

**Universidade Federal de Minas Gerais**  
**Instituto de Ciências Exatas**  
**Departamento de Química**

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS ANALÍTICOS PARA DETERMINAÇÃO DE  
As, Cd, Ni e Pb EM BATATA E EM MANDIOCA PRODUZIDAS EM REGIÕES  
MINEIRAS EMPREGANDO ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA EM  
FORNO DE GRAFITE**

**Reginaldo Ferreira de Oliveira**

**Belo Horizonte**

**2009**

UFMG-ICE<sub>x</sub>/DQ. 788<sup>a</sup>

D. 460<sup>a</sup>

Reginaldo Ferreira de Oliveira

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS ANALÍTICOS PARA DETERMINAÇÃO DE  
DE As, Cd, Ni e Pb EM BATATA E EM MANDIOCA PRODUZIDAS EM REGIÕES  
MINEIRAS EMPREGANDO ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA EM  
FORNO DE GRAFITE**

Dissertação apresentada ao Departamento de Química do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Química – Química Analítica.

**Orientador: Dr. José Bento Borba da Silva**

**Co-orientadora: Dra. Cláudia Carvalhinho Windmöller**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**

**Belo Horizonte**

**2009**

Oliveira, Reginaldo Ferreira de.

Desenvolvimento de métodos analíticos para determinação de As, Cd, Ni e Pb em batata e em mandioca produzidas em regiões mineiras empregando espectrometria de absorção atômica em forno de grafite / Reginaldo Ferreira de Oliveira. 2009.

046d  
2009  
D

xiv, 67 f. : il.

Orientador: José Bento Borba da Silva.

Co-orientadora: Cláudia Carvalhinho Windmöller.

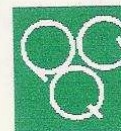
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais. Departamento de Química.  
Inclui bibliografia.

1.Química analítica - Teses 2. Absorção atômica – Teses 3.Contaminantes inorgânicos – Teses 4. Otimização multivariada – Teses 5.Batata – Teses 6. Mandioca- Teses 7.Química ambiental - Teses I. Silva, José Bento Borba da II. Windmöller, Cláudia Carvalhinho, Co-orientadora III. Título.

CDU 043



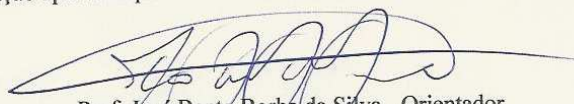
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA - ICEX  
31270-901 - BELO HORIZONTE - MG  
TEL.: 031 - 3409-5732  
FAX: 031 - 3409-5711  
E-MAIL: pgquimic@qui.ufmg.br



**"Desenvolvimento de Métodos Analíticos para Determinação de As, Cd, Ni e Pb  
em Batata e em Mandioca Produzidas em Regiões Mineiras Empregando  
Espectrometria de Absorção Atômica em Forno de Grafite"**

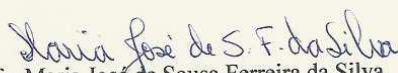
**Reginaldo Ferreira de Oliveira**

Dissertação aprovada pela banca examinadora constituída pelos Professores:

  
Prof. José Bento Borba da Silva - Orientador  
UFMG

  
Prof. Cláudia Carvalhinho Windmöller - Co-Orientadora  
UFMG

  
Prof. Clésia Cristina Nascentes  
UFMG

  
Prof. Maria José de Sousa Ferreira da Silva  
UFMG

Belo Horizonte, 18 de setembro de 2009.

*Aos meus pais, Ferreira e “Nina”, pela motivação em sempre seguir firme, pelo amor, exemplo e carinho.*

*A Leandro, pela lealdade, incentivo e companheirismo.*

*“If you wanna make the world  
a better place  
take a look at yourself, and  
then make a change...”  
(M. Jackson, 1988)*

## **Agradecimentos**

À Prof<sup>ª</sup>. Dra. Cláudia pela magnífica orientação, paciência e ensinamentos diversos.

Ao Prof. Dr. José Bento pela co-orientação, estímulo e oportunidade concedida.

Ao Dr. Waldomiro pela colaboração, amizade, e pelas variadas críticas e sugestões.

A todos os colegas do Grupo de Espectrometria Atômica e Preparo de Amostras (GEAPA) por terem me apoiado nos melhores e mais agitados dias dessa fase de minha vida. “São todos um orgulho para a UFMG!”

Aos meus familiares, em especial, meus irmãos, que sempre me respeitaram e muitas vezes encontraram em mim um exemplo.

Aos meus amigos Luciana, Clayton e Diego, pessoas importantes em fases diversas de minha vida e que até hoje caminham comigo.

Aos funcionários do Departamento de Química da UFMG, em especial às secretárias do Programa de Pós-Graduação em Química, pela prontidão e simpatia no atendimento e concessão das mais diversas e necessárias informações.

Às agências de fomento FAPEMIG, CNPq e CAPES pela bolsa, recursos e verbas concedidos, sem os quais esse trabalho seria inexecutável.

Muito obrigado.

## Resumo

Neste trabalho são apresentados métodos desenvolvidos para determinação direta de As, Pb, Ni e Cd em alimentos – batata e mandioca - cultivados em terras mineiras, sendo algumas na região do Quadrilátero Ferrífero, sem necessidade de digestão, havendo um simples preparo prévio dessas amostras e utilizando a técnica de espectrometria de absorção atômica em forno de grafite. Com as amostras de alimentos foi preparada uma suspensão que foi injetada automaticamente no GF AAS. A otimização dos parâmetros de análise foi realizada através de otimização multivariada, que consistiu de três etapas: um experimento para triagem de modificadores permanentes, planejamento fatorial completo seguido de planejamento composto central. Em todos os métodos propostos foram estudadas as melhores temperaturas de pirólise e de atomização, bem como o uso de modificadores permanentes. O efeito da matriz foi avaliado por meio dos testes estatísticos, sendo comparadas as inclinações das curvas de calibração construídas. A sensibilidade de cada método foi determinada através das massas características ( $m_o$ ) e dos limites de quantificação (LQ). A exatidão foi avaliada por experimentos com recuperações dos metais em amostras fortificadas com diferentes concentrações de cada metal e, nos métodos para cádmio e arsênio, foi também utilizado de material de referência certificado. A precisão foi determinada em ensaios efetuados em um mesmo dia (precisão intra-ensaio) e em dias diferentes (precisão inter-ensaios). Os métodos apresentaram parâmetros compatíveis com a técnica empregada, comparados com dados disponíveis na literatura. Algumas amostras de mandioca e de batata, analisadas com os métodos propostos, apresentaram valores de concentração que acenam para problemas em algumas áreas de cultivo, em concordância com trabalhos já realizados ou em estudos em andamento.

