3)		(5,1)		(0,6)	

a.: média (mg L⁻¹); b.: desvio-padrão (mg L⁻¹); c.: desvio-padrão relativo (%).

Tabela 12. Determinação de Zn por F AAS para as amostras de sucos e suas recuperações. (n=3)

Suco	Sem adição	Adição 1,3 (mg L ⁻¹)	Recuperação (%)	Adição 4,0 (mg L ⁻¹)	Recuperação (%)	Adição 8,0 (mg L ⁻¹)	Recuperação (%)
Morango							
$\bar{x}^a \pm \text{SD}^b$ (RSD ^c)	< LD ^d	1,55 ± 0,03 (1,9)	116,2	4,49 ± 0,04 (0,9)	112,3	7,90 ± 0,10 (1,3)	98,8
Pêssego							
$\bar{x}^a \pm \text{SD}^b$ (RSD ^c)	< LD ^d	1,55 ± 0,07 (4,5)	116,3	4,54 ± 0,02 (0,4)	113,6	7,68 ± 0,05 (0,7)	96,0
Manga							
$\bar{x}^a \pm \text{SD}^b$ (RSD ^c)	< LD ^d	1,48 ± 0,04 (2,7)	111,1	4,25 ± 0,28 (6,6)	106,3	7,98 ± 0,07 (0,9)	99,8
Laranja							
$\bar{x}^a \pm \text{SD}^b$ (RSD ^c)	< LD ^d	1,53 ± 0,17 (11,1)	115,0	4,48 ± 0,06 (1,3)	111,9	7,65 ± 0,05 (0,7)	95,6

^a: média (mg L⁻¹); ^b: desvio-padrão (mg L⁻¹); ^c: desvio-padrão relativo (%); < LD^d: Valores abaixo do limite de detecção.

Conforme os resultados obtidos nas Tabelas 7 a 12, é possível notar que foram obtidas boas recuperações para as concentrações adicionadas, nas três diferentes adições nas amostras de sucos as quais variaram de 86 a 118%.

Com relação a precisão dos resultados, em média o RSD obtido para o método proposto foi inferior a 5,0%, garantindo uma reprodutibilidade para todos os analitos estudados, já que os valores não variaram entre as replicatas.

Para K, as concentrações encontradas em todas as amostras foram relativamente elevadas (aproximadamente entre 230 a 1.400 mg L⁻¹). O consumo ideal para adultos é de 3.510 mg diários, exceto para atletas que realizam exercícios físicos pesados e rotineiros, necessitando de concentrações diárias mais elevadas pela perda excessiva desse mineral. Para o Mg, foram encontradas concentrações em uma faixa de aproximadamente 8 a 78 mg L⁻¹ em todas as amostras analisadas, tendo como recomendação uma ingestão diária de 260 mg. Já para o Na, a faixa de concentração encontrada aproximadamente nas amostras foi de 7 a 50 mg L⁻¹ para adultos, a ingestão diária recomendada é de no máximo 2.000 mg (MONTEIRO e VANUCCHI, 2010; WHO, 2012a e WHO, 2012b).

Concentrações relativamente baixas foram encontradas para Cu, as quais ficaram em uma faixa aproximada de 0,16 a 0,23 mg L⁻¹ a ingestão diária recomendada para esse elemento está na faixa de 0,033 a 0,05 mg kg⁻¹ de peso corporal. Os valores das concentrações encontradas para Cr e Zn (para todos os sucos) e Cu (para o suco de morango) para as amostras sem adição ficaram abaixo do LD, ou seja, não pode ser detectado e/ou quantificado com uma apropriada certeza. A ingestão diária, em relação a massa corporal, recomendada para o Zn compreende uma faixa de 10 a 15 mg kg⁻¹ e para o Cr a faixa é de 5 a 200 µg (SAIDELLES et al., 2010; AZEVEDO e CHASIN, 2003; WHO, 1966 e VENEZULA, 2001).

Dessa forma, para todas as amostras de sucos e os analitos estudados, os resultados ficaram de acordo com o limite máximo de ingestão diária recomendada para cada elemento.

5.6 Resultados da determinação de Pb por GF AAS em amostras de suco

Além dos elementos estudados anteriormente é de extrema importância o controle e determinação de elementos a nível traço que podem se tornar tóxicos dependendo de sua concentração na amostra. Dessa forma, fez-se um estudo de determinação de Pb nos sucos industrializados e os resultados encontram-se na Tabela 13.

Para fins de validação do procedimento empregado, testes de adição e recuperação de analito também foram realizados para este elemento, da mesma forma que os elementos estudados anteriormente, foram feitas três diferentes adições de concentração de analito.

Conforme os resultados demonstrados na Tabela 13, é possível notar que foram obtidas boas taxas de recuperações para as concentrações adicionadas nas amostras de sucos. As quais variaram de 80 a 119%.

Com relação a precisão dos resultados, em média o RSD obtido para o método proposto para o analito foi inferior a 5,0% para todas as amostras.

Pode-se observar que os valores das concentrações encontradas para as amostras sem adição ficaram abaixo do LD para as amostras de sucos de morango, pêssego e laranja.

Para o suco de manga valores altos de Pb foram encontrados na amostra, dessa forma, evidenciando a importância de determinação deste elemento e futuro controle nos sucos antes de chegar a população. Contudo a legislação nacional apresenta limite máximo desse elemento apenas para sucos de frutas cítricas, a qual trata-se $0,3 \text{ mg kg}^{-1}$ (BRASIL, 1998). Já a comissão de regulação da União Europeia estabelece limites máximos $0,05 \text{ mg kg}^{-1}$ deste metal para sucos de frutas em geral (UNIÃO EUROPEIA, 2006).

Sendo assim, todas as amostras analisadas ficaram abaixo desse limite não apresentando riscos a saúde humana. No entanto, vale salientar a importância de estender o controle dos sucos para outras marcas presentes no mercado além de outros tipos de embalagens.

Tabela 13. Determinação de Pb nas amostras de sucos por GF AAS e suas recuperações. (n=3)							
Suco	Sem adição	Adição 26,7 (µg L ⁻¹)	Recuperação (%)	Adição 40,0 (µg L ⁻¹)	Recuperação (%)	Adição 53,3 (µg L ⁻¹)	Recuperação (%)
Morango							
x ^a ± SD ^b (RSD ^c)	< LD ^d	30,43 ± 0,68 (2,2)	114,1	32,61 ± 0,83 (2,5)	81,5	52,23 ± 3,11 (5,9)	97,9
Pêssego							
x ^a ± SD ^b (RSD ^c)	< LD ^d	29,16 ± 0,28 (1,0)	108,2	41,73 ± 0,83 (2,0)	104,6	53,32 ± 0,40 (0,8)	99,4
Manga							
x ^a ± SD ^b (RSD ^c)	17,82 ± 0,91 (5,1)	39,33 ± 0,87 (2,2)	80,7	64,16 ± 0,60 (0,9)	115,9	75,96 ± 0,62 (0,8)	109,0
Laranja							
x ^a ± SD ^b (RSD ^c)	< LD ^d	31,73 ± 0,08 (0,3)	119,0	44,61 ± 0,18 (0,4)	111,5	59,25 ± 0,21 (0,36)	111,1

^a: média (µg L⁻¹); ^b: desvio-padrão (µg L⁻¹); ^c: desvio-padrão relativo (%); < LD^d: Valores abaixo do limite de detecção.

6. Considerações Finais

O método proposto utilizando o sistema de refluxo adaptado ao tradicionais tubos de digestão convencional mostrou-se eficiente na mineralização de grandes volumes de amostras de suco, sem risco de perdas das amostras, reagentes e dos analitos por volatilização. Bons resultados de recuperação foram encontrados para os analitos estudados, inclusive para Pb, que se trata de um elemento volátil e em baixa concentração poderia ser de difícil determinação, apresentando excelentes recuperações para os testes de adição do analito.

Além disto, é importante salientar que com estes estudos as análises dos sucos líquidos são feitas sem a necessidade de uma etapa de secagem ou utilização de pouca quantidade das amostras, obtendo assim melhores LDs do método.

Dessa forma, a metodologia proposta irá contribuir de forma significativa no controle de qualidade dos sucos, garantindo segurança na sua aplicação, devido ao baixo custo de instrumentação, podendo ser aplicado a diversos laboratórios de análise de rotina, principalmente no momento em que o Brasil vive com a Copa do Mundo de Futebol e da futura Olimpíadas em 2016, na qual pretende receber o mundo com suas frutas com diferencial de sabor, qualidade, segurança alimentar e produção sustentável.

CAPÍTULO 2

***Desenvolvimento e Validação de Metodologias
para Análise de Erva-mate (Ilex Paraguariensis)***

1. Introdução

A erva-mate (*Ilex paraguariensis*) teve sua cultura incentivada no Brasil pelos jesuítas, entre os séculos XVII e XVIII. Era popularmente conhecida sob várias denominações, como mate, chá-mate, chá-do-paraguai, chá-dos-jesuítas (FILIP et al., 1998; POMILIO et al., 2002). O consumo da erva-mate destaca-se na forma de chimarrão nas regiões ao sul do Brasil e também nos países Uruguai, Paraguai e Argentina (ESMELINDRO et al., 2002; CARNEIRO et al., 2006; FILIP et al., 2000).

O Sindicato da Indústria do Mate no Estado do Rio Grande do Sul (Sindimate - RS) apresenta dados estatísticos que apontam que no ano de 2012 mais de 82 mil hectares de erva-mate foram plantadas, o que gerou uma produção de mais de 513 mil toneladas. Dados mais recentes, do ano de 2013, mostram que houve um crescimento na exportação em aproximadamente 26%. Além disso, o estado que mais exporta é o Rio Grande do Sul, com aproximadamente 74% do valor de 2013, uma vez que esse estado também se destaca como o maior produtor de erva-mate do Brasil (SINDIMATE, 2014).

Devido ao alto consumo da erva-mate no país, fica evidente que é necessário o controle de qualidade, principalmente para avaliar a composição química essencial nos produtos que chegam até o mercado. Isso se torna relevante devido a erva-mate ser composta de folhas e ramos finos que são retirados regularmente, o que leva aos produtores, na maioria das vezes, necessitar repor nutrientes a fim de garantir a qualidade e a constante produtividade (HEINRICHS e MALAVOLTA, 2001).

Para a determinação de elementos metálicos em erva-mate, é necessário aplicar um método adequado para o preparo das amostras, a fim de obter resultados sensíveis, além de exatos e precisos (MITRA, 2003; OLIVEIRA, 2003). Um método muito empregado para o preparo de amostras orgânicas é a decomposição ácida, que envolve geralmente o emprego de energia e ácidos minerais oxidantes, o qual pode ser realizado tanto em sistema de copo aberto, como fechado. Considerando o sistema aberto, inconvenientes como perdas de analitos e/ou reagentes por volatilização podem ser registrados devido as altas temperaturas empregadas no processo

de decomposição (OLIVEIRA, 2003). Além disso, a literatura mostra alguns trabalhos que utilizam ácido perclórico (HClO_4) para a decomposição de amostras de erva-mate (CARNEIRO, 2006; TATSCH et al., 2010; WRÓBEL et al., 2010 e HEINRICHS, 2001), o que exige manipulações cuidadosas, uma vez que este ácido apresenta característica de ser um forte oxidante e explosivo (KRUG, 2010). Isso vem fazendo com que métodos alternativos sejam desenvolvidos para evitar o uso desse ácido, principalmente no Brasil onde sua aquisição é controlada pelo exército.

O sistema fechado se credencia como uma alternativa para contornar os pontos negativos observados no sistema aberto. A decomposição assistida por radiação micro-ondas tem sido amplamente utilizada no tratamento de diversos tipos de amostras (KARA, 2009; SAIDELLES et al., 2010 e MALIK et al., 2013). Além desses métodos convencionais, os quais já estão bem descritos e com muitas aplicações de acordo com a literatura, o uso de sistemas de refluxo para a decomposição ácida vem sendo recentemente aplicado e obtendo-se resultados satisfatórios na determinação de diversos elementos nos mais variados tipos de amostras (FERREIRA et al., 2013; PINHEIRO et al., 2014; ORESTE et al., 2013a e ORESTE et al., 2013b). Esse sistema de refluxo mostra-se eficiente, devido a condensação dos vapores gerados ser no interior do frasco de decomposição, minimizando assim perdas de analito e/ou ácido por volatilização em elevadas temperaturas do bloco digestor (ORESTE et al., 2013a e ORESTE et al., 2013b).

Para a determinação de metais em diferentes tipos de amostras, a literatura reporta diversas técnicas analíticas baseadas na espectrometria atômica (KORN et al., 2008). Contudo, técnicas baseadas em plasma indutivamente acoplado se destacam por serem multi-elementares e vem sendo muito empregada para a determinação de metais em erva-mate (HEINRICHS e MALAVOLTA, 2001; NOOKABKAEW, et al., 2006).

2. Objetivos

2.1 Objetivos gerais

O presente trabalho, reportado neste segundo capítulo, tem por objetivo geral, realizar um estudo comparativo entre dois diferentes métodos para o preparo das amostras de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) para a determinação de Al, Ca, Fe, Mg, Mn, Na e Zn pela técnica de ICP OES.

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar o método de decomposição ácida utilizando o HNO_3 em um sistema de refluxo na mineralização das amostras;
- Avaliar o método de decomposição ácida utilizando um sistema fechado assistido por radiação micro-ondas;
- Comparar os resultados obtidos para os dois diferentes métodos de preparo de amostras.

3. Revisão da Literatura

3.1 Erva-mate (*Ilex paraguariensis*)

Entre os séculos XVII e XVIII a erva-mate (*Ilex paraguariensis*) era popularmente conhecida sob várias denominações pelos índios, como mate, chá-mate, chá-do-paraguai, chá-dos-jesuítas que tiveram sua cultura incentivada pelos jesuítas (FILIP et al., 1998; POMILIO et al., 2002).

Os índios guaranis, que constituíam de tribo em território banhado pelos Rios Paraná, Uruguai e Paraguai consumiam erva-mate em sua alimentação antes da chegada dos colonizadores europeus. Além deles, outras tribos que não possuíam a planta em suas terras realizavam comércio de troca para obter a bebida. A erva-mate que está apresentada na Figura 28 tem um grande valor comercial nos estados do sul do Brasil a qual trata-se de uma planta cujas folhas e ramos finos são utilizados para comercialização. Dos ramos, são preparadas bebidas tônicas e estimulantes feitas por infusão a quente, o “chimarrão”, ou a frio, o “tererê”; e das folhas tostadas, prepara-se o “chá mate”. O chimarrão é uma bebida bastante consumida no sul do país (Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná) e também em parte da Bolívia, Chile, Uruguai, Paraguai e Argentina (ESMELINDRO et al., 2002, CARNEIRO et al., 2006 e FILIP et al., 2000).



Figura 28 – Erveira e folha de erva-mate (*Ilex paraguariensis*, St. Hill.). Adaptado de IBF (2014).

A erva-mate possui características já bem definidas, como por exemplo, o seu sabor amargo. Dentre os compostos de maior interesse na composição físico-química da erva-mate destaca-se a cafeína, já que é, reconhecidamente, o princípio mais importante e um dos compostos que enobrecer o produto por suas características farmacológicas e terapêuticas, também é constituída de vitaminas, sais minerais, proteínas, glicídios e lipídios (ESMELINDRO et al., 2002). Além disso, a erva-mate possui outras propriedades terapêuticas como hepatoprotetora, colerético, hipocolesterêmico, antioxidante, antirreumático, diurético, glicogenolítica e lipolítica (FILIP et. al., 2001). Atualmente se buscam mais estudos quanto aos benefícios terapêuticos e efeitos colaterais relacionados à presença de metais. Esses metais podem fazer parte da composição mineral da planta ou por contaminação dos solos e águas nas áreas de cultivo da *Ilex paraguariensis*, pois agroquímicos e fertilizantes são amplamente utilizados para que se tenha uma maior produção e um produto de melhor qualidade, porém essa adição pode aumentar a concentração de alguns elementos tornando-os potencialmente tóxicos (ERNST, 2002).

3.1.1 Produção

A produção de mudas de erva-mate deve seguir alguns passos, segundo as recomendações técnicas florestais da EMATER. É necessário selecionar as melhores erveiras em produção ou então aquelas que estejam há mais de seis anos sem poda, dessa forma deve-se conhecer o histórico de produtividade das erveiras como: cortes, idade e problemas ocorridos. As árvores adultas com idade entre 15 e 30 anos são ideais, pois erveiras muito velhas darão sementes de baixa germinação, além disso, devem ser escolhidas árvores com poucos frutos, pois árvores com muitos frutos não podem ser aproveitadas (EMATER, 1991).

O solo ideal para plantação de erva-mate é o solo fértil e friável, que deve ser rico em matéria orgânica. A melhor época de plantio é na estação do inverno quando a planta encontra-se em repouso vegetativo, o período menos aconselhado é a estação do verão. As mudas de erveiras devem ser protegidas

contra a ação dos raios solares nos primeiros 6 meses de campo, além disso são sensíveis também ao frio, geadas e nevascas (EMATER, 1991).

O processamento da erva-mate é iniciado com a etapa de colheita, seguida do processo agroindustrial que consiste das etapas de cancheamento e beneficiamento. Para o processamento, inicialmente, as folhas e os ramos da erva-mate, cortados das árvores, são transportados às indústrias em caminhões abertos (SCHMALKO e ALZAMORA, 2001).

3.1.1.1 Ciclo do cancheamento

Já nas indústrias, as folhas e os ramos da erva-mate seguem para o sapeco, que é um processo de tratamento térmico em que se aplica uma alta temperatura, sendo realizado para impedir a ação de enzimas como a oxidase e a polifenoloxidase. Essas enzimas são capazes de escurecer as folhas verdes, tornando indispensável a realização do sapeco logo após a colheita, no prazo de até 24 h, para evitar a fermentação, que é favorecida pela umidade e temperatura, podendo causar a perda da erva-mate colhida. Nessa operação o material é levado ao fogo e consiste na passagem rápida dos ramos com as folhas sobre as chamas do sapecador (cilindro metálico, perfurado e inclinado), assim com esse processo é possível retirar sua umidade superficial. A temperatura média da erva-mate na entrada do sapecador é de 400 °C e, na saída é de 65 °C e o tempo de permanência são em média de 8 min (ESMELINDRO et al., 2002).

O processo subsequente é a secagem que faz a desidratação da massa foliar e pode ser realizada em cilindros rotativos ou esteiras rolantes. Para a secagem, o tempo de permanência e a temperatura média da erva dependem das características operacionais de cada secador (ESMELINDRO et al., 2002).

O cancheamento é a etapa que consiste na trituração da erva-mate, após o processo de secagem, sendo realizada em trituradores ou cancheadores e tem o objetivo de reduzir o tamanho das folhas e dos ramos secos, que em seguida são submetidos ao soque, através de uma rosca sem

fim ou, mecanicamente, por meio de uma bateria de pilões, até atingir a granulometria desejada (EFING, 2008).

3.1.1.2 Ciclo do beneficiamento

Nessa etapa é retirada a umidade por secagem feita com ar quente e seco, posteriormente o material é conduzido à limpeza, por meio de peneiras, ventiladores, filtros e coletores de pó, os quais promovem a separação da erva cancheada dos pecíolos. Em seguida, a erva-mate é peneirada de acordo com o tamanho das partículas separando-se os palitos, as folhas e as impurezas, as quais são descartadas. O material é selecionado conforme a granulometria desejada pela empresa produtora, para compor o produto a ser comercializado (EFING, 2008).

Finalizada a etapa de beneficiamento, a erva-mate é conduzida ao armazenamento, que significa colocar o material cancheado e embalado em sacos em depósito por um período máximo de 6 meses para não perder a coloração verde característica da erva-mate (MEDRADO e MOSELE, 2004).

3.1.2 Exportação

Dados do IBGE do ano de 2010 relatam uma boa produtividade, oriunda de boas condições climáticas, obtida em alguns municípios do estado com maior produção de erva-mate, o Paraná, aliado a uma maior demanda e a bons preços de comercialização que foram responsáveis pelo aumento de 4,3% na produção. A produção total obtida nos ervais nativos foi de 227.462 toneladas no ano de 2010, sendo 166.682 toneladas registradas no Paraná, 36.274 toneladas em Santa Catarina, 24.231 toneladas no Rio Grande do Sul e 275 toneladas em Mato Grosso do Sul. Dos 20 municípios com maior produção, 15 são paranaenses, três estão em Santa Catarina e dois são gaúchos, juntos são responsáveis por 65,7% da produção nacional (IBGE, 2010a).

Além disso, no ano de 2010 a quantidade de erva-mate produzida em toneladas foi de 425.641 e assim o rendimento médio foi de 6.344 kg/ha, gerando um valor de produção de R\$ 159.838,00 (IBGE, 2010b).

Em relação ao mercado, o Sindicato da Indústria do Mate no Estado do Rio Grande do Sul (Sindimate-RS) apresenta dados estatísticos que apontam que no ano de 2012 mais de 82 mil hectares foram plantadas, o que gerou uma produção de mais de 513 mil toneladas de erva-mate. Ainda nesse mesmo ano, mais de 62 milhões de dólares foram gerados pela exportação. Contudo, já estão disponíveis dados mais atuais (do ano de 2013) que mostra que houve um crescimento na exportação em aproximadamente 26%. E o estado que mais contribuiu com os dados de exportação é o Rio Grande do Sul, com aproximadamente 74% do valor de 2013, uma vez que esse estado passou a se destacar como o maior produtor de erva-mate do Brasil comparado aos dados do ano de 2010 (SINDIMATE, 2014).

3.2 Metais

Os metais Magnésio (Mg), Sódio (Na) e Zinco (Zn) já foram discutidos no Capítulo I desta Dissertação, abaixo segue as principais informações para os outros elementos que serão abordados neste Capítulo.

3.2.1 Alumínio (Al)

O Al é um dos elementos mais abundantes na crosta terrestre, o qual apresenta características como baixo peso específico, resistência à corrosão, alta condutibilidade térmica e elétrica, além de infinitas reciclagens com uma ampla variedade de utilização, dessa forma é um dos metais mais consumido no mundo (ABAL, 2007 e ATSDR, 2014).

Este elemento é abundante na crosta terrestre na forma de óxido de alumínio (Al_2O_3) com inúmeras reservas minerais. A bauxita é o minério industrial mais importante com jazidas localizadas em regiões tropicais, inclusive no Brasil, o teor de óxido de alumínio presente nesse mineral é entre 35 a 45%. Quando o alumínio líquido é exposto à atmosfera, forma uma fina

camada de óxido, que protege o metal de oxidações posteriores, dessa forma, essa característica de autoproteção dá a ele uma elevada resistência à corrosão (ABAL, 2007).

O fato de o alumínio possuir características “não tóxicas” permite sua utilização em utensílios domésticos, dessa forma é muito utilizado em equipamentos na indústria alimentícia, além da indústria de embalagens, de transportes, de eletricidade, na construção civil, nos abrasivos, nos curtumes, nos têxteis e no tratamento de efluentes (MORAES, 2010).

O Al é um dos metais mais utilizados em reciclagem, pois qualquer produto produzido com ele pode ser reciclado infinitas vezes, sem perder suas qualidades no processo de reaproveitamento. Um exemplo comum é a lata de alumínio para bebidas, cuja sucata transforma-se novamente em lata. No entanto, um controle dos níveis deste metal é importante, pois em concentrações elevadas pode descalcificar os ossos, além de se depositar no cérebro, causando a doença de Alzheimer (ATSDR, 2014).

3.2.2 Cálcio (Ca)

O Ca é um metal alcalino terroso, que apresenta coloração branca prateada, relativamente leve, mole, maleável e dúctil. Além disso, é um elemento extremamente importante para a formação de ossos, dentes e tecidos, auxiliando também para o crescimento e manutenção de funções do organismo (SAIDELLES et. al., 2010).

Na natureza este metal não é encontrado em sua forma pura, mas como constituinte de rochas ou minerais como gesso ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), calcita (CaCO_3), calcário e dolomita ($\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$), através dos quais se obtém a cal viva e o cimento. O cálcio também se faz presente em outros minerais como a fluorita (CaF_2), apatita e granito (MORAES, 2010).

Este elemento é essencial para a maioria dos organismos sendo um dos principais nutrientes, principalmente na formação dos ossos, dentes e tecidos, no entanto uma concentração elevada de Ca no ser humano pode causar “pedras” no rim. Os seus principais usos são na fabricação de cal e

cimento, na metalurgia, no tratamento de água, na indústria química, nos fertilizantes, nas ligas, entre outros (MORAES, 2010).

3.2.3 Ferro (Fe)

O Fe é o segundo metal mais abundante na crosta terrestre, depois do alumínio, ele apresenta propriedades magnéticas, é maleável, dúctil e na forma elementar possui coloração prata. Este elemento é encontrado em minerais como: a hematita (Fe_2O_3), magnetita (Fe_3O_4), siderita (FeCO_3), pirita (FeS_2) entre outros (MORAES, 2010).

Este elemento é de origem mineral, podendo estar presente nos alimentos na forma química inorgânica ou orgânica e possui uma taxa reduzida de absorção. O alimento com maior taxa de absorção de Fe são as carnes com cerca de 30% de absorção efetiva, nos vegetais em geral a porcentagem é em torno de 10%, os peixes cerca de 15% e a soja e seus derivados cerca de 20%. A sua principal função é na formação da hemoglobina do sangue e da respiração celular. Contudo a falta deste elemento pode surgir sintomas de fraqueza capilar e anemia, já o excesso pode causar a doença hemocromatose, que trata-se de uma absorção excessiva de Fe através dos alimentos ocasionando um acúmulo nas células e mudanças orgânicas patológicas (MORAES, 2010 e HUANG, 2003).

3.2.4 Manganês (Mn)

O Mn é um metal cinza claro que ocorre somente combinado com outras substâncias, como o oxigênio, enxofre e cloro. Em sua forma inorgânica, o Mn é retirado de rochas e é utilizado na fabricação de ligas metálicas, especialmente aços, pilhas, palitos de fósforo, vidros, fogos de artifício, fertilizante e nas indústrias da química, do couro e têxtil (CETESB, 2014).

Além das rochas este elemento pode ser encontrado naturalmente no solo, água e nos alimentos, sendo assim os seres humanos ficam expostos a ele. A máxima ingestão diária adequada é de 2 a 5 mg de Mn para crianças de até 1 ano de idade e pessoas mais velhas (WHO, 1999). A exposição a

concentrações elevadas pode resultar em efeitos neurológicos e neuropsiquiátricos, como alucinações, instabilidade emocional, fraqueza, distúrbios de comportamento e da fala (CETESB, 2014).

3.3 Preparo da amostra

Como já mencionado no primeiro capítulo dessa dissertação, o preparo da amostra é uma etapa extremamente importante, pois é nela que a amostra é convertida em uma forma adequada para a análise. Além de ser uma das etapas mais críticas da sequência analítica, pois é escolhida a forma com que a matriz será separada totalmente ou parcialmente do analito, de acordo com o método de determinação a ser utilizado (KRUG, 2010).

3.3.1 Decomposição ácida

3.3.1.1 Uso do forno de micro-ondas

Uma alternativa para digestão de amostras, principalmente para elementos voláteis, é a utilização de sistema fechado. A decomposição através do aquecimento por radiação micro-ondas é um exemplo de sistema fechado que vem ganhando destaque, pois o risco de perdas dos analitos por volatilização e de contaminação é mínimo (BURGUERA et al., 2009).

Os primeiros relatos do uso da radiação micro-ondas na decomposição de amostras foi no ano de 1975, sendo esses estudos realizados em frascos abertos e em fornos domésticos. Com os avanços dos instrumentos analíticos, novos sistemas de micro-ondas foram criados a fim de aperfeiçoar a técnica, bem como, garantir maior segurança ao analista, pois é possível obter informações de temperatura e pressão interna aos tubos durante o processo de decomposição (KRUG, 2010).

As micro-ondas são ondas eletromagnéticas portadoras de energia, onde uma vez absorvidas provocam um aumento considerável na temperatura no material absorvente. Isso ocorre, devido a interação da radiação eletromagnética com os íons contidos em solução, assim provocando a

migração iônica e rotação de dipolos. Esse aquecimento tem como característica a absorção direta de energia pelo material, diferente do que ocorre no aquecimento convencional, onde a temperatura da superfície externa do frasco é maior que o ponto de ebulição da solução (chapas de aquecimento, chama, bloco digestor, etc.) (KRUG, 2010 e ARRUDA e SANTELLI, 1997). As Figuras 29 e 30 mostram um esquema de aquecimento convencional e por micro-ondas, respectivamente.

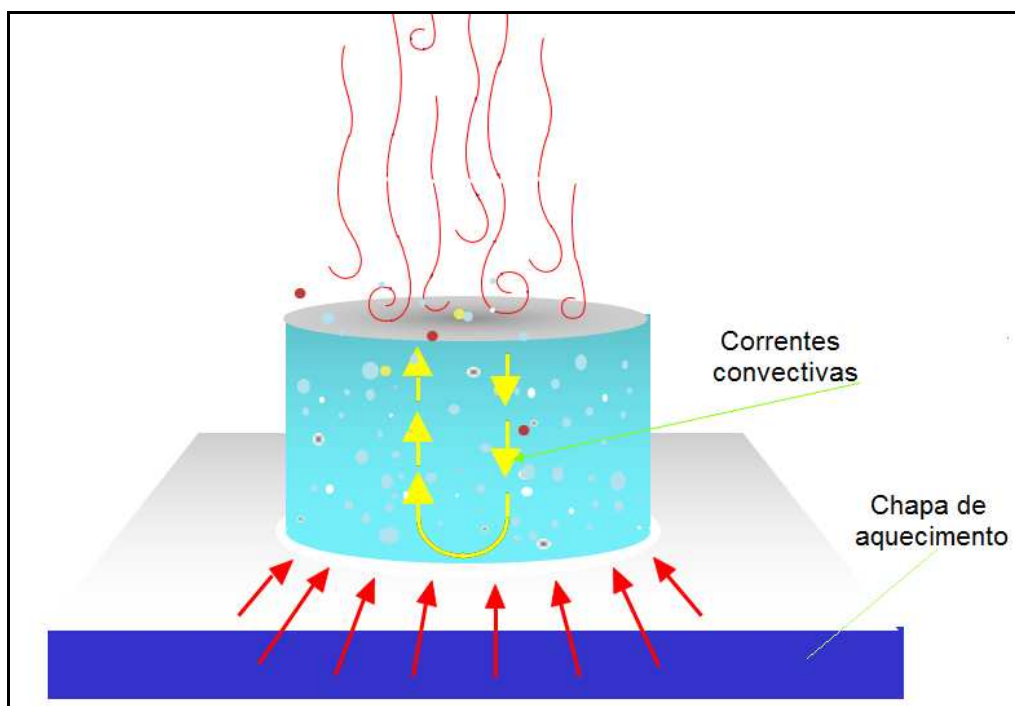


Figura 29 – Chapa com aquecimento por condução. Adaptado de KRUG (2010).