## Abstract

In this dissertation methods to determine arsenic, lead, nickel and cadmium in food are described, more precisely in potato and manioc, grown in the Minas Gerais state territory in Brazil, which is also known as “Quadrilátero Ferrífero” (an area in the state where mining for ore and other metals is a current major economic activity). In the methods proposed there was no need of previous digestion, using the Graphite furnace atomic absorption spectrometry technique. A slurry was prepared with the food samples and was automatically injected into GF AAS. The parameters of analysis were optimized through the multivariate method, which consisted of an experiment of selection of variables (complete factorial planning), followed by a surface response method (Central Composite Design – CCD). For all methods the optimal temperature of pyrolysis and atomization were evaluated as well as the use of permanent modifiers. The effect of the matrix was verified in each method through statistical Student’s t-test and in most cases, the aqueous calibration became viable. The sensitivity was analysed through characteristic mass ( $m_o$ ) and quantification limits (LOQ). Accuracy studies were carried out by recovering metals in fortified samples in several levels of concentrations of each metal and, for cadmium and arsenic methods, certified reference material (CRM) was also utilized. The precision was determined in tests carried out on the same day (precision intra-assay) and on different days (precision inter-assay). The methodologies presented parameters compatible to the employed technique, compared to data available in the specific literature. Some samples of manioc and potato, analysed with the proposed methods, presented values of concentration that point towards problems in some cropping areas, in accordance with previous work and research that have already been done.

## Sumário

|                                                             |            |
|-------------------------------------------------------------|------------|
| Dedicatória                                                 | <i>IV</i>  |
| Agradecimentos                                              | <i>V</i>   |
| Resumo                                                      | <i>VI</i>  |
| Abstract                                                    | <i>VII</i> |
| Lista de ilustrações                                        | <i>XI</i>  |
| Lista de tabelas                                            | <i>XII</i> |
| Lista de abreviaturas e siglas                              | <i>XIV</i> |
| 1. Introdução                                               | <i>1</i>   |
| 1.1. Os analitos                                            | <i>3</i>   |
| 1.1.1. Arsênio                                              | <i>3</i>   |
| 1.1.2. Cádmio                                               | <i>4</i>   |
| 1.1.3. Níquel                                               | <i>5</i>   |
| 1.1.4. Chumbo                                               | <i>7</i>   |
| 1.2. As matrizes                                            | <i>8</i>   |
| 1.2.1. Batata                                               | <i>8</i>   |
| 1.2.2. Mandioca                                             | <i>9</i>   |
| 1.3. Espectrometria de absorção atômica em forno de grafite | <i>10</i>  |
| 1.4. Quimiometria                                           | <i>12</i>  |
| 1.4.1. Planejamentos fatoriais                              | <i>13</i>  |
| 1.4.2. Planejamento composto central (CCD)                  | <i>14</i>  |
| 1.5. Validação analítica                                    | <i>15</i>  |
| 1.5.1. Linearidade                                          | <i>16</i>  |
| 1.5.2. Efeito da matriz                                     | <i>16</i>  |
| 1.5.3. Limites de detecção e de quantificação               | <i>17</i>  |
| 1.5.4. Precisão                                             | <i>17</i>  |
| 1.5.5. Exatidão                                             | <i>18</i>  |

|                                                                    |    |
|--------------------------------------------------------------------|----|
| 1.5.5. 1. Materiais de referência certificados (MRC)               | 18 |
| 1.5.5.2. Recuperação                                               | 18 |
| 1.5.6. Sensibilidade                                               | 18 |
| 2. Materiais e métodos                                             | 19 |
| 2.1. Materiais                                                     | 19 |
| 2.1.1. Equipamentos e acessórios                                   | 19 |
| 2.1.2. Reagentes                                                   | 20 |
| 2.2. Métodos                                                       | 21 |
| 2.2.1. Obtenção dos modificadores permanentes nos tubos de grafite | 21 |
| 2.2.2. Amostras e procedimentos de preparo de amostras             | 22 |
| 2.3. Otimização das condições analíticas                           | 23 |
| 2.4. Validação dos métodos                                         | 24 |
| 3. Resultados e discussão                                          | 24 |
| 3.1. Metodologia para arsênio em amostras de batata                | 24 |
| 3.1.1. Otimização das condições analíticas                         | 24 |
| 3.1.2. Validação do método                                         | 28 |
| 3.1.3. Determinação de arsênio em amostras de batata               | 30 |
| 3.1.4. Conclusões para determinação de arsênio em batata           | 31 |
| 3.2. Metodologia para cádmio em amostras de batata                 | 31 |
| 3.2.1. Otimização das condições analíticas                         | 31 |
| 3.2.2. Validação do método                                         | 34 |
| 3.2.3. Determinação de cádmio em amostras de batata                | 36 |
| 3.2.4. Conclusões para determinação de cádmio em batata            | 36 |
| 3.3. Metodologia para níquel em amostras de batata                 | 37 |
| 3.3.1. Otimização das condições analíticas                         | 37 |
| 3.3.2. Validação do método                                         | 40 |
| 3.3.3. Determinação de níquel em amostras de batata                | 41 |