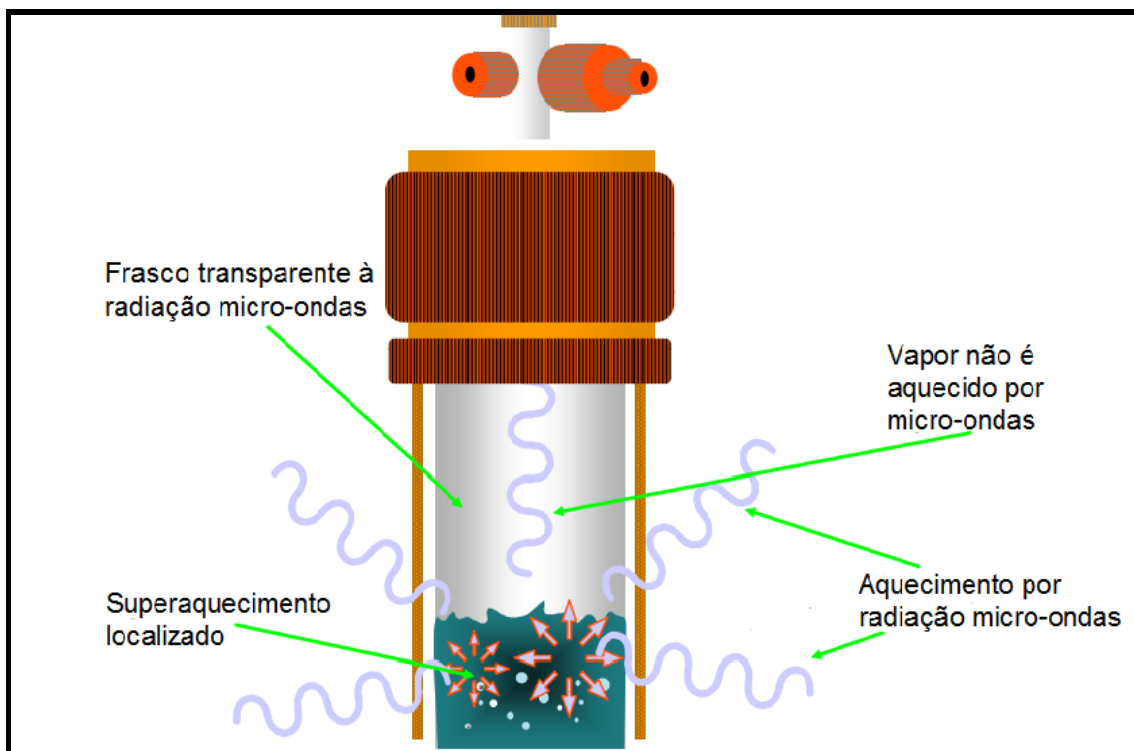


Figura 30 – Aquecimento assistido por radiação micro-ondas.
Adaptado de KRUG (2010).

Os materiais devem ser transparentes para que as micro-ondas sejam absorvidas pela solução do meio reacional. Se o material apresentar superfície condutora irá ocorrer reflexão já que os metais refletem a energia e não aquecem, se for um material isolante não ocorre aquecimento. Os materiais mais empregados dos vasos ou copos de reação são o PTFE (Teflon™ marca registrada da DuPont), PFA (perfluoroalcoxi) e TFM™ (marca registrada da Hoechst para PTFE quimicamente modificado) (KRUG, 2010).

Em relação a instrumentação, os fornos de micro-ondas contêm um magnetron que produz as radiações, que são conduzidas por meio de uma guia de onda e disparadas para o interior do forno. As amostras que estão contidas em tubos são expostas à radiação em forma homogênea, uma vez que esses tubos são distribuídos em uma bandeja rotatória (KRUG, 2010). A Figura 31 mostra um esquema contendo os componentes básicos de um forno micro-ondas.

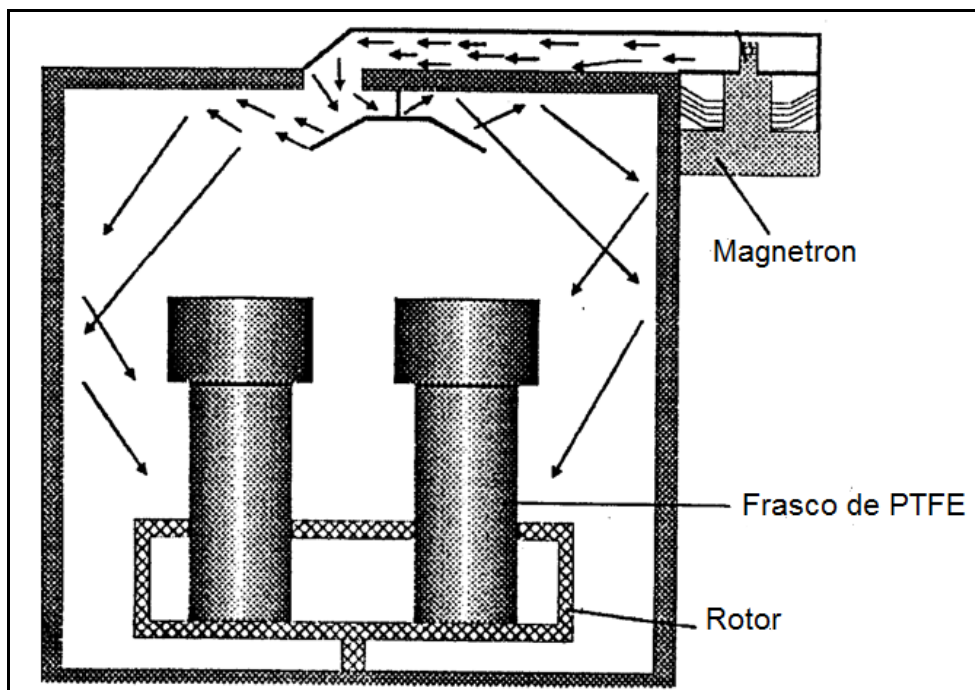


Figura 31 – Componentes de um forno micro-ondas utilizado para o preparo das amostras. Adaptado de KRUG (2010).

Além do sistema convencional de decomposição por micro-ondas também existe o uso da radiação focalizada. O princípio do sistema é o mesmo já descrito, no entanto, as diferenças são em torno da instrumentação. No sistema de radiação focalizada, a parte superior dos tubos não fica em contato com a cavidade interna do forno e um condensador é conectado aos tubos a fim de condensar os vapores gerados (KRUG, 2010 e NÓBREGA et al., 2002).

Os fornos de micro-ondas destacam-se no preparo de amostras devido sua simplicidade, rapidez, aplicação a diferentes matrizes e utilização a elevadas temperaturas e pressões (NEMATİ et al., 2010 e KORN et al., 2008). Dessa forma, o uso de fornos de micro-ondas apresentam diversas vantagens, no entanto, uma grande desvantagem do uso desses sistemas é o alto custo, fazendo com que nem todos os grupos de pesquisa e laboratórios de análise de rotina tenham acesso. Além disso, por se tratar de um sistema fechado, uma limitação é o uso de pequenas quantidades de amostras, a fim de evitar a elevação da pressão interna, podendo levar a explosões dos frascos no interior do forno micro-ondas.

3.3.1.2 Preparo de amostra de erva-mate

O procedimento normalmente utilizado para o preparo de amostras de erva-mate faz uso da digestão convencional baseada em uma mistura nitro-perclórica ou calcinação por forno mufla (CARNEIRO, 2006; TATSCH et al., 2010; WRÓBEL et al., 2010; HEINRICHS, 2001). No entanto, estes procedimentos apresentam alguns inconvenientes tais como contaminação, principalmente quando se utiliza a mufla, volatilização de analitos e/ou ácidos por meio de procedimento convencional de mineralização em sistema aberto ou propriedades altamente reativas dos reagentes (ex. explosão por uso do HClO_4) (KRUG, 2010).

Para minimizar estes inconvenientes, a literatura reporta o uso de sistemas de micro-ondas, o qual se trata de um sistema fechado, minimizando assim riscos de perdas por volatilização. Como pode ser observado nos artigos de Kara do ano de 2009, Saidelles e colaboradores do ano de 2010 e Malik do ano de 2013 que recorrem a esta metodologia para análise em erva-mate e chás (KARA, 2009; SAIDELLES et al., 2010 e MALIK et al., 2013). Contudo, trata-se de um equipamento relativamente caro e nem todos os laboratórios tem acesso para a realização de mineralização de amostras.

Assim, o desenvolvimento de meios alternativos de preparo de amostras se torna atrativo, a fim de alcançar resultados tão eficientes quanto os procedimentos consolidados, principalmente pelo fato da matriz de erva-mate ser tão pouco estudada, pois os trabalhos mais recorrentes na literatura são de amostras de chás, dessa forma dificultado possíveis comparações já que a matriz da amostra apresenta características diferentes.

3.3.1.3 Uso do sistema de refluxo

Uma discussão bastante detalhada sobre o uso do sistema de refluxo para decomposição de amostras, bem como, suas vantagens foi abordado no Capítulo I desta Dissertação. No entanto, cabe salientar que este sistema de “dedo frio” conectado a tubos digestores convencionais proporciona uma digestão ácida sem perdas de analitos e ácidos por volatilização. Além disso, esse sistema se apresenta como uma alternativa viável ao modo convencional

com sistema aberto no tratamento das amostras, além de ser de fácil manuseio ao operador e barato, quando comparado com sistemas fechados mais sofisticados e vem sendo aplicado a diversos tipos de amostras (FERREIRA et al., 2013; PINHEIRO et al., 2014; ORESTE et al., 2013a e ORESTE et al., 2013b).

3.4 Técnica de análise para determinação dos analitos

3.4.1 Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES)

Kirchoff e Bunsen começaram com o conceito de emissão atômica e posteriormente no ano de 1930, Lundergardh desenvolveu um fotômetro de chama para emissão atômica, utilizando uma chama de combustão e fazendo a detecção através de tubos fotomultiplicadores. O plasma foi inicialmente descrito em 1929 por Langmuir, no entanto o destaque para fins analíticos ocorreu somente 35 anos depois por Greenfield e em 1965 por Wendt & Fassel. No Brasil a técnica de espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES), vem sendo utilizada desde 1976, quando foram instalados os primeiros equipamentos comerciais. Esse instrumento é muito utilizado em indústrias metalúrgicas, mineradoras, agrícolas, de alimentos, fertilizantes, de petróleo e inúmeros centros de pesquisas (GUINÉ, 1998).

Essa técnica tem por vantagens um bom desempenho devido a existência de várias linhas espectrais intensas para quase todos os elementos, baixos limites de detecção devido a razões sinal/ruído, interferências de matriz geralmente fracas para soluções diluídas, possível determinação de elementos principais e minoritários a partir da mesma solução de amostra, e permite uma análise rápida e multi-elementar. No entanto, algumas desvantagens são encontradas nessa técnica como: interferências espectrais, interferências físicas (viscosidade e de tensão superficial), interferências químicas causadas por formação de compostos moleculares, efeitos de ionização e efeitos termoquímicos (GUINÉ, 1998).

A amostra é inserida no plasma principalmente na forma de um aerossol mas pode também ser inserida na forma gasosa e até mesmo sólida, por exemplo, através de uma suspensão. Ela é submetida a altas temperaturas, causando dissociação dos átomos e também uma quantidade de colisões, que provocam a excitação (ou ionização) dos átomos da amostra. Quando os átomos se encontram em estados excitados, a tendência é voltar aos níveis fundamentais, dessa forma emitindo uma energia característica. A intensidade da radiação, emitida em um comprimento de onda específico, é medida e usada para determinar a concentração do elemento em estudo (BOSS & FREDEEN, 1989). A Figura 32 mostra um esquema desse processo de emissão atômica.

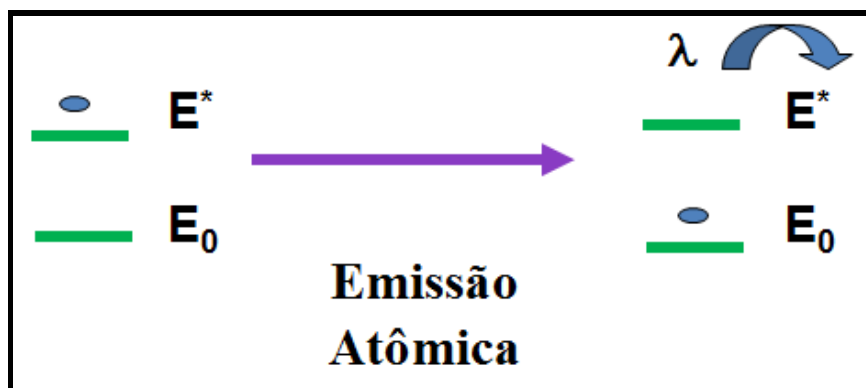


Figura 32 - Processo de emissão atômica.

3.4.1.1 Fonte de energia: Plasma

Langmuir no ano de 1929 sugeriu o termo “plasma” para descargas elétricas em gases. Os plasmas são caracterizados por apresentarem ionização parcial e possuir alta densidade de elétrons livres. Para transformar um gás em plasma, é necessário fornecer energia para produzir íons. O mecanismo de ionização pode ser térmico, por radiação ou por descarga elétrica. A energia de ionização do átomo depende da sua estrutura, sendo superior à energia de ligação do elétron mais externo. Os elementos mais facilmente ionizáveis são os alcalinos monovalentes e os mais difíceis são os gases nobres (GUINÉ, 1998).

O plasma é formado na tocha, a qual é constituída por três tubos concêntricos de quartzo, com entradas independentes para cada seção anular (Figura 33). Na seção anular externa, o gás é introduzido tangencialmente, com fluxo superior a 12 L min^{-1} , na seção anular intermediária o gás auxiliar entra a uma vazão de 1 L min^{-1} , pois é necessário para estabilizar o plasma e na seção interna entra o aerossol da amostra, por arraste com gás em vazões abaixo de 1 L min^{-1} (GUINÉ, 1998).

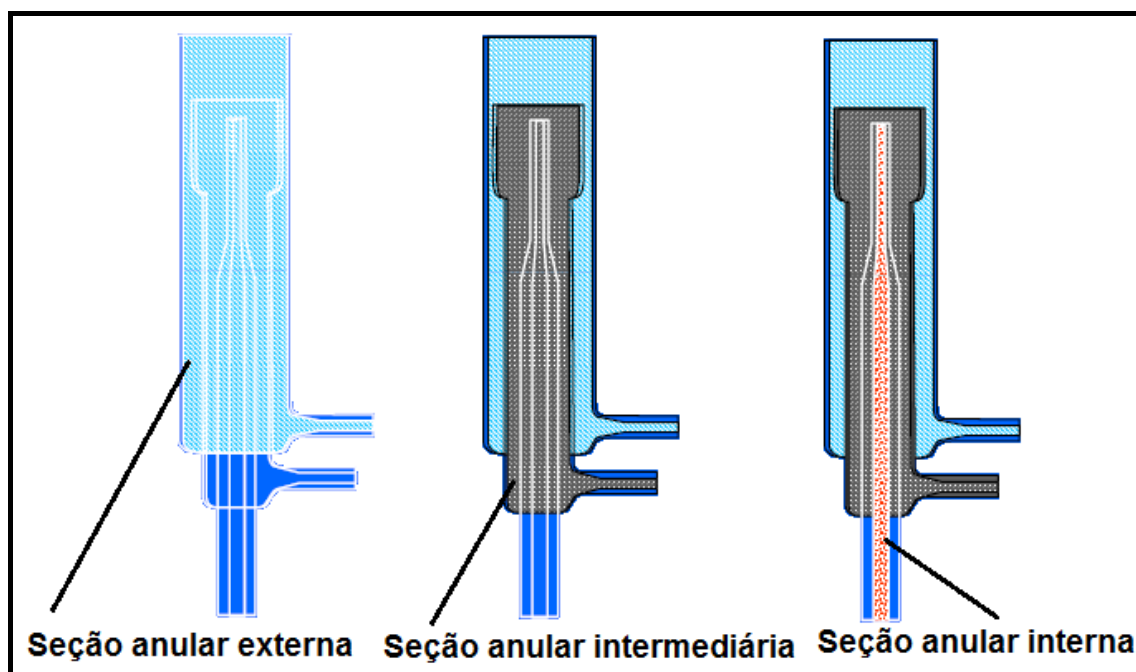


Figura 33 - Tocha de formação do plasma com as seções anulares externa, intermediária e interna.

O tipo de gás e as vazões podem modificar a forma do plasma, seu tamanho e a nitidez do contorno. Quando se emprega argônio, obtém-se um plasma comprido, semi difuso e com temperaturas em torno de 6000 a 8000 °C, ao utilizar nitrogênio o plasma é menor e com margens bem definidas. O gás nitrogênio tem que ser dissociado para depois ionizar-se, o que requer aproximadamente $1000 \text{ kcal mol}^{-1}$ de energia, já o argônio requer menos de $500 \text{ kcal mol}^{-1}$. Dessa forma, esta diferença energética dificulta a formação do plasma e assim o gás mais utilizado pelos equipamentos comerciais é o argônio, onde dependendo do tipo de tocha, a razão total do seu consumo é de 5 a 20 L min^{-1} (HOLLER et al., 2009).

Para iniciar o processo de formação do plasma, usa-se uma fonte de tesla que proporciona descarga elétrica na região de entrada do argônio do plasma, estes elétrons provocam as primeiras ionizações do argônio. A medida que aumenta-se a energia na fonte de radiofrequência, os elétrons produzidos são acelerados pelo campo magnético, atingindo energia cinética elevada. Esta energia é transferida para outros átomos através de colisões, produzindo mais íons do gás e elétrons, dessa forma inicia-se um processo em cascata até a formação do plasma (GUINÉ, 1998). A Figura 34 mostra um esquema do plasma de um espectrômetro de emissão atômica.

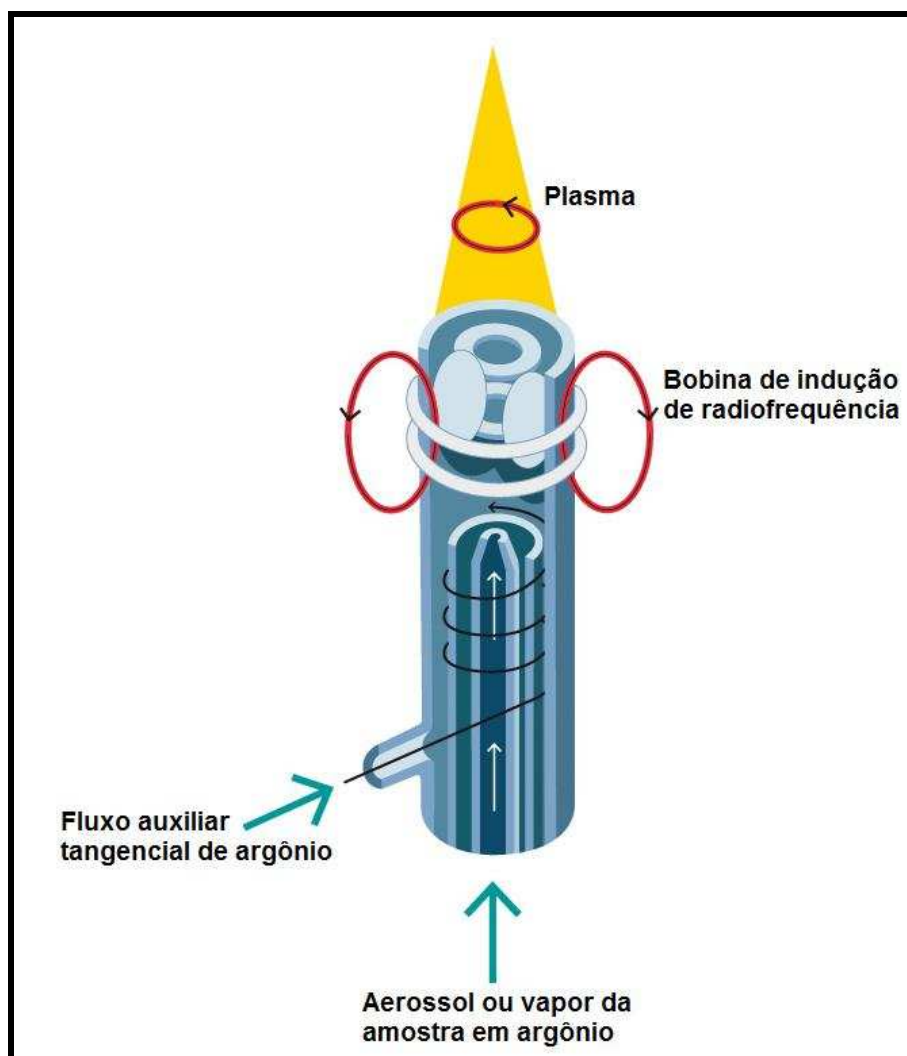


Figura 34 - Fonte de plasma indutivamente acoplado. Adaptado de HOLLER et al., (2009).

Próximo a bobina a temperatura do plasma de argônio pode chegar a 10.000 K. No plasma a energia é transferida por choques entre elétrons e íons, garantindo que o plasma seja suficiente para ser utilizada para os processos de excitação e emissão de átomos e íons, já que a energia de ionização média dos metais é entre 7 a 8 eV e a do argônio é de 15,76 eV. Essa energia é consumida pelo aerossol que chega ao plasma durante os processos que decorrem até a formação dos átomos e íons, excitação e emissão dos mesmos (Figura 35) (RAINONE, 2011).

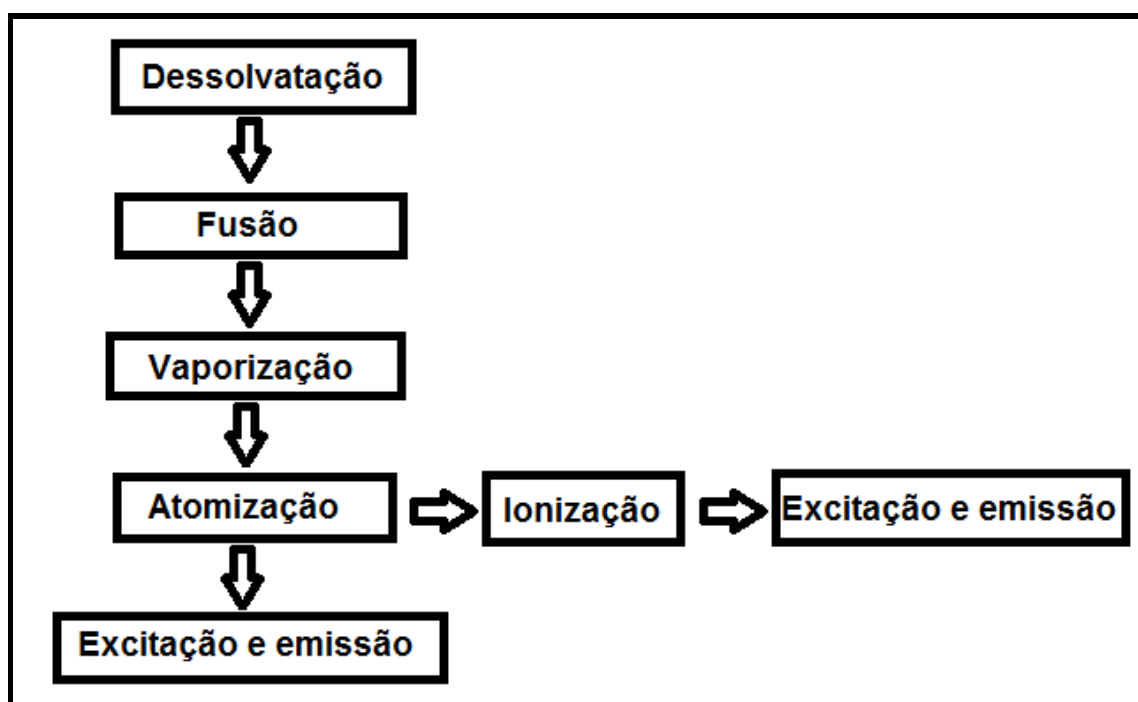


Figura 35 - Processos que ocorrem na amostra após a sua introdução no plasma.

A primeira função da temperatura alta do plasma é de remover o solvente deixando a amostra com microscópicas partículas de sal, os próximos passos envolvem a decomposição das partículas de sal em um gás de moléculas individuais (vaporização) que são, então, dissociadas em átomos (atomização). Estes processos ocorrem na zona de pré-aquecimento e também nas chamas e fornos utilizados em espectrometria de absorção atômica. Uma vez que a amostra de aerossol foi dessolvatada, vaporizada e atomizada, o plasma tem as funções de excitação e ionização. Os processos de excitação e ionização ocorrem predominantemente na zona inicial de radiação, já a zona

analítica é a região do plasma onde a emissão do analito é medida (Figura 36) (BOSS & FREDEEN, 1989).

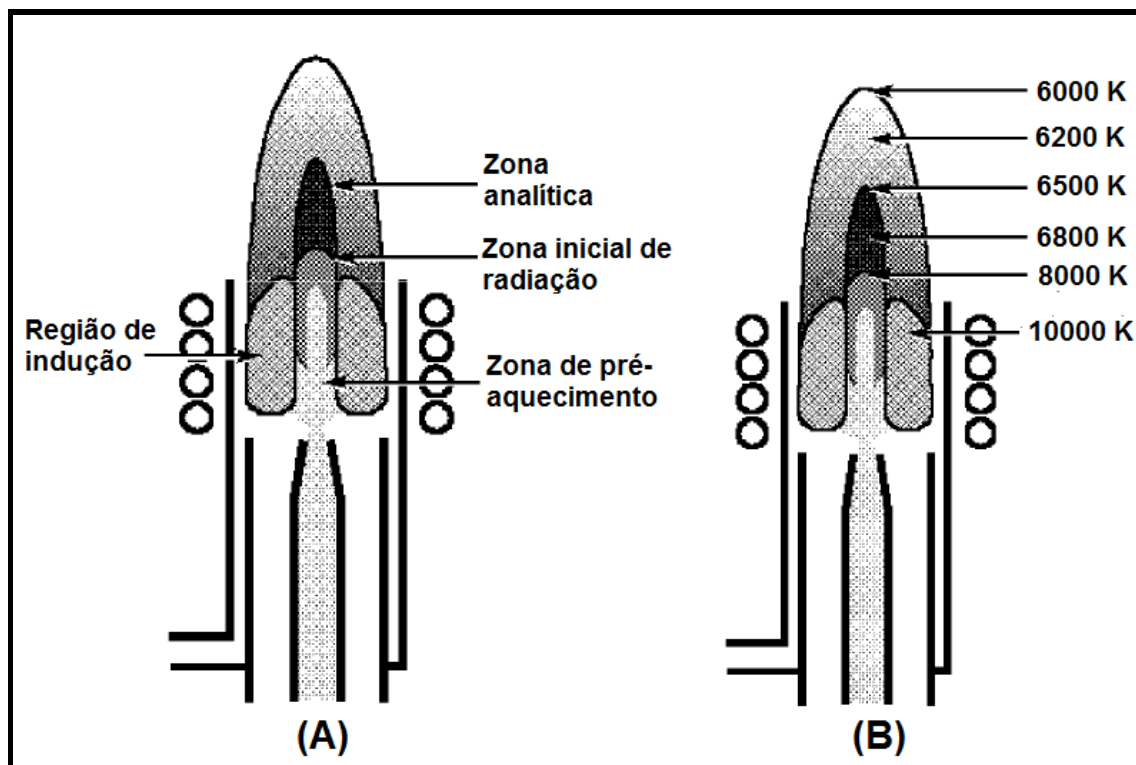


Figura 36 - (A) Zonas do plasma de um ICP OES; (B) Temperaturas das regiões do plasma de um ICP OES. Adaptado de BOSS & FREDEEN (1989).

3.4.1.2 Introdução da amostra

O nebulizador introduz constantemente a amostra na forma de uma nuvem de gotículas, denominada aerossol, que ao chegar ao plasma se transforma numa população de átomos, moléculas e íons. As amostras sólidas podem ser introduzidas com uma centelha elétrica, com um feixe de laser ou com atomizador eletrotérmico (GUINÉ, 1998; HOLLER et al., 2009).

Entre as propriedades do aerossol são importantes: o tamanho e a distribuição das gotículas, a quantidade de amostra e solvente transferidas para o plasma e as flutuações do sistema de nebulização. A produção de um aerossol com gotículas de tamanho menor é resultante da maior interação entre o gás e o líquido. A qualidade do aerossol produzido depende do nebulizador, enquanto que a seleção da parte do aerossol transferido para o

plasma depende da câmara de nebulização (GUINÉ, 1998; BOSS & FREDEEN, 1989).

Os nebulizadores pneumáticos servem para formar o aerossol da amostra e aspirá-la, nesses nebulizadores o principal requisito é que o gás atinja altas velocidades para que, na expansão, provoque uma queda considerável de pressão e o líquido seja aspirado. Os primeiros nebulizadores pneumáticos foram os de fluxo cruzado (cross flow), no início estes nebulizadores eram ajustáveis onde o operador devia encostar as agulhas até chegar na posição de aspiração, depois foram comercializados os nebulizadores fixos e no anos 80 foram introduzidos os nebulizadores concêntricos (GUINÉ, 1998; HOU & JONES, 2000). A Figura 37 mostra um desenho esquemático para comparar o nebulizador de fluxo cruzado e o concêntrico.