|                                                                                     |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3.3.4. Conclusões para determinação de níquel em batata                             | 42 |
| 3.4. Metodologia para chumbo em batata                                              | 42 |
| 3.4.1. Otimização das condições analíticas                                          | 42 |
| 3.4.2. Validação do método                                                          | 45 |
| 3.4.3. Determinação de chumbo em batata                                             | 47 |
| 3.4.4. Conclusões para determinação de chumbo em amostras de batata                 | 47 |
| 3.5. Resumo de dados obtidos na determinação de contaminantes inorgânicos em batata | 48 |
| 3.6. Metodologia para arsênio, cádmio, níquel e chumbo em mandioca                  | 48 |
| 3.6.1. Otimização das condições analíticas                                          | 48 |
| 3.6.2. Validação dos métodos para mandioca                                          | 53 |
| 3.6.3. Determinação de As, Cd, Ni e Pb em amostras de mandioca                      | 56 |
| 3.6.4. Conclusões para determinação de As, Cd, Ni e Pb em amostras de mandioca      | 56 |
| 4. Conclusões finais                                                                | 57 |
| 5. Referências                                                                      | 58 |

## Lista de Ilustrações

|                                                                                                                                |           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Figura 1.1</b> – Programa de temperatura de um forno de grafite                                                             | <b>11</b> |
| <b>Figura 1.2</b> – Esquema de um planejamento composto central                                                                | <b>15</b> |
| <b>Figura 2.1</b> – Uso de aerador de aquário para manter suspensão homogênea.                                                 | <b>20</b> |
| <b>Figura 2.2</b> – Plataformas de L’Vov, tubos de grafite e corte de um tubo com plataforma de L’Vov.                         | <b>21</b> |
| <b>Figura 2.3</b> – Frascos de liofilização e frascos acoplados ao liofilizador.                                               | <b>23</b> |
| <b>Figura 2.4</b> – Pico típico em análise por GF AAS                                                                          | <b>24</b> |
| <b>Figura 3.1</b> – Gráfico de Pareto gerado a partir do planejamento fatorial para As em batata.                              | <b>26</b> |
| <b>Figura 3.2</b> – Superfície de resposta obtida a partir do CCD da metodologia para As em batata.                            | <b>28</b> |
| <b>Figura 3.3</b> – Estudo do efeito da matriz da metodologia para arsênio em batata                                           | <b>29</b> |
| <b>Figura 3.4</b> – Gráfico de Pareto gerado a partir do planejamento fatorial para Cd em batata.                              | <b>32</b> |
| <b>Figura 3.5</b> – Superfície de resposta obtida a partir do CCD da metodologia para Cd em batata                             | <b>33</b> |
| <b>Figura 3.6</b> – Estudo do efeito da matriz da metodologia para cádmio em batata                                            | <b>34</b> |
| <b>Figura 3.7</b> – Gráfico de Pareto gerado a partir do planejamento fatorial para Ni em batata.                              | <b>38</b> |
| <b>Figura 3.8</b> – Superfície de resposta obtida a partir do CCD da metodologia para Ni em batata.                            | <b>39</b> |
| <b>Figura 3.9</b> – Estudo do efeito da matriz da metodologia para níquel em batata                                            | <b>40</b> |
| <b>Figura 3.10</b> – Gráfico de Pareto gerado a partir do planejamento fatorial para Pb em batata                              | <b>43</b> |
| <b>Figura 3.11</b> – Superfície de resposta obtida a partir do CCD da metodologia para Pb em batata                            | <b>44</b> |
| <b>Figura 3.12</b> – Estudo do efeito da matriz da metodologia para chumbo em batata                                           | <b>45</b> |
| <b>Figura 3.13</b> – Gráficos de Pareto gerado em cada planejamento fatorial para arsênio, cádmio, níquel e chumbo em mandioca | <b>50</b> |
| <b>Figura 3.15a</b> – Superfície de resposta obtida a partir do CCD para As e Cd em mandioca                                   | <b>51</b> |
| <b>Figura 3.15b</b> – Superfície de resposta obtida a partir do CCD para Ni e Pb em mandioca.                                  | <b>52</b> |
| <b>Figura 3.16a</b> – Estudo do efeito da matriz da metodologia para As e Cd em mandioca                                       | <b>53</b> |
| <b>Figura 3.16b</b> – Estudo do efeito da matriz da metodologia para de Ni e Pb em mandioca                                    | <b>54</b> |