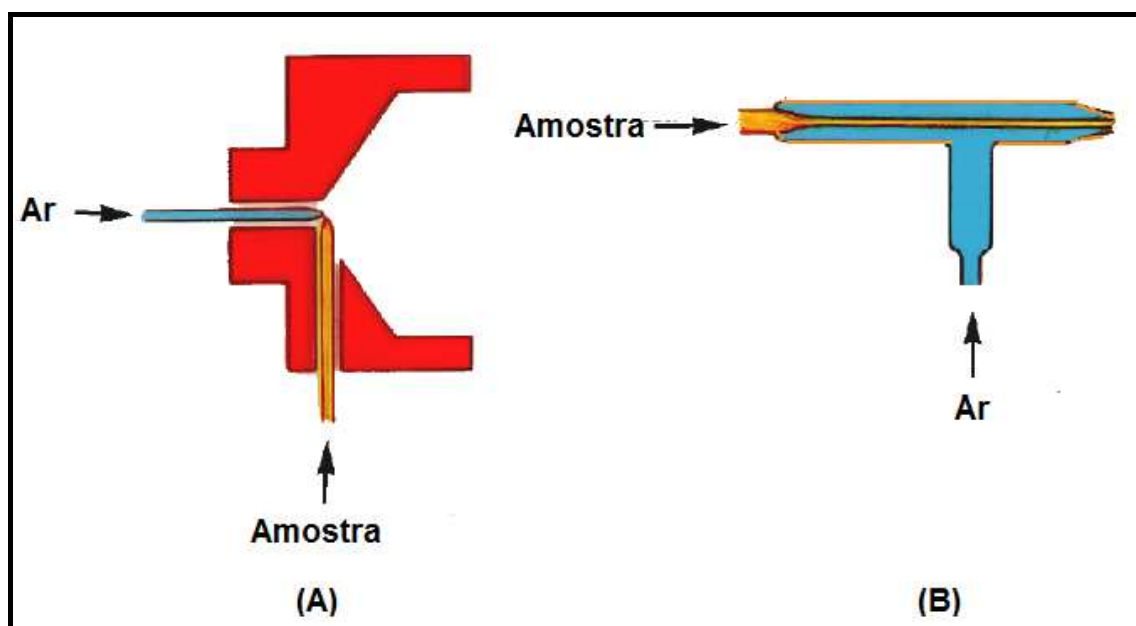


Figura 37 - Nebulizadores pneumáticos do tipo: (A) Fluxo Cruzado (Cross-flow); (B) concêntrico. Adaptado de GUINÉ (1998).

Considerando o nebulizador concêntrico, a Figura 38 mostra um esquema detalhado para um melhor entendimento de seu funcionamento.

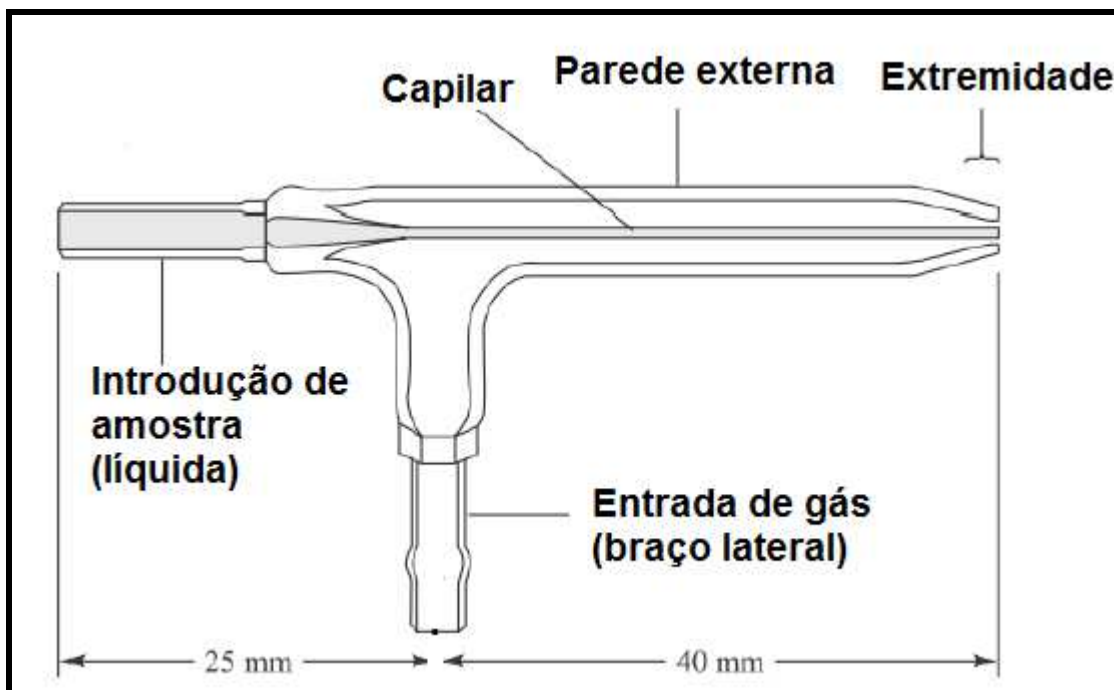


Figura 38 - Nebulizador do tipo concêntrico. Adaptado de HOLLER et al., (2009).

Além dos nebulizadores pneumáticos, existem os nebulizadores ultrassônicos que produzem aerossol da amostra líquida em uma membrana que vibra com frequência ultrassônica promovida pela ação de uma fonte de radiofrequência transmitida por água. A solução da amostra escorre pela membrana e pelo efeito de cavitação ou de "gêiser" e assim formam um aerossol e são transportadas por um gás que é introduzido tangencialmente. As ondas longitudinais se propagam através de um transdutor, esfriado por água ou ar, e atingem a membrana a qual vibra intensamente, desagregando a amostra líquida em gotículas. Estes nebulizadores são utilizados para amostras com concentrações salinas altas, a eficiência de transporte da amostra para a tocha é de 5 a 10% sendo descartada a maior fração da mesma. (GUINÉ, 1998; BOSS & FREDEEN, 1989). A Figura 39 mostra um esquema desse tipo de nebulizador.

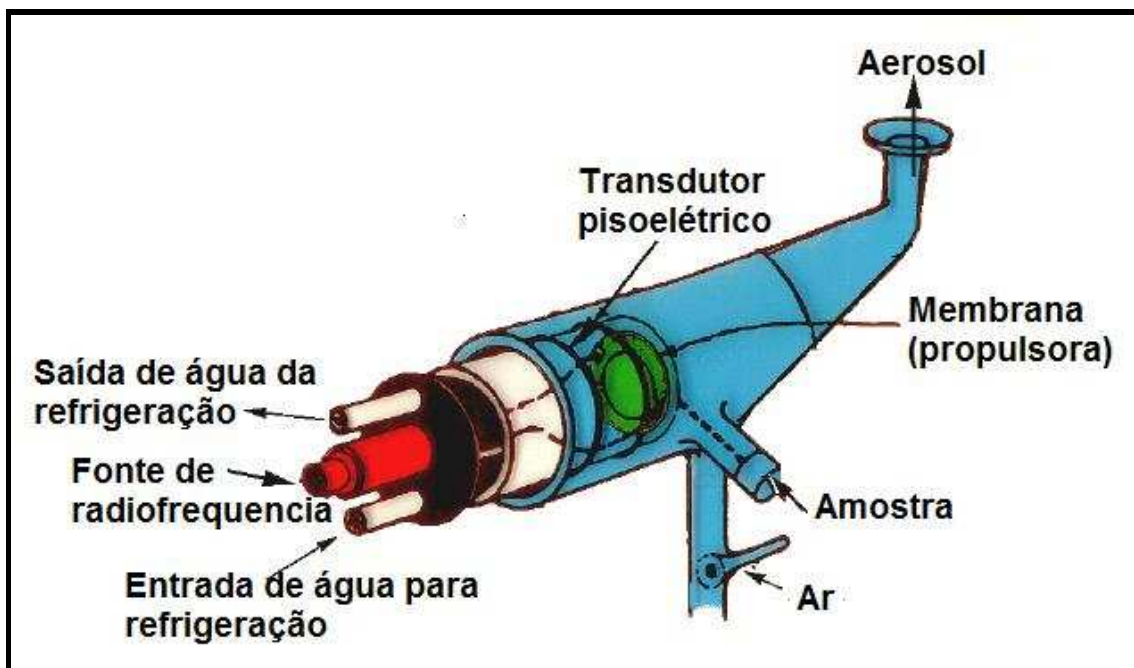


Figura 39 - Nebulizador ultrassônico. Adaptado de GUINÉ (1998).

3.4.1.3 Interferências

3.4.1.3.1 Efeitos de matriz

Os efeitos de matriz são interferências não espectroscópicas, associadas as etapas de nebulização, transporte e efeitos energéticos no plasma. Entre os elementos que provocam maiores alterações estão os elementos facilmente ionizáveis como Na, K e Cs. Estes elementos cedem facilmente o elétron da última camada, produzindo íons e elétrons livres e isto pode afetar as condições de equilíbrio do plasma. Além disto, o que pode afetar o equilíbrio térmico do plasma é a presença de compostos orgânicos em que se observa radiação azul da emissão de acetileno e o plasma muda de formato (GUINÉ, 1998; BOSS & FREDEEN, 1989; HOLLER et al., 2009).

Para resolver estes problemas podem-se usar alternativas, como (GUINÉ, 1998):

- Para amostras que apresentam matriz constante, podem-se utilizar soluções padrão com matriz similar as amostras. No entanto, este procedimento só pode ser utilizado se os elementos de interesse encontram-se na solução da amostra em concentrações acima de 1 mg

L^{-1} , para que o aumento da radiação de fundo provocado pela matriz não prejudique os limites de detecção;

- Em amostras com teor de sólidos acima de 5% m/v é indicado diluí-las para não provocar entupimentos no nebulizador ou tocha;
- Para concentrações baixas de analito é eficiente o uso de um mecanismo de separação da matriz;
- Amostras contendo material orgânico recomenda-se utilizar maior potência da fonte de radiofrequência e usar uma mistura de argônio e oxigênio como gás de nebulização para melhorar a combustão e evitar a formação de fuligem;
- Uso de padrão interno requer a análise prévia da amostra, já que ele deve ser um elemento que não esteja presente na amostra, e a concentração adicionada deve ser calculada para duplicar o sinal inicial do elemento de interesse, no entanto em técnicas multi-elementares encontra-se dificuldade para definir os padrões internos que sirvam para todos os elementos da análise;
- Na adição de padrão, é necessário analisar a amostra antes e depois da adição do analito, para determinar a variação de sensibilidade e estimar a concentração na amostra original.

3.4.1.3.2 Interferências espectrais

Essas interferências são produzidas por superposição espectral entre linhas emitidas pelos diferentes elementos presentes na amostra, e as limitações de resolução dos espectrômetros. Além disto, a coincidência total ou parcial de linhas, a proximidade de uma linha que afeta o fundo em um dos extremos da linha de interesse, e o aumento do fundo também são caracterizadas como interferências espectrais (GUINÉ, 1998; BOSS & FREDEEN, 1989; HOLLER et al., 2009).

Em geral, as interferências são significativas quando uma linha de um constituinte maior da amostra afeta uma linha sensível de algum elemento em baixa concentração na mesma solução, dessa forma se a interferência afeta somente o fundo, utiliza-se o corretor de fundo para corrigi-la (GUINÉ, 1998).

4. Materiais e Métodos

4.1 Instrumentação

Para a determinação simultânea dos elementos metálicos foi utilizado um espectrômetro de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES, Perkin Elmer, Optima 3000DV, Norwalk, CT, Estados Unidos), com um detector multi-elementar simultâneo de estado sólido do tipo SCD (*Segmented Array Charge Coupled Device*), câmara de nebulização duplo passo do tipo “Scott”, um nebulizador do tipo *cross-flow* e tubo injetor de alumina na tocha com 2,0 mm de diâmetro interno. O argônio (White Martins, SP, Brasil) empregado para as análises foi de pureza 99,996%. As condições de operação e os comprimentos de onda usados são apresentados na Tabela 14.

Tabela 14. Condições de operação do ICP OES.

Parâmetros	Condições
Potência aplicada (kW)	1,3
Vazão do argônio (L min ⁻¹)	Auxiliar: 0,5 Principal: 15 Nebulização: 0,8
Vazão do bombeamento (mL min ⁻¹)	1,0
Altura da visão radial (mm)	15
Diâmetro do tubo injetor (mm)	2
Tempo de integração (s)	5
Tempo de leitura (s)	30
Elementos (λ/nm)	Al (308,215), Ca (317,933), Fe (238,204), Mg (279,077), Mn (403,075), Na (330,237), Zn (213,857).

Todas as amostras foram pesadas utilizando uma balança analítica Ohaus Adventurer modelo AR 2140 (Pine Brook, NJ, Estados Unidos) com resolução de 0,1 mg e tara máxima de 210 g. Para realizar a digestão ácida

das amostras, foi utilizado um bloco digestor modelo MA-4025 (Marconi, Piracicaba, SP, Brasil) e a cada tubo foi introduzido um sistema de refluxo a fim de evitar perdas dos analitos e reagentes por volatilização, conforme descrito por Oreste e colaboradores (ORESTE et al., 2013b). As amostras também foram mineralizadas utilizando um micro-ondas modelo ETHOS 1 (Milestone, Sorisole, Itália), equipado com frascos de PTFE.

4.2 Reagentes e Materiais

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico. Para o preparo de todas as soluções, utilizou-se água desionizada obtida a partir de um sistema de purificação Direct-Q 3 da Millipore (Bedford, MA, Estados Unidos), com resistividade de 18,3 M Ω cm. As soluções padrão utilizadas para quantificar os elementos foram obtidas de suas respectivas soluções estoque (1000 mg L⁻¹ para: Al, Fe, Na e Zn e 4000 mg L⁻¹ para: Ca, Mg e Mn) preparadas em meio de HNO₃ a 1% (v/v). O ácido nítrico (Synth, Brasil) utilizado na etapa de preparo das amostras foi bidestilado abaixo do seu ponto de ebulição em um destilador de quartzo MA-075 (Marconi, Piracicaba, SP, Brasil). Além desse, também foi utilizado peróxido de hidrogênio concentrado (Merck, Darmstadt, Alemanha) para essa etapa. Toda a vidraria e materiais de laboratório foram limpos por imersão em HNO₃ 10% (v/v) por, pelo menos, 48 h, sendo posteriormente lavadas com água desionizada e secas antes de seu uso.

4.3 Preparo das amostras e soluções de calibração

Foram utilizadas para o desenvolvimento do procedimento proposto e verificação das concentrações dos analitos, cinco amostras de erva-mate, principalmente da região do Paraná, as quais foram adquiridas em comércio local na cidade de Pelotas (RS).

Todas as amostras foram trituradas utilizando um processador comercial (Philips Walita, Brasil) e peneiradas com uma peneira de granulometria de 0,25 mm, a fim de se obter uma maior homogeneidade das

amostras. Subsequentemente, essas amostras foram preparadas através de uma decomposição ácida utilizando dois diferentes procedimentos, conforme descrito a seguir.

Foi realizada uma única calibração em meio ácido para a leitura das amostras preparadas pelos diferentes métodos de decomposição ácida para os elementos e suas respectivas faixas lineares: Al (1 a 6,5 mg L⁻¹), Ca (10 a 200 mg L⁻¹), Fe (1 a 10 mg L⁻¹), Mg (10 a 200 mg L⁻¹), Mn (10 a 200 mg L⁻¹), Na (1 a 10 mg L⁻¹) e Zn (0,1 a 3,0 mg L⁻¹).

4.3.1. Sistema de Refluxo (*Procedimento 1*)

Para todas as amostras foram pesados aproximadamente 0,50 g diretamente em frascos do bloco digestor com a posterior adição de 9,0 mL de HNO₃ para a mineralização das amostras. Em seguida, foi acoplado o sistema de refluxo a esses frascos, e levados ao aquecimento por 2 h a 220 °C do bloco digestor. Após o resfriamento das amostras a temperatura ambiente, foi adicionado 1,0 mL de H₂O₂ e as soluções foram encaminhadas ao aquecimento por mais 1 h na mesma temperatura citada. Após o resfriamento, as soluções resultantes foram transferidas para frascos volumétricos e o volume completado a 50,0 mL com água desionizada.

4.3.2. Sistema fechado assistido por radiação micro-ondas (*Procedimento 2*)

Para esse procedimento, a mesma massa de amostra descrita no procedimento anterior foi pesada diretamente nos frascos de PTFE, com a posterior adição de 5,0 mL de HNO₃, 2,0 mL de H₂O₂ e 4,0 mL de água desionizada. Subsequentemente, as soluções das amostras foram submetidas a um programa de temperatura e tempo do forno micro-ondas, conforme descrito na Tabela 15.

Tabela 15. Programa de aquecimento do forno de micro-ondas.

Etapa	Tempo (min)	Temperatura (°C)
1	3	80
2	2	80
3	4	120
4	5	120
5	7	200
6	25	200

Após o resfriamento das amostras a temperatura ambiente, a solução resultante foi transferida para frascos volumétricos e o volume completado a 50 mL com água desionizada. A Figura 40 apresenta uma imagem da solução resultante após o tratamento das amostras de erva-mate.



Figura 40 - Amostra de erva-mate após decomposição em sistema fechado assistido por radiação micro-ondas.

5. Resultados e Discussão

5.1. Teor de cinzas e umidade na erva-mate

Uma informação importante sobre a amostra real é o teor de umidade, uma vez que pode influenciar na quantidade de reagente adicionado para o tratamento da amostra. Sendo assim, foram pesadas aproximadamente 1,0 g das diferentes amostras em triplicata diretamente em vidros relógios. Estes foram posteriormente levados ao aquecimento em estufa a temperatura de aproximadamente 100 °C por no mínimo 2h. Em seguida, as amostras foram retiradas da estufa e deixadas em um dessecador até chegarem à temperatura ambiente para proceder à pesagem das mesmas. Esse processo foi realizado até as amostras adquirirem peso constante, ou seja, até a certeza de que toda a massa relativa à umidade foi eliminada. Através disso foi possível calcular o teor de umidade presente em todas as amostras, que foi em média de $6,8 \pm 0,3\%$ (m/m).

Para determinar o teor de cinzas, a mesma massa de amostra citada no procedimento anterior foi pesada, também em triplicata para três diferentes amostras, diretamente em béqueres. Esses foram posteriormente levados ao aquecimento em forno mufla a uma temperatura de aproximadamente 600 °C, a qual foi elevada gradativamente em intervalos de 50 °C a cada 30 min. Ao alcançar a temperatura máxima estabelecida, as amostras permaneceram por mais 1,5 h. Após esse período, os béqueres contendo as cinzas foram deixados em um dessecador até chegarem à temperatura ambiente para proceder à pesagem das mesmas. Através disso foi possível calcular o teor de cinzas presente em todas as amostras, que foi em média de $6,7 \pm 0,6\%$ (m/m) da amostra seca.

5.2. Parâmetros de Mérito

Os parâmetros de mérito para a determinação dos analitos em estudo nos diferentes métodos de preparo das amostras estão expressas na Tabela

16, na qual é possível observar que foi obtida boa linearidade para todos os analitos estudados ($R^2 > 0,99$).

Tabela 16. Parâmetros de mérito para os diferentes métodos de decomposição ácida de amostras de erva-mate obtida por ICP OES.

Analito	Faixa Linear (mg L ⁻¹)	a (L mg ⁻¹)	R^2	LD (mg kg ⁻¹)	LQ (mg kg ⁻¹)
Al	1 – 6,5	9944	0,998	3,66	12,19
Ca	10 – 200	1700	0,999	4,18	13,93
Fe	1 – 10	1296	0,999	1,65	5,49
Mg	10 – 200	5293	0,999	0,86	2,87
Mn	10 – 200	39260	0,999	0,62	2,07
Na	1 – 10	282,7	0,998	17,85	59,50
Zn	0,1 – 3,0	1707	0,999	0,54	1,80

a : coeficiente de correlação angular da curva; LD: limite de detecção; LQ: limite de quantificação; R^2 : coeficiente de correlação linear.

Conforme visualizado na Tabela 16, foi realizada uma única calibração para a leitura das amostras preparadas pelos diferentes métodos de decomposição ácida. Com isso, foi possível obter os mesmos LDs e LQs instrumentais para os dois procedimentos de preparo de amostra, visto que para ambos foram utilizados a mesma massa e volume final das soluções.

5.3. Resultados da determinação de Al, Ca, Fe, Mg, Mn, Na e Zn em amostras de erva-mate

Para obter informações sobre a concentração dos analitos estudados em amostra de erva-mate, as mesmas foram tratadas pelos diferentes procedimentos e os resultados encontrados após análise por ICP OES estão listados na Tabela 17. No entanto, as análises realizadas neste equipamento serão menos discutidas neste trabalho em comparação as técnicas abordadas no capítulo 1 (F AAS e GF AAS), por se tratar de uma técnica complementar à

presente pesquisa e ter sido realizada em laboratório externo com menor acessibilidade.

Tabela 17. Resultados analíticos para os analitos avaliados em cinco amostras de erva-mate. (n=3)

Analito	Concentração, $\bar{x}^a \pm SD^b$ (mg kg ⁻¹) (RSD ^c , %)	
	Procedimento 1	Procedimento 2
Amostra A		
Al	308,1 $\pm$ 13,0 (4,2)	290,1 $\pm$ 23,5 (8,1)
Ca	6823,1 $\pm$ 57,6 (0,8)	6564,6 $\pm$ 407,4 (6,2)
Fe	243,6 $\pm$ 15,5 (6,4)	255,8 $\pm$ 10,8 (4,2)
Mg	3679,2 $\pm$ 9,4 (0,2)	3540,7 $\pm$ 222,9 (6,3)
Mn	2117,3 $\pm$ 21,7 (1,0)	2157,2 $\pm$ 172,6 (8,0)
Na	55,4 $\pm$ 7,9 (14,2)	56,7 $\pm$ 0,9 (1,6)
Zn	42,9 $\pm$ 1,9 (4,4)	41,0 $\pm$ 2,5 (6,1)
Amostra B		
Al	340,0 $\pm$ 6,8 (2,0)	366,0 $\pm$ 23,7 (6,5)
Ca	6874,5 $\pm$ 47,5 (0,7)	6954,5 $\pm$ 216,2 (3,1)
Fe	325,0 $\pm$ 7,8 (2,4)	365,6 $\pm$ 7,4 (2,0)
Mg	3840,2 $\pm$ 28,5 (0,7)	4008,1 $\pm$ 190,6 (4,8)
Mn	1825,9 $\pm$ 34,9 (1,9)	1964,6 $\pm$ 112,8 (5,7)
Na	59,4 $\pm$ 6,8 (11,4)	60,3 $\pm$ 3,1 (5,1)
Zn	48,7 $\pm$ 1,2 (2,5)	50,9 $\pm$ 1,8 (3,5)
Amostra C		
Al	272,7 $\pm$ 6,1 (2,2)	276,3 $\pm$ 22,2 (8,0)
Ca	6542,1 $\pm$ 82,7 (1,3)	6891,4 $\pm$ 897,5 (13,0)
Fe	290,8 $\pm$ 5,1 (1,8)	313,2 $\pm$ 22,8 (7,3)
Mg	3978,6 $\pm$ 20,3 (0,5)	3846,9 $\pm$ 352,0 (9,2)
Mn	1855,5 $\pm$ 11,3 (0,6)	1829,8 $\pm$ 131,8 (7,2)
Na	68,2 $\pm$ 1,1 (1,6)	62,2 $\pm$ 3,9 (6,3)
Zn	71,1 $\pm$ 0,8 (1,1)	72,2 $\pm$ 7,2 (10,0)
Amostra D		
Al	130,8 $\pm$ 4,8 (3,7)	125,7 $\pm$ 2,9 (2,3)
Ca	5771,3 $\pm$ 13,6 (0,2)	5827,5 $\pm$ 209,7 (3,6)
Fe	134,2 $\pm$ 4,3 (3,2)	147,5 $\pm$ 17,9 (12,1)
Mg	3148,1 $\pm$ 25,2 (0,8)	3076,5 $\pm$ 17,6 (0,6)
Mn	1084,4 $\pm$ 15,5 (1,4)	1112,0 $\pm$ 17,1 (1,5)
Na	61,9 $\pm$ 3,9 (6,3)	58,9 $\pm$ 4,6 (7,8)
Zn	50,8 $\pm$ 0,9 (1,8)	53,3 $\pm$ 1,0 (1,9)
Amostra E		
Al	269,9 $\pm$ 6,4 (2,4)	261,3 $\pm$ 6,2 (2,4)
Ca	5689,2 $\pm$ 190,2 (3,3)	6183,2 $\pm$ 378,9 (6,1)
Fe	293,4 $\pm$ 6,8 (2,3)	294,5 $\pm$ 2,7 (0,9)
Mg	2939,5 $\pm$ 16,8 (0,6)	2905,0 $\pm$ 22,1 (0,8)
Mn	1763,6 $\pm$ 15,6 (0,9)	1773,5 $\pm$ 14,2 (0,8)
Na	70,5 $\pm$ 3,9 (5,5)	67,8 $\pm$ 7,4 (10,9)
Zn	58,8 $\pm$ 0,4 (0,7)	60,2 $\pm$ 0,7 (1,2)

^a: média; ^b: desvio-padrão; ^c: desvio-padrão relativo.

Conforme pode ser visualizado na Tabela 17, os valores encontrados para todos os analitos foram concordantes para os dois métodos de decomposição ácida, uma vez que foi aplicado o teste estatístico t pareado para um limite de confiança de 95%, a qual, em comparação entre os procedimentos de decomposição empregados, o t calculado foi menor do que o t crítico para esse nível de confiança, não apresentando dessa forma diferenças significativas.

Apesar de algumas concentrações dos analitos listados na Tabela 17 apresentarem um elevado desvio padrão relativo (RSD) (superior a 10,0%), em geral a precisão foi melhor utilizando o sistema de refluxo, pois obteve-se RSDs médios de 2,7 e 5,3% para os procedimentos 1 e 2, respectivamente.

Considerando que para preparar um chimarrão gaste-se aproximadamente 50 mg de erva-mate por dia e que uma pessoa consuma essa bebida duas vezes ao dia, dessa forma, um pacote de erva-mate de 1 kg irá durar cerca de 10 dias. Sendo assim, converteu-se a quantidade máxima diária para cada elemento para uma quantidade de 10 dias, assim foi possível relacionar os valores encontrados na Tabela 17 com os limites máximos permitidos para cada analito estudado. Além disso, é importante salientar que os valores deste estudo são em relação a concentração total presente na amostra de erva-mate e não ao valor extraído com água quente.

Para todas as amostras foram encontradas concentrações elevadas de Ca entre 5,6 a 7,0 g kg⁻¹, no entanto os valores encontrados ficaram dentro do limite máximo (20 a 25 g para 10 dias de consumo), já para o Mg os valores encontrados foram entre 2,9 a 4,0 mg kg⁻¹, ficando acima do limite máximo (2,6 g para 10 dias). Esses elementos são importantes para a formação de ossos, dentes e tecidos, auxiliando também para o crescimento e manutenção de funções do organismo. No entanto em concentrações elevadas podem causar ao ser humano doenças como “pedras” no rim para o Ca, já para o Mg não há evidências de efeitos adversos em casos da ingestão em excesso, a partir da alimentos naturais; porém efeitos adversos foram evidenciados em casos da utilização de suplementos alimentares, o qual ocasionará diarreia osmótica (SAIDELLES et al., 2010 e FOOD INGREDIENTS, 2008).

Para o Mn os valores encontrados foram entre 1,0 a 2,2 g kg⁻¹ também ficando acima do limite máximo (20 a 50 mg para 10 dias). Este elemento possui grande importância para os seres humanos, pois pode atuar como um ativador enzimático, bem como compor várias enzimas. No entanto, em concentrações elevadas pode resultar em efeitos neurológicos e neuropsiquiátricos, como alucinações, instabilidade emocional, fraqueza, distúrbios de comportamento e da fala (CETESB, 2014; WHO, 1996; AZEVEDO e CHASIN, 2003).

Para o Fe, foram encontradas concentrações em uma faixa de 130 a 360 mg kg⁻¹ em todas as amostras analisadas. O recomendado para ingestão compreende a faixa de (100 a 200 mg para 10 dias), dessa forma ficando acima do limite. Esse metal é essencial, pois atua como componente da hemoglobina e mioglobina, além de desempenhar um papel fundamental de transporte de oxigênio para as células. Contudo, o excesso pode causar a doença hemocromatose, que trata-se de uma absorção excessiva desse metal através dos alimentos ocasionando um acúmulo nas células e mudanças orgânicas patológicas (MORAES, 2010; HUANG, 2003; SAIDELLES et al., 2010; AZEVEDO e CHASIN, 2003).

Para o Zn, foram encontradas concentrações em uma faixa de aproximadamente 41 a 72 mg kg⁻¹ em todas as amostras analisadas. O recomendado para ingestão desse elemento compreende a faixa de (100 a 150 mg para 10 dias), ficando dentro do valor permitido. Esse elemento atua como cofator em mais de 200 metaloenzimas, o que reflete em sua importância para o crescimento. No entanto, ingestão excessiva desse elemento, cerca de 50 mg/dia, através do uso de suplementos pode inibir a absorção de cobre proveniente da dieta (LUKASKI, 1995; SAIDELLES et al., 2010; AZEVEDO e CHASIN, 2003).

Já para o Na, a faixa de concentração encontrada aproximadamente nas amostras foi de 55 a 71 mg kg⁻¹. Para adultos, a ingestão recomendada é de no máximo (20 g para 10 dias), dessa forma ficando dentro do valor recomendado, no entanto é importante um controle da concentração deste elemento já que o excesso do mesmo pode acarretar a hipertensão arterial (WHO, 2012). Para o Al, as concentrações encontradas aproximadamente nas

amostras analisadas ficaram em uma faixa de 125 a 370 mg kg⁻¹. O recomendado para ingestão desse elemento compreende uma faixa de (30 a 14 mg para 10 dias), dessa forma ficando acima do valor recomendado. Dessa forma, é necessário um controle dos níveis deste metal, já que em concentrações elevadas pode descalcificar os ossos, além de se depositar no cérebro, causando a doença de Alzheimer (ATSDR, 2014 e WHO, 1996).