## Lista de tabelas

|                                                                                                                                           |           |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Tabela 2.1</b> – Condições operacionais para o GF AAS de acordo com os analitos                                                        | <b>20</b> |
| <b>Tabela 2.2</b> – Programa de temperatura de forno para tratamento da plataforma do tubo com modificadores permanentes                  | <b>21</b> |
| <b>Tabela 2.3</b> – Codificação das amostras de batata e mandiocas analisadas                                                             | <b>22</b> |
| <b>Tabela 2.4</b> – Programa de da moagem criogênica                                                                                      | <b>23</b> |
| <b>Tabela 3.1</b> – Programa de temperatura de forno para triagem de modificadores permanentes para diferentes constituintes inorgânicos. | <b>25</b> |
| <b>Tabela 3.2</b> – Matriz de experimentos do planejamento fatorial para As em batata                                                     | <b>26</b> |
| <b>Tabela 3.3</b> – Matriz de experimentos do CCD para As em batatas utilizando-se tubo com a plataforma tratada com irídio               | <b>27</b> |
| <b>Tabela 3.4</b> – Programa de aquecimento otimizado para determinação de arsênio em batata                                              | <b>28</b> |
| <b>Tabela 3.5</b> – Parâmetros de mérito obtidos para a metodologia de As em batata.                                                      | <b>30</b> |
| <b>Tabela 3.6</b> – CV intra-ensaio e inter-ensaios obtidos para a metodologia de As em batata.                                           | <b>30</b> |
| <b>Tabela 3.7</b> – Recuperações de arsênio em batata.                                                                                    | <b>30</b> |
| <b>Tabela 3.8</b> – Teor de arsênio em batata obtido com o método proposto.                                                               | <b>31</b> |
| <b>Tabela 3.9</b> – Matriz de experimentos do planejamento fatorial para Cd em batata                                                     | <b>32</b> |
| <b>Tabela 3.10</b> – Matriz de experimentos do CCD para cádmio em batata utilizando tubo com a plataforma tratada com titânio.            | <b>33</b> |
| <b>Tabela 3.11</b> – Programa de aquecimento otimizado para determinação de cádmio em batata                                              | <b>34</b> |
| <b>Tabela 3.12</b> – Parâmetros de mérito obtidos para a metodologia de Cd em batata.                                                     | <b>35</b> |
| <b>Tabela 3.13</b> – CV intra-ensaio e inter-ensaios obtidos para a metodologia de Cd em batata.                                          | <b>35</b> |
| <b>Tabela 3.14</b> – Recuperações de cádmio em batata.                                                                                    | <b>36</b> |
| <b>Tabela 3.15</b> – Teor de cádmio em batata obtido com o método proposto.                                                               | <b>36</b> |
| <b>Tabela 3.16</b> – Matriz de experimentos do planejamento fatorial para Ni em batata.                                                   | <b>37</b> |
| <b>Tabela 3.17</b> – Matriz de experimentos do CCD para níquel em batata utilizando tubo com a plataforma tratada com nióbio.             | <b>38</b> |
| <b>Tabela 3.18</b> – Programa de aquecimento otimizado para determinação de níquel em batata.                                             | <b>39</b> |
| <b>Tabela 3.19</b> – Parâmetros de mérito obtidos para a metodologia de Ni em batata.                                                     | <b>41</b> |
| <b>Tabela 3.20</b> – Coeficientes de variação intra-ensaio e inter-ensaios obtidos na determinação de níquel em batata                    | <b>41</b> |
| <b>Tabela 3.21</b> – Recuperações de níquel em batata.                                                                                    | <b>41</b> |
| <b>Tabela 3.22</b> – Teor de níquel no batata obtido com o método proposto.                                                               | <b>42</b> |
| <b>Tabela 3.23</b> – Matriz de experimentos do planejamento fatorial para chumbo em batata.                                               | <b>43</b> |
| <b>Tabela 3.24</b> – Matriz de experimentos do CCD para chumbo em batata utilizando tubo com a plataforma tratada com titânio.            | <b>44</b> |

|                                                                                                                      |           |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Tabela 3.25</b> – Programa de aquecimento otimizado para determinação de chumbo em batata                         | <b>45</b> |
| <b>Tabela 3.26</b> – Parâmetros de mérito para o método de determinação de chumbo em batata.                         | <b>46</b> |
| <b>Tabela 3.27</b> – CV intra-ensaio e inter-ensaios obtidos para a metodologia de Pb em batata.                     | <b>46</b> |
| <b>Tabela 3.28</b> – Recuperações de chumbo em batata.                                                               | <b>47</b> |
| <b>Tabela 3.29</b> – Teor de chumbo no batata obtido com o método proposto.                                          | <b>47</b> |
| <b>Tabela 3.30</b> - Teores de As, Cd, Ni e Pb em batata obtidos com os métodos propostos.                           | <b>48</b> |
| <b>Tabela 3.31</b> – Condições empregadas no planejamento fatorial de cada analito para sua determinação em mandioca | <b>49</b> |
| <b>Tabela 3.32</b> – Matriz de experimentos do planejamento fatorial para As, Cd, Ni e Pb em mandioca                | <b>50</b> |
| <b>Tabela 3.33a</b> – Matriz de experimentos do CCD para As e Cd em mandioca                                         | <b>51</b> |
| <b>Tabela 3.33b</b> – Matriz de experimentos do CCD para Ni e Pb em mandioca                                         | <b>52</b> |
| <b>Tabela 3.34</b> – Programa de aquecimento otimizado para determinação de As, Cd, Ni e Pb em mandioca              | <b>53</b> |
| <b>Tabela 3.35</b> – Parâmetros de mérito para os métodos de determinação de As, Cd, Ni e Pb em mandioca             | <b>54</b> |
| <b>Tabela 3.36</b> – CV intra-ensaio e inter-ensaios obtidos para As, Cd, Ni e Pb em mandioca.                       | <b>55</b> |
| <b>Tabela 3.37</b> – Recuperações de As, Cd, Ni e Pb em mandioca.                                                    | <b>55</b> |
| <b>Tabela 3.38</b> – Teores de As, Cd, Ni e Pb em mandioca obtidos com o método proposto.                            | <b>57</b> |

## Lista de siglas e abreviaturas

ATSRD – Agency for Toxic Substances and Disease Registry - USA  
ASV – Voltametria de redissolução anódica  
CCD – Planejamento composto central  
CEASA-MG – Centrais de Abastecimento de Minas Gerais S/A  
CV – Coeficiente de variação  
EDL – Lâmpada de descarga sem eletrodos  
EPA – Environment Protection Agency – USA  
ET AAS - Espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica  
Exp. - Experimentos  
FAAS – Espectrometria de absorção atômica com chama  
FAO – Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação  
FI-HG AAS – Espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos e injeção em fluxo  
FUNASA – Fundação Nacional de Saúde  
GC – Cromatografia gasosa  
GF AAS – Espectrometria de absorção atômica em forno de grafite  
HPLC – Cromatografia líquida de alta eficiência  
IARC – Agência Internacional de Pesquisas sobre Câncer  
ICP OES – Espectrometria de emissão óptica com fonte de plasma indutivamente acoplado  
ICP-MS – Espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado  
LD – Limite de detecção  
LQ – Limite de quantificação  
MRC – Material de referência certificado  
PEAD – Polietileno de alta densidade  
TA – Temperatura de Pirólise  
TP – Temperatura de Atomização  
UV/Vis – Ultravioleta/visível  
WHO – World Health Fundation (Organização Mundial da Saúde)

## 1. Introdução

O solo possui uma grande capacidade de retenção de metais pesados, porém, se essa capacidade for ultrapassada, os metais em disponibilidade no meio entram na cadeia alimentar dos organismos vivos ou são lixiviados, colocando em risco a qualidade dos recursos hídricos (DUARTE & PASQUA, 2000). Apesar de algumas espécies serem encontradas naturalmente associadas a minerais e rochas, a atividade de exploração de solo e os processos de erosão podem tornar esses contaminantes disponíveis para o meio ambiente.

A determinação dos níveis totais de elementos com potencial tóxico, como por exemplo, As, Cd, Ni e Pb em alimentos como batata e mandioca permite avaliar a possibilidade de impacto ambiental aos seres humanos devido à presença dos mesmos nos solos onde foram cultivados ou na água utilizada para irrigação dessas culturas. É importante ressaltar que há diferenças de absorção entre as diferentes espécies inorgânicas por organismos vivos, tal como seu metabolismo/excreção em nosso corpo. De qualquer maneira, a determinação proposta neste trabalho pode trazer informações de considerada relevância, uma vez que muitas lacunas sobre esse assunto ainda são encontradas na literatura.

A evolução das técnicas de análise, bem como sua aplicação em estudos diversos, permite um entendimento maior sobre a atuação dos elementos tóxicos em organismos vivos. Sendo assim, a fixação de níveis seguros para essas espécies nos mais diversificados materiais revela a sua importância, tal como a ocorrência das mais variadas linhas de pesquisas nessa orientação. Não apenas a determinação de valores seguros, mas a sua constante revisão também é relevante, visto que vários contaminantes inorgânicos apresentam diferentes efeitos em curto e em longo prazo, o que torna a avaliação da toxicidade de um composto ou elemento algo relativo, como a História comprova. De um passado não muito distante é possível encontrar relatos sobre o uso de diversos compostos como cosméticos, aditivos alimentares e fármacos (PIMENTEL et al, 2006). Muitos desses compostos atualmente têm reconhecida sua alta toxicidade, o que nos permite especular que num futuro outras substâncias hoje empregadas recebam uma limitação em seu uso. A partir dessa necessidade, o desenvolvimento de metodologias que permitam análises de traços revela a sua importância.

Dentre as técnicas empregadas na análise de contaminantes em alimentos, há um destaque para aquelas voltadas para identificação e quantificação de compostos orgânicos, principalmente pesticidas, constituintes nutricionais ou funcionais, substâncias obtidas em processamentos ou preparos, espécies com aplicações medicinais, dentre outros. Já constituintes inorgânicos recebem atenção pelo fato de serem alguns essenciais, enquanto outros são altamente tóxicos. Vale ressaltar que alguns, mesmo participantes no metabolismo de seres vivos, apresentam toxicidade a partir de certos níveis, como é o caso do ferro, cromo, cobalto, manganês, vanádio, zinco, cobre e selênio, entre outros, definidos como micronutrientes (SHARMA, 2005).

Na determinação de constituintes inorgânicos, sejam eles essenciais ou tóxicos, torna-se necessária a utilização de técnicas com alta sensibilidade. Isto se deve ao fato dos valores permitidos pela legislação

nacional ou internacional situarem na ordem de  $\text{mg kg}^{-1}$  ou inferiores. Para tanto, é comum o emprego de técnicas analíticas bastante sensíveis como a espectrometria de absorção atômica, com atomização em chama (FAAS), em forno de grafite (GF AAS), com gerador de hidretos acoplado (HG AAS) ou ainda termo-spray (TS-AAS). Outra técnica bastante empregada na determinação de constituintes inorgânicos é a espectrometria de emissão óptica com fonte de plasma indutivamente acoplado (ICP-OES) e espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) (TAYLOR et al, 2008). Considerando as técnicas que apresentam atomização em plasma (ICP), elas apresentam como principal vantagem a análise multi-elementar, sendo possível em alguns casos, a determinação de dezenas de elementos numa única análise. No entanto, são técnicas que necessitam de equipamentos de maior custo, bem como seus insumos; nem sempre é possível a introdução direta de amostra, necessitando digestão de amostras; e apresentam sensibilidade menor que algumas técnicas como é o caso da absorção atômica com atomização em chama (FEIST et al, 2008).

Dentre as técnicas de absorção atômica, tornam-se mais interessantes para determinação de traços de elementos em alimentos o GF AAS e HG AAS, uma vez que essas duas apresentam sensibilidade compatível com os níveis esperados para muitos elementos em tais amostras. No entanto, a técnica com geração de hidretos requer digestão de amostras e requer um volume relativamente maior de amostra, enquanto a técnica com forno de grafite permite a destruição da matriz no próprio equipamento, dispensando assim um processo de digestão de algumas amostras, sendo necessária apenas otimização de alguns parâmetros. Uma outra importante vantagem é a pequena quantidade de amostra necessária.

A etapa de preparo de amostra é crítica em qualquer procedimento analítico, visto que a digestão de amostras por via úmida ou seca pode ocasionar a perda de analito por volatilização, formação de resíduos insolúveis, aumento da possibilidade de haver contaminação, necessidade de ácidos concentrados, condições drásticas de temperatura e pressão, além do dispêndio de maior tempo (LIMA et al, 2001). Um meio encontrado e bastante eficaz para simplificar essa etapa é o uso de suspensões, procedimento bastante estudado e aplicado na análise de alimentos e outros materiais biológicos, que associa vantagens da amostragem sólida - simplificação do preparo, maior exatidão, com as vantagens da amostragem líquida - emprego de injetores automáticos e construção de curvas de calibração com soluções aquosas (SANTOS Jr., 2002). Suspensões foram estudadas na determinação de constituintes inorgânicos de materiais diversos, desde alimentos, como farinha (GONZÁLEZ, 1999), mel (GARCIA-LOPEZ et al, 2007), ervas medicinais (AMIN et al, 2003), e cabelo (FERREIRA et al, 2007).

Associando, portanto, as vantagens do emprego de suspensões na determinação de constituintes inorgânicos em alimentos com as vantagens proporcionadas pela técnica de espectrometria de absorção atômica com atomização em forno de grafite, com alguns dos parâmetros otimizados através de estudos quimiométricos, foram desenvolvidos métodos para determinação direta de arsênio, cádmio, chumbo e níquel em mandioca e em batata.

## 1.1 Os analitos

### 1.1.1 Arsênio

O arsênio é um elemento químico encontrado bem distribuído pela crosta terrestre. Na forma elementar apresenta-se sólido de coloração cinza metálico. Classificado muitas vezes como um metalóide, porque apresenta características de um metal, assim como outras de ametal. Ocorre naturalmente em solos e em rochas, principalmente em minérios de cobre e chumbo. Em águas naturais, o arsênio está presente principalmente na forma de compostos inorgânicos, nos estados de oxidação 3+ e 5+. A toxicidade das diversas espécies de arsênio decresce na seguinte ordem: compostos de  $\text{As}^{3+}$  inorgânico > compostos de  $\text{As}^{5+}$  inorgânico > compostos de  $\text{As}^{3+}$  orgânico > compostos de  $\text{As}^{5+}$  orgânico. Em termos de intensidade, o  $\text{As}^{3+}$  inorgânico é 60 vezes mais tóxico que o  $\text{As}^{5+}$  inorgânico (BORBA et al., 2004).

Mesmo sendo comprovada a sua alta toxicidade, já foram realizados estudos visando comprovar alguma função fisiológica desse elemento. Já foi constatada a sua essencialidade para animais como cabras, porcos, galinhas, hamsters e ratos, em que o arsênio afeta o metabolismo da metionina. Para esses animais, a suplementação da alimentação com arsênio parece revelar um efeito estimulante em seu crescimento (DECHAMPS, 2007). No entanto, não foi ainda descrito algum mecanismo bioquímico que envolva esse elemento e assim comprove a sua essencialidade para humanos.

Já foi usado em ligas, praguicidas, conservantes de madeira e até em aplicações médicas. Foi inicialmente usado em pigmentos para pinturas, mas esse uso foi interrompido tão logo foi descoberta a formação de arsina e trimetilarsina, vapores altamente tóxicos, em ambientes úmidos (DUFFUS, 1983).

Os principais modos de intoxicação por arsênio ocorrem via consumo de águas poluídas, ingestão de alimentos, contato com solo ou poeira e inalação de vapores ou material particulado contendo esse elemento. A intoxicação por arsênio pode resultar em efeitos tóxicos agudos ou crônicos, relativos a exposições curtas ou longas, respectivamente, ocasionando diferentes patologias (ATSDR, 2007).

Os efeitos carcinogênicos da intoxicação por As estão associados à exposição crônica por vários anos. Os tipos de câncer associados à exposição crônica são o câncer de pele, pulmão (inalação), próstata, bexiga, rim e fígado. A intoxicação aguda e crônica por As provoca diversas outras patologias não cancerígenas à saúde humana: cutâneas (hiperpigmentação, hiperqueratose); gastrintestinais (diarréia, hemorragias gastrintestinais); cardiovasculares (arritmias cardíacas, hipotensão e falha congestiva no coração, problemas no sistema circulatório vascular levando à gangrena); hematológicas (anemia), pulmonares (fibrose); neurológicas (dores de cabeça, confusão mental, coma); endocrinológicas (problemas no metabolismo de carboidratos e respiração celular); reprodutivas e de desenvolvimento como abortos espontâneos e fetos com baixo peso (ATSDR, 2007).

Em 1984, a Organização Mundial de Saúde (WHO) sugeriu que as águas potáveis deveriam ter no máximo  $50 \mu\text{g L}^{-1}$  de As. Com base em novas evidências toxicológicas, a WHO rebaixou, em 1993, a concentração máxima de As em água para  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  (ATSDR, 2007). Atualmente, no Brasil o limite

máximo permitido é de 10  $\mu\text{g L}^{-1}$  (FUNASA, 2001), enquanto que para alguns alimentos os limites situam-se entre 0,1 e 1,0  $\text{mg kg}^{-1}$  (ANVISA, 1998).

A contaminação humana por arsênio em regiões do Quadrilátero Ferrífero foi pesquisada por Matschullat et al. (2000) através de um estudo da presença de As em urina de crianças de 7 a 12 anos. Entre a população infantil avaliada foram encontradas concentrações de As entre 2 e 106  $\mu\text{g L}^{-1}$  nas amostras de urina, sendo que 22% das crianças apresentaram concentrações superiores a 40  $\mu\text{g L}^{-1}$  para as quais efeitos adversos não podem ser excluídos.

A maior parte dos estudos voltados para determinação de arsênio envolve a técnica de geração de hidretos. No entanto, há alguns trabalhos em que a técnica de espectrometria de absorção com atomização eletrotérmica (ET AAS) é empregada. Por exemplo, para determinar arsênio em frutos do mar, foi proposto um método por Bruhn, em 2007, empregando ET AAS em bobina de tungstênio utilizando diferentes modificadores permanentes (BRUHN, 2007). Outro trabalho, objetivando uma aplicação de fitorremediação, investigou a capacidade de absorção de arsênio por mamonas cultivadas em solos contaminados, de modo que as raízes e brotos foram separados, tratados, digeridos por microondas e tiveram os teores de arsênio determinados por GF AAS (MELO et. al, 2009). Um grupo paquistanês realizou um estudo para estimar a ingestão de arsênio a partir da determinação em GF AAS dos teores desse elemento na água, alguns vegetais, grãos e peixes produzidos ou obtidos num vilarejo (Sindh, Paquistão), região próxima a um lago que já apresentava problemas com alguns contaminantes (ARAIN et. al, 2009). Nesse trabalho, as amostras foram submetidas à digestão por microondas e foi utilizada a mistura de nitrato de paládio e magnésio como modificador.

### **1.1.2. Cádmio**

Encontra-se normalmente no solo e nas águas em baixas concentrações, da ordem de  $\text{mg kg}^{-1}$  ou  $\text{mg L}^{-1}$ . Usualmente é extraído de minérios de zinco e de cobre, principalmente sulfeto de zinco. Em sua forma elementar apresenta-se branco metálico, bastante maleável. O uso industrial do cádmio deve-se ao seu baixo ponto de fusão, sendo utilizado principalmente no fabrico de ligas metálicas com baixo ponto de fusão, baixo coeficiente de fricção e alta resistência à fadiga. É ainda utilizado na galvanoplastia; construção de baterias, juntamente com o níquel; como estabilizador na indústria de plásticos polivinílicos e como pigmento amarelo em tintas e vidros (SANTOS, 2009).

Sob a forma de óxido, cloreto ou sulfeto pode estar presente como material particulado, sendo transportado no ar por longas distâncias, depositando sobre solos, plantações, lagos e rios. Essa poeira é oriunda da atividade mineradora e metalúrgica, produção e aplicação de fertilizantes fosfatados, queima de combustível fóssil, incineração e eliminação de lixo (ATSDR, 2006).

Cádmio e seus compostos podem se espalhar através do solo, mas essa mobilidade depende de vários fatores, como pH e teor de matéria orgânica, que por sua vez estão relacionados com o ambiente

local. Geralmente ele se liga fortemente com matéria orgânica, sendo assim imobilizado no solo e eventualmente absorvido por vegetais. Pode existir como um íon hidratado ou complexado a espécies orgânicas ou inorgânicas. As formas solúveis facilmente migram para água, enquanto as espécies insolúveis ficam adsorvidas em sedimentos (NAZARI, 2009).

A ingestão de alimentos ou água com altos teores de cádmio provoca irritação no trato gástrico, causando vômitos e diarreia. A ingestão em longo prazo em concentrações menores pode causar danos nos rins, além de fragilizar a estrutura dos ossos (ATSDR, 2006). Estudos feitos com camundongos apontaram a ocorrência de câncer de pulmão, o que justifica a incidência desse problema em indivíduos devido à exposição ocupacional. A Agência Internacional para Pesquisa sobre Câncer (IARC) determinou que o cádmio é carcinogênico para humanos (WHO, 1997).

O Cd pode influenciar a absorção de outros elementos, entre eles os elementos minerais essenciais, especialmente cátions potencialmente competidores como Mn, Zn, e Fe, ocorrendo para esses dois últimos uma redução de sua absorção na forma de cátions (NASCIMENTO, 1997). Como são essenciais, tal efeito influencia no desenvolvimento de vegetais e, conseqüentemente, em seu valor nutritivo.

Soares e colaboradores (2010) realizaram um estudo sobre constituintes inorgânicos do leite bovino. Dentre os vários contaminantes, foi determinado o teor de cádmio por GF AAS, sendo testadas amostras do Vale do Paraíba, que passaram por um processo de digestão ácida em microondas. Num trabalho que visava quantificar o teor de cádmio em alguns alimentos orgânicos, tais como legumes, cereais, frutas e verduras, todos submetidos a um processo de digestão ácida em “overnight”, um grupo grego (KARAVOLTSOS et al, 2007) propôs um método que empregou a técnica de GF AAS nesse método. Vários analitos, dentre eles cádmio, foram determinados em amostras espanholas de tomate, cebolas e pimentas em que foi otimizado um processo de digestão em microondas, seguida da determinação por GF AAS, utilizando nitrato de magnésio como modificador químico (BAKKALI et al., 2009).

### **1.1.3. Níquel**

Na forma metálica, apresenta-se na cor prateada e tem várias propriedades interessantes para combinação com outros metais, formando ligas metálicas, principalmente ferro, cobre, cromo e zinco, sendo tais ligas aplicadas em diversas situações. Também é possível encontrar esse elemento combinado com cloro, enxofre e oxigênio. Sob a forma de íon, pode ser encontrado com número de oxidação variando de -1 a +4, sendo o cátion +2 o seu estado mais comum (DENKHAUS & SALNIKOW, 2002).

Revela-se um importante metal na indústria moderna, visto que é muito utilizado na metalurgia, galvanoplastia, catalisador de reações químicas, matéria prima de baterias recarregáveis e variados

equipamentos eletrônicos. Ligas com níquel, tais como aço inox, são usadas na produção de ferramentas, maquinários e armamentos. Ainda é usado em moedas, jóias e próteses médicas (GARRETT et. al, 2000).

É um elemento bastante abundante em nosso planeta, sendo encontrado no solo, sob a forma de óxido, sulfeto, silicato ou metálica, embora essa em menor ocorrência. Na atmosfera também é encontrado, graças à atividade industrial, queima de combustíveis fósseis e emissões vulcânicas. Também é encontrado em meteoritos e no fundo de oceanos. As principais fontes de contaminação do meio ambiente por níquel incluem a extração, produção e processamento de níquel e de seus produtos, reciclagem de materiais contendo esse metal e despejo de rejeitos contendo o metal (IARC, 1990).

Pelo fato de ser uma espécie abundante, estamos expostos constantemente a esse metal das mais variadas formas, inclusive através da alimentação. Embora não seja consensual, testes já realizados *in vivo* sugeriram que esse elemento desempenha alguma função fisiológica, pois animais submetidos a testes com redução parcial do teor de níquel apresentaram aumento da mortalidade perinatal, alterações nos pelos, desenvolvimento de fígado, redução de crescimento, decréscimo de hemoglobina e hemácritas e redução da absorção de ferro no intestino. Também foi relatada diminuição da atividade específica de algumas enzimas envolvidas no metabolismo de aminoácidos e de carboidratos, bem como de fosfolipídios. Em contrapartida, ainda não foram encontradas enzimas ou co-fatores que incluam níquel em organismos animais ou vegetais. Com isso, torna-se incerta a definição de uma ingestão mínima segura (DENKHAUS, 2007).

Isso é válido porque também são reconhecidos os males diversos que esse elemento pode causar, desde uma simples alergia até efeitos teratogênicos. O uso de jóias por um tempo prolongado pode provocar dermatite em pessoas sensíveis a esse metal, principalmente em mulheres. A exposição ocupacional ao níquel (mineração e metalurgia) pode causar danos diversos ao sistema respiratório, como bronquite crônica, sinusite, redução da capacidade respiratória e câncer de pulmão. Baseado em estudos realizados com trabalhadores e animais em laboratório, a Agência Internacional de Pesquisa sobre Câncer (IARC) determinou que alguns compostos de níquel são carcinogênicos para humanos. Inflamação em pulmão e danos na cavidade nasal foram observados em animais expostos a compostos de níquel (ATSDR, 2005).

Com o objetivo de determinar alguns metais em carambolas, um grupo chinês (Li et al., 2007) empregou uma metodologia envolvendo a digestão das amostras e a técnica de espectrometria de absorção atômica em chama, sendo encontrados valores de Ni superiores aos recomendados pela legislação chinesa. Reyes & Campos (2006) propuseram um método para determinação de níquel em óleos vegetais empregando a técnica de GF AAS, operando em condições recomendadas pelo fabricante, sem digestão da amostra. Um processo envolvendo injeção em fluxo e a técnica de absorção atômica em chama para determinação de níquel em amostras de legumes, carnes, frutos do mar, frutas secas e queijos, em que as amostras foram submetidas a um processo de extração on-line, cujas condições foram otimizadas através de um planejamento Plackett-Burman (YEBRA et al., 2007).

#### 1.1.4. Chumbo

É um metal de alta densidade - por essa razão conhecido como metal pesado, de coloração prata-azulada, tornando-se acinzentado quando exposto ao ar. Apresenta uma baixa temperatura de fusão, ocorre naturalmente na crosta terrestre, mas encontrado combinado outros elementos, sendo o minério galena (PbS) o mais comum. Em sua forma metálica é resistente à corrosão. Quando exposto ao ar ou água, forma-se uma fina camada filme de óxidos e sulfeto na superfície do metal, impedindo que o restante sofra ataque. Uma outra importante qualidade é a maleabilidade que apresenta. Tal característica, associada à baixa temperatura de fusão permite combiná-lo com outros elementos e formar ligas metálicas de diversas aplicações industriais, desde soldas, fusíveis, material de tipografia até revestimentos de cabos elétricos, já que a ductilidade única do chumbo o torna particularmente apropriado para esta aplicação, porque pode ser estirado para formar um revestimento contínuo em torno dos condutores internos. Também há um amplo uso do chumbo na fabricação de baterias, acumuladores e munições. Durante muito tempo tem sido empregado em manta protetora para os aparelhos de raio-X e em outros artefatos para blindagem contra a radiação. Contudo, há uma tendência de redução e restrição do uso de chumbo nessas e em outras aplicações devido aos riscos toxicológicos associados a esse elemento (ASTDR, 2007).

O chumbo apresenta importantes efeitos tóxicos. Tem como via de entrada a ingestão ou inalação. Uma vez absorvido, liga-se a eritrócitos e através do sangue chega a tecidos diversos, como fígado, rins, pulmões, cérebro, baço, coração e músculos. Com o tempo, a maior parte do chumbo desloca-se e é acumulado nos ossos e dentes, permanecendo neles por décadas (BARBOSA Jr, 2009).

Os mecanismos propostos para a intoxicação por chumbo envolvem processos bioquímicos fundamentais, que incluem a habilidade do chumbo inibir ou substituir a ação do cálcio e interagir com proteínas. Um dos mais bem documentados mecanismos é a diminuição da síntese de heme, resultado de muitos efeitos adversos ao sistema hematopoiético (formador dos elementos encontrados no sangue, como plaquetas, eritrócitos e leucócitos). A maior parte do chumbo no sangue é encontrada nos eritrócitos, mas também no plasma, uma vez que consegue atravessar membranas celulares. O teor de chumbo no sangue é relacionado com diversos efeitos na saúde, pois aquilo que é encontrado no plasma deve-se ao teor presente em tecidos, como cérebro, ossos, eritroblastos e rins (MEYER et al, 2008).

Os efeitos adversos vão desde a morte até dificuldades no aprendizado e desenvolvimento comportamental, que podem trazer conseqüências ao longo da vida para crianças. Estão elas, inclusive, mais susceptíveis do que adultos aos efeitos da intoxicação, devido a maior facilidade que seu organismo apresenta em absorver esse metal, conseqüentemente um maior alcance aos tecidos do sistema nervoso, sendo essa uma parte bastante vulnerável aos efeitos da intoxicação (BELLINGER, 2006).

Um dos meios de reduzir a intoxicação com chumbo é a excreção por quelação. Entretanto, vários agentes ligantes usados para tanto podem apresentar efeitos colaterais indesejáveis, além de terem a sua eficácia duvidosa. Isso favorece a busca de novas estratégias para reverter um quadro de intoxicação com esse metal. Experimentos in vivo demonstraram que elementos essenciais como zinco, cálcio, ferro,

selênio e algumas vitaminas interferem nos efeitos tóxicos do chumbo, concomitantemente foi observado que crianças que apresentavam baixa ingestão diária desses nutrientes apresentaram um aumento da concentração de chumbo no sangue. (Ahamed et al., 2007)

No Brasil, apesar do chumbo ter sido retirado da gasolina – antes era usado como anti-detonante, sob a forma