As discrepâncias observadas para as concentrações dos metais nas diferentes amostras são justificadas pela diferença na fisiologia das plantas, bem como pela contribuição do meio externo durante o cultivo, tais como o tipo de solo e condições climáticas (KARA, 2009).

Com relação à exatidão, foi realizado teste de adição de analito na amostra E de erva-mate, a fim de validar as metodologias empregadas. Concentrações de 50, 2.000, 50, 1.500, 1500, 100 e 100 mg kg⁻¹ para Al, Ca, Fe, Mg, Mn, Na e Zn respectivamente foram adicionadas e os resultados estão apresentados na Tabela 18.

Tabela 18. Concentração encontrada após a adição de analito na amostra E. (n=3)

Analito	Adição (mg kg ⁻¹)	Recuperação, $\bar{x}^a \pm SD^b$ (mg kg ⁻¹) (RSD ^c , %)			
		Sistema em refluxo	Recuperação (%)	Micro-ondas	Recuperação (%)
Al	50	46,3 $\pm$ 6,4 (13,8)	92,6	56,4 $\pm$ 6,8 (12,0)	112,8
Ca	2000	1860,8 $\pm$ 190,4 (10,2)	93,0	2160,1 $\pm$ 96,8 (4,5)	108,0
Fe	50	45,7 $\pm$ 2,3 (5,0)	91,4	54,7 $\pm$ 5,6 (10,2)	109,4
Mg	1500	1207,2 $\pm$ 18,2 (1,5)	80,5	1599,5 $\pm$ 67,4 (4,2)	106,6
Mn	1500	1598,2 $\pm$ 25,4 (1,6)	106,5	1431,8 $\pm$ 15,9 (1,1)	95,4
Na	100	108,1 $\pm$ 4,7 (4,3)	108,1	110,8 $\pm$ 7,4 (6,7)	110,8
Zn	100	92,9 $\pm$ 1,3 (1,4)	92,9	100,3 $\pm$ 1,8 (1,8)	100,3

^a: média; ^b: desvio-padrão; ^c: desvio-padrão relativo.

Com base nos resultados apresentados na Tabela 18, é possível notar que boas recuperações foram obtidas para todos os analitos, as quais ficaram

em uma faixa de aproximadamente 80 a 112%. Essas recuperações foram calculadas a partir da diferença entre as concentrações apresentadas na Tabela 18 (amostras com adição) e as concentrações na Tabela 17 (amostras sem adição).

Ainda com base na Tabela 18 é possível observar bons RSDs para os dois procedimentos, ficando todos abaixo de 7,2%, indicando assim uma boa precisão dos métodos.

6. Considerações Finais

Foi desenvolvido um procedimento de preparo de amostras, baseado na decomposição ácida em copo aberto com sistema de refluxo, para determinação de Al, Ca, Fe, Mg, Mn, Na e Zn em amostras de erva-mate comerciais. Esse foi comparado com outro método de preparo de amostras já consolidado na literatura, baseado na decomposição em copo fechado assistida por radiação micro-ondas, obtendo-se resultados comparáveis. Além disso, a exatidão da metodologia foi também avaliada através de testes de adição analito, com o qual foi possível obter ótimos resultados de recuperação.

A decomposição ácida em sistema de refluxo foi eficiente para a mineralização das amostras de erva-mate, mostrando mais uma vez suas consideráveis características de minimizar perdas dos analitos e ácidos por volatilização. Sendo assim, essas condições de operação para o preparo de amostras pode ser expandido para demais tipos de amostras, assim como para outros elementos ainda não investigados.

Como trabalhos futuros serão realizados estudos em relação ao extrato do chimarrão, para que se possa avaliar o quanto é liberado no consumo dessa bebida, dessa forma será investigado quanto é ingerido pelas pessoas, já que os valores discutidos nesta Dissertação são para a concentração total presente na amostra de erva-mate.

Referências Bibliográficas

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Lei nº 10.674, de 16 de maio de 2003d. O Congresso Nacional obriga a que os produtos alimentícios comercializados informem sobre a presença de glúten, como medida preventiva e de controle da doença celíaca. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/e62b4c804745968e9e65de3fbc4c6735/lei_10674.pdf?MOD=AJPERES> Acessado em junho de 2014.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Portaria nº 27, de 13 de janeiro de 1998. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/9180ca00474581008d31dd3fbc4c6735/PORTARIA_27_1998.pdf?MOD=AJPERES> Acessado em junho de 2014.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº 259, de 20 de setembro de 2002. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/36bf398047457db389d8dd3fbc4c6735/RDC_259.pdf?MOD=AJPERES> Acessado em junho de 2014.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº 360, de 23 de dezembro de 2003b. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/ec3966804ac02cf1962abfa337abae9d/Resolucao_RDC_n_360de_23_de_dezembro_de_2003.pdf?MOD=AJPERES> Acessado em junho de 2014.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº 359, de 23 de dezembro de 2003c. Disponível em: <http://www.crn3.org.br/legislacao/doc/RDC_359-2003.pdf> Acessado em junho de 2014.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resoluções: RE nº 899, de 29 de maio de 2003a. Disponível em:

<http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2003/re/899_03re.htm>. Acessado em abril de 2014.

Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). Disponível em: <<http://www.atsdr.cdc.gov>> Acessado em maio de 2014.

AMORIM, A.G; TIRAPEGUI, J. Aspectos atuais da relação entre exercício físico, estresse oxidativo e magnésio. *Revista de Nutrição*, v. 21, p. 563 – 575, 2008.

AMORIM, F. A. C.; LOBO, I. P; SANTOS, V. L. C. S.; FERREIRA, S. L. C. Espectrometria de absorção atômica: o caminho para determinações multi-elementares. *Química Nova*, v. 31, 2008.

ANDERSON, J.; YOUNG, L.; LONG, E. Potassium and Health, *Food and Nutrition*, n 9.355, 2008.

ARRUDA, M. A. Z.; SANTELLI, R. E. Mecanização no preparo de amostras por microondas: o estado da arte. *Química Nova*, v. 20, p. 638 – 643, 1997.

Associação Brasileira do Alumínio (ABAL). Fundamentos e aplicações do alumínio, 2007. Disponível em: <<http://www.abal.org.br>> Acessado em maio de 2014.

Associação Nacional de Exportadores de Sucos Cítricos (CITRUS). Disponível em: < <http://www.citrusbr.com>> Acessado em maio de 2014.

AZEVEDO, F. A.; CHASIN, A. A. M. Metais: Gerenciamento da toxicidade. São Paulo: Editora Atheneu, p. 554, 2003.

BORGES, A. R.; BECKER, E. M.; DESSUY, M. B.; VALE, M. G. R.; WELZ, B. Investigation of chemical modifiers for the determination of lead in fertilizers and limestone using graphite furnace atomic absorption spectrometry with Zeeman-

effect background correction and slurry sampling. *Spectrochimica Acta Part B*, n. 92, p. 1 - 8, 2014.

BOSS, C. B.; FREDEEN, K. J. Concepts, instrumentation, and techniques in Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry. Perkin Elmer, USA, 104 f. 1989.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Princípios gerais para o estabelecimento de níveis máximos de contaminantes químicos em alimentos. Legislação: Portaria nº 685 de 27 de agosto de 1998.

BRITO, J. C. F.; COUTINHO, M. A. P.; ALMEIDA, H. J. F.; NÓBREGA, P. V. Doença de Wilson - Diagnóstico clínico e sinais das “faces do Panda” à ressonância magnética. *Arquivos de Neuro-Psiquiatria*, v. 63, p. 176 – 179, 2005.

BURGUERA, J. L.; BURGUERA, M. Recent on-line processing procedures for biological samples for determination of trace elements by atomic spectrometric methods. *Spectrochimica Acta Part B*, n. 64, p. 451 – 458, 2009.

CARNEIRO, C.; REISSMANN, C. B.; MARQUES, R. Comparação de métodos de análise química de K, Ca, Mg e Al, em folhas de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). *Cerne*, v. 12, p. 113 – 122, 2006.

CHASIN, A. A. M.; NASCIMENTO, E. S.; RIBEIRO-NETO, L.M.; SIQUEIRA, M. E. P. B.; ANDRAUS, M. H.; SALVADORI, M. C.; FERNÍCOLA, N. A. G.; GORNI, R.; SALCEDO, S. Validação de métodos em análises toxicológicas: uma abordagem geral. *Revista brasileira de toxicologia*, v. 11, p. 1 – 6, 1998.

Commission regulation nº 1881/2006 of 19 december 2006. Setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs, Official Journal of the European Union L364/5-24 from 20/12/2006.

Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB). Ficha de Informação Toxicológica (FIT). Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br/userfiles/file/laboratorios/fit/cobre.pdf>> Acessado em abril de 2014.

Companhia Vale do Rio Doce (VALE), Empresa de mineração. Disponível em: <<http://www.vale.com/Brasil/PT/Paginas/Default.aspx>> Acessado em abril de 2014.

CORREIA, P. R. M.; NOMURA, C. S.; OLIVEIRA, P. V. Espectrometria de absorção atômica multielementar: desafios e perspectivas. Revista Analytica, p. 52 – 59, 2003.

DIAS, A. G.; COSTA, M. A.; GUIMARÃES, P. I. C. Guia prático de química orgânica. Rio de Janeiro: Interciência, v. 1, p. 127, 2004.

EFING, L. M. A. C. Compostos bioativos do material resinoso, subproduto do processamento da erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.- Hil.). 2008. 108 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

Embalagens Tetra Pak (Tetra Pak®). Disponível em: <<http://www.tetrapak.com/br>> Acessado em maio de 2014.

Empresa paranaense de assistência técnica e extensão rural (EMATER). Manual da erva-mate (*Ilex paraguariensis*). Curitiba, 1991.

ERNST, E. Toxic heavy metals and undeclared drugs in Asian herbal medicines. Trends in Pharmacological Sciences, v. 23, p. 136 - 139, 2002.

ESMELINDRO, M. C.; TONIAZZO, G.; WACZUK, A.; DARIVA, C.; OLIVEIRA, D. Caracterização físico-química da erva-mate: influência das etapas do

processamento industrial. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 22, p. 193 - 204, 2002.

FERREIRA, S. L.C.; SILVA, L. O. B.; SANTANA, F. A.; JUNIOR, M. M. S.; MATOS, G. D.; SANTOS, W. N. L. A review of reflux systems using cold finger for sample preparation in the determination of volatile elements. *Microchemical Journal*, v. 106, p. 307 – 310, 2013.

FILIP, R.; LÓPEZ, P.; COUSSIO, J.; FERRARO, G. Mate substitutes or adulterants: study of xanthine content. *Phytotherapy Research*, v. 12, p. 129 - 131, 1998.

FILIP, R.; LÓPEZ, P.; GIBERTI, G.; COUSSIO, J.; FERRARO, G. PHENOLIC compounds in seven South American *Ilex* species. *Fitoterapia*, v. 72, p. 774 – 778, 2001.

FILIP, R.; LOTITO, S. B.; FERRARO, G.; FRAGA, C. G. Antioxidant activity of *ilex paraguariensis* and related species. *Nutrition Research*, v. 20, p. 1437 – 1446, 2000.

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

FLORIAN, D.; KNAPP, G. High-temperature, microwave-assisted UV digestion: A promising sample preparation technique for trace element analysis. *Analytical Chemistry*, v. 73, p. 1515 – 1520, 2001.

Food Ingredients Brasil – Dossiê: Os minerais na alimentação – N° 4, 2008. Disponível em: <<http://www.revista-fi.com>> Acessado em abril de 2014.

FRESCHI, G. P. G.; SINABUCRO, C. D.; GOMES NETO, J. A.; MORAES, M. Espectrometria de absorção atômica multielementar simultânea com atomização eletrotérmica em forno de grafite – uma revisão da técnica e aplicações. *Eclética Química*, v. 25, 2000.

FROES, R. E. S.; NETO, W. B.; SILVA, N. O. C.; NAVEIRA, R. L. P.; NASCENTES, C. C.; SILVA, J. B. B. Multivariate optimization by exploratory analysis applied to the determination of microelements in fruit juice by inductively coupled plasma optical emission spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B*, v. 64, p. 619 - 622, 2009.

GONZALEZ, M. H.; SOUZA, G. B.; OLIVEIRA, R. V.; FORATO, L. A.; NÓBREGA, J. A.; NOGUEIRA, A. R. A. Microwave-assisted digestion procedures for biological samples with diluted nitric acid: Identification of reaction products. *Talanta*, v. 79, p. 396 – 401, 2009.

GUINÉ, M. F. Espectrometria de emissão atômica com plasma acoplado indutivamente. (ICP-AES). 1ª ed. Piracicaba. 148 f. 1998.

HEINRICHS, R.; MALAVOLTA, E. Composição Mineral do Produto Comercial da Erva-Mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). *Ciência Rural*, v. 31, p. 781 - 783, 2001.

HOLLER, F. J.; SKOOG, D. A.; CROUCH, S. R. Princípios de de análise instrumental. 6ª edição, Bookman: Porto Alegre, p. 1059, 2009.

HOU, X.; JONES, B. T. Inductively Coupled Plasma/Optical Emission Spectrometry. *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, John Wiley & Sons Ltd, Chichester, p. 9468 – 9485, 2000.

HUANG, X. Iron overload and its association with cancer risk in humans: evidence for iron as a carcinogenic metal. *Mutation Research*, v. 533, p. 153 – 171, 2003.

Instituto Brasileiro de Florestas (IBF). Disponível em: <<http://www.ibflorestas.org.br/>> Acessado em maio de 2014.

Instituto Brasileiro de Frutas (IBRAF). Disponível em: < <http://www.ibraf.org.br>> Acessado em maio de 2014.

Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO). Orientação sobre validação de métodos analíticos. Documento de caráter orientativo, DOC-CGCRE-08, p. 20, 2010.

International Lead Association (ILA). Lead facts – Statistics e Lead facts – Production. Disponíveis em: < <http://www.ila-lead.org/lead-facts/statistics>> e < <http://www.ila-lead.org/lead-facts/lead-production>>. Acessado em março de 2014.

JALBANI, N.; AHMED, F.; GUL KAZI, T.; RASHID, U.; MUNSHI, A. B.; KANDHRO, A. Determination of essential elements (Cu, Fe and Zn) in juices of commercially available in Pakistan. Food and Chemical Toxicology, v. 48, p. 2737 - 2740, 2010.

KARA, D. Evaluation of trace metal concentrations in some herbs and herbal teas by principal component analysis. Food Chemistry, v. 114, p. 347 - 354, 2009.

KING, J. C.; SHAMES, D. M.; WOODHOUSE, L. R. Zinc Homeostasis in Humans. The journal of nutrition, v. 130, p. 1360S – 1366S, 2000.

KLAIC, P. M. A.; NUNES, A. M.; MOREIRA, A. S.; VENDRUSCOLO, C. T.; RIBEIRO, A. S. Determination of Na, K, Ca and Mg in xanthan gum: Sample treatment by acid digestion. Carbohydrate Polymers, v. 83, p. 1895 – 1900, 2011.

KORN, M. G. A.; BOA MORTE, E. S.; SANTOS, D. C. M. B.; CASTRO, J. T.; José Tiago Pereira BARBOSA, J. T. P.; TEIXEIRA, A. P.; FERNANDES, A. P.; WELZ, B.; SANTOS, W. P. C.; SANTOS, E. B. G. N.; KORN, M. Sample preparation for the determination of metals in food samples using spectroanalytical methods - a review. *Applied Spectroscopy Reviews*, v. 43, p. 67 – 92, 2008.

KOURY, J. C.; DONANGELO, C. M. Zinco, estresse oxidativo e atividade física, *Revista de Nutrição*. v. 16, p. 433 – 441, 2003.

KRUG, F. J. Métodos de preparo de amostras: fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar. 1ª edição, Piracicaba, p. 340, 2010.

LENARDÃO, E. J.; FREITAG, R. A.; DABDOUB, M. J.; BATISTA, A. F. C.; SILVEIRA, C. C. “Green chemistry” – os 12 princípios da química verde e sua inserção nas atividades de ensino e pesquisa. *Química Nova*, v. 26, p. 123 - 129, 2003.

LONG, G. L.; WINEFORDNER, J. D. Limit of detection: a closer look at the IUPAC definition. *Analytical Chemistry*, v. 55, p. 712 A – 724 A, 1983.

LUKASKI, H. C. Micronutrients (magnesium, zinc, and copper): are mineral supplements needed for athletes? *International journal of sport nutrition*. v. 5, p. 74S – 83S, 1995.

LUKASKI, H.C. Vitamin and mineral status: effects on physical performance. *Nutrition*, v. 20, p.632 - 644, 2004.

MALIK, J.; FRANKOVA, A.; DRABEK, O.; SZAKOVA, J.; ASH, C.; KOKOSKA, L. Aluminium and other elements in selected herbal tea plant species and their infusions. *Food Chemistry*, v. 139, p. 728 - 734, 2013.

MASSON, P.; DAUTHIEU, M.; TROLARD, F.; DENAIX, L. Application of direct solid analysis of plant samples by electrothermal vaporization-inductively coupled plasma atomic emission spectrometry: Determination of Cd and Si for environmental purposes. *Spectrochimica Acta Part B*, v. 62, p. 224 – 230, 2007.

MEDRADO, M. J. S.; MOSELE, S. H. O futuro da investigação científica em erva-mate. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), doc. 92, p. 1 – 64, 2004.

MERTZ, W. Chromium in human nutrition: a review. *Journal of Nutrition*, v. 123, p. 626-633, 1993.

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Lei nº 8.918, de 14 de Julho de 1994. Dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas, autoriza a criação da comissão intersetorial de bebidas e dá outras providências. Disponível em: <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal>> Acessado em junho de 2014.

MITRA, S. Sample preparation techniques in analytical chemistry. John Wiley & Sons, p. 472, 2003.

MORAES, N. C. Abatimento de drenagem ácida de mina com cobertura de entulho de construção civil: Uma proposta de reabilitação de uma antiga mina de pirita. 2010. 206 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mineral) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Mineral, Universidade Federal de Ouro Preto, Escola de Minas, Departamento de Engenharia de Minas, Ouro Preto, 2010.

MONTEIRO, T. H.; VANUCCHI, H. Funções Plenamente Reconhecidas de Nutrientes – Magnésio. *International Life Sciences Institute do Brasil*, v. 16, p. 2 – 20, 2010.

NAIME, R.; SANTOS, K. L.; MICHAELSEN, J.; ARANDT, H. Diagnóstico da gestão de resíduos sólidos no município de Dois Irmãos (RS). Estudos Tecnológicos, v. 6, p. 48 – 56, 2010.

NEMATİ, K.; BAKAR, N. K. A.; ABAS, M. R. B.; SOBHANZADEH, E.; LOW, K. H. Comparative study on open system digestion and microwave assisted digestion methods for metal determination in shrimp sludge compost. Journal of Hazardous Materials, v. 182, p. 453 – 459, 2010.

NIEUWENHUIZE, J.; POLEY-VOS, C. H.; AKKER, A. H.; DELFT, W. Comparison of microwave and conventional extraction techniques for the determination of metals in soil, sediment and sludge samples by atomic spectrometry. Analyst, v. 116, p. 347 – 351, 1991.

NÓBREGA, J. A.; TREVIZAN, L. C.; ARAÚJO, G. C. L.; NOGUEIRA, A. R. A. Focused-microwave-assisted strategies for sample preparation. Spectrochimica Acta Part B, v. 57, p. 1855 – 1876, 2002.

NOMURA, C. S.; SILVA, C. S.; OLIVEIRA, P. 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.

NOOKABKAEW, S.; RANGKADILOK, N.; SATAYAVIVAD, J. Determination of trace elements in herbal tea products and their infusions consumed in Thailand. Journal of agricultural and food chemistry, v. 54, p. 6939 – 6944, 2006.

OLIVEIRA, E. Sample preparation for atomic spectroscopy: evolution and future trends. Journal of the Brazilian Chemical Society, v. 14, p. 174 - 182, 2003.

OLIZ, C. M.; PEREIRA, C. C.; VIEIRA, M. A.; RIBEIRO, A. S.; NUNES, A. M. Avaliação de tratamentos da amostra em microescala para a determinação de K, Mg, Na e Zn em carnes por técnicas de espectrometria atômica. Química Nova, v. 36, p. 972 - 977, 2013.

ORESTE, E. Q.; JESUS, A.; OLIVEIRA, R. M.; SILVA, M. M.; VIEIRA, M. A.; RIBEIRO, A. S. New design of cold finger for sample preparation in open system: determination of hg in biological samples by CV-AAS. *Microchemical Journal*, v. 109, p. 5 – 9, 2013a.

ORESTE, E. Q.; OLIVEIRA, R. M.; NUNES, A. M.; VIEIRA, M. A.; RIBEIRO, A. S. Sample preparation methods for determination of Cd, Pb and Sn in meat samples by GFAAS: use of acid digestion associated with a cold finger apparatus versus solubilization methods. *Analytical Methods*, v. 5, p. 1590 – 1595, 2013b.

OKADA, I. A.; SAKUMA, A. M.; MAIO, F. D.; DOVIDAUSKAS, S.; ZENEBON, O. Avaliação dos níveis de chumbo e cádmio em leite em decorrência de contaminação ambiental na região do Vale do Paraíba, Sudeste do Brasil. *Revista de Saúde Pública*, v. 31, p. 140 - 143, 1997

PerkinElmer Instruments. Guide to atomic spectroscopy techniques and applications, p. 40, 2000.

PINHEIRO, A. C. A.; LISBOA, M. T.; RIBEIRO, A. S.; NUNES, A. M.; YAMASAKI, A. Avaliação da mineralização de arroz em sistema de refluxo para a determinação de Cu, Fe, Mn e Zn por F AAS. *Química Nova*, v. 37, p. 6 - 9, 2014.

POMÍLIO, A. B.; TRAJTENBERG, S.; VITALE, S. High-performance capillary analysis of mate infusions prepared from stems and leaves of *Ilex paraguariensis* using automated micellar electrokinetic capillary chromatography. *Phytochemical Analysis*, v. 13, p. 235 - 241, 2002.

Produção agrícola municipal – Culturas temporárias e permanente. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), v. 37, p. 1 – 89, 2010b.

Produção da extração vegetal e da silvicultura. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), v. 25, p. 1 - 50, 2010a.

QUINTAES, K. D. Utensílios para alimentos e implicações nutricionais. Revista de Nutrição, v. 13, p. 151 - 156, 2000.

RAINONE, R. Avaliação de métodos analíticos para determinação de Na, K, Ca, Mg, P e S em biodiesel por ICP OES. 2011. 96 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Programa de Pós-Graduação em Química, Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

Receita Federal. Decreto nº 2.314, de 04 de setembro de 1997. Regulamenta a Lei nº 8.918, de 14 de julho de 1994, que dispõe sobre a padronização, a classificação, o registro, a inspeção, a produção e a fiscalização de bebidas. Disponível

em:<<http://www.receita.fazenda.gov.br/Legislacao/Decretos/Ant2001/Ant1999/Dec231497.htm>> Acessado em junho de 2014.

ROSA, S. E. S.; COSENZA, J. P.; LEÃO, L. T. S. Panorama do setor de bebidas no Brasil. BNDES Setorial, n. 23, p. 101 – 150, 2006.

SAIDELLES, A. P. F.; KIRCHNER, R. M.; SANTOS, N. R. Z.; FLORES, E. M. M.; BARTZ, F. R. Análise de metais em amostras comerciais de erva-mate do sul do Brasil. Alimentos e Nutrição, v. 21, p. 259 - 265, 2010.

SAIDELLES, A. P. F.; KIRCHNER, R. M.; SANTOS, N. R. Z.; FLORES, E. M. M.; BARTZ, F. R. análise de metais em amostras comerciais de erva-mate do sul do Brasil. Alimentos e Nutrição, v. 21, p. 259 - 265, 2010.

SARASWATI, R.; VETTER, T. W.; WATTERS, R. L. Comparison of reflux and microwave oven digestion for the determination of arsenic and selenium in sludge reference material using flow injection hydride generation and atomic absorption spectrometry. Analyst, v. 120, p. 95 – 99, 1995.

SARASWATI, R.; VETTER, T. W.; WATTERS, R. L. Determination of arsenic, selenium and mercury in an estuarine sediment standard reference material using flow injection and atomic absorption spectrometry. *Microchim. Acta*, v. 118, p. 163 – 175, 1995.

SARASWATI, R.; WATTERS, R. L. Determination of arsenic and selenium in spinach and tomato leaves reference materials using flow injection and atomic absorption spectrometry. *Talanta*, v. 41, p. 1781 – 1790, 1994.

SARNO, F.; CLARO, R. M.; LEVY, R. B.; BANDONI, D. H.; FERREIRA, S. R. G.; MONTEIRO, C. A. Estimativa de consumo de sódio pela população brasileira, 2002-2003. *Saúde Pública*, v. 43, p. 219 – 225, 2009.

SCHIAVO, D.; NEIRA, J. Y.; NÓBREGA, J. A. Direct determination of Cd, Cu and Pb in wines and grape juices by thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry. *Talanta*, v. 76, p. 1113 - 1118, 2008.

SCHLEMMER, G.; WELZ, B. Palladium and magnesium nitrates, a more universal modifier for graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Spectrochimica Acta*, v. 41, p.1157-1165, 1986.

SCHMALKO, M. E.; ALZAMORA, S. M. Color, chlorophyll, caffeine, and water content variation during yerba mate processing. *Drying technology*, v. 19, p. 599 - 610, 2001.

SIMPKINS, W. A.; LOUIE, H.; WU, M.; HARRISON, M.; GOLDBERG, D. Trace elements in Australian orange juice and other products. *Food Chemistry*, v. 71, p. 423 - 433, 2000.

Sindicato da Indústria do Mate no Estado do Rio Grande do Sul (Sindimate-RS). Disponível em:

<<http://www.sindimaters.com.br/pagina.php?cont=estatisticas.php&sel=9>>

Acessado em janeiro de 2014.

TAKASE, I.; PEREIRA, H. B.; LUNA, A. S.; GRINBERG, P.; CAMPOS, R. C. A geração química de vapor em espectrometria atômica. *Química Nova*, v. 25, p. 1132 – 1144, 2002.

TATSCH, F. R. P.; GONÇALVES, V. C.; MEURER, E. J. Alumínio total e solúvel em amostras de erva-mate comercializadas no rio grande do sul. *Scientia Agraria*, v. 11, p. 83 – 86, 2010.

THORNTON, I.; RAUTIU, R.; BRUSH, S. Lead: the facts. IC Consultants Ltd: London, p. 184, 2001.

TOKALIOĞLU, Ş.; GÜRBÜZ, F. Selective determination of copper and iron in various food samples by the solid phase extraction. *Food Chemistry*, v. 123, p. 183 - 187, 2010.

TÖLG, G. Extreme trace analysis of the elements – I, methods and problems of sample treatment, separation and enrichment. *Talanta*, v. 19, p. 1489 – 1521, 1972.

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

TRUMBO, P.; YATES, A. A.; SCHLICKER, S.; POOS, M. Dietary Reference Intakes: Vitamin A, vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium and zinc. *Journal of the american dietetic association*, v. 101, p. 294 - 301, 2001.

VANNUCCHI, H.; MARCHINI, J. S. *Nutrição Clínica – Nutrição e Metabolismo*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007.

VENEZUELA, T. C. Determinação de contaminantes metálicos (metal tóxico) num solo adubado com composto de lixo em área olerícola no município de Nova Friburgo. 2001. 96 f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) - Escola Nacional de Saúde Pública Centro de Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2001.

WALSH, A. The application of atomic absorption spectra to chemical analysis. *Spectrochimica Acta*, v. 7, p. 108 - 117, 1955.

WELZ, B.; SPERLING, M. *Atomic Absorption Spectrometry*. 3rd edition, Wiley-vch: Germany, p. 955, 1999.

WILLIAMS, A. B.; AYEJUYO, O. O.; OGUNYALE, A. F. Trace metal levels in fruit juices and carbonated beverages in Nigeria. *Environmental Monitoring and Assessment*, v. 156, p. 303 - 306, 2009.

World Health Organization (WHO). *Exposure to lead: a major public health concern*. Geneva, p. 6, 2010a.

World Health Organization (WHO). *Guideline: sodium intake for adults and children*. Geneva, p. 46, 2012a.

World Health Organization (WHO). *Guideline: Potassium intake for adults and children*. Geneva, p. 52, 2012b.

World Health Organization (WHO). *Manganese and its compounds*, Geneva, p. 42, 1999.

World Health Organization (WHO). *Strategies to monitor and evaluate population sodium consumption and sources of sodium in the diet*. Report of a

joint technical meeting convened by WHO and Government of Canada. Canada, 2010b.

World Health Organization (WHO). Specifications for the identity and purity of food additives and their toxicological evaluation: some emulsifiers and stabilizers and certain other substances. Geneva, p. 1 – 48, 1966.

World Health Organization (WHO). Trace elements in human nutrition and health. Geneva, p. 343, 1996.

WRÓBEL, K.; WRÓBEL, K.; URBINA, E. M. C. Determination of total aluminum, chromium, copper, iron, manganese, and nickel and their fractions leached to the infusions of black tea, green tea, Hibiscus sabdariffa and Ilex paraguariensis (mate) by ETA-AAS. Biological Trace Element Research, v. 78, p. 271 - 280, 2000.

YIN, P.; QU, R.; LIU, X.; DONG, X.; XU, Q. Analysis of lead in beverage juice using mesoporous cadmium phosphate as a solid phase adsorbent. Food Chemistry, v. 148, p. 307 - 313, 2014.

ZAFRA-ROJAS, Q. Y.; CRUZ-CANSINO, N.; RAMÍREZ-MORENO, E.; DELGADO-OLIVARES, L.; VILLANUEVA- SÁNCHEZ, J.; ALANÍS-GARCÍA, E. Effects of ultrasound treatment in purple cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) juice. Ultrasonics Sonochemistry, v. 20, p. 1283 – 1288, 2013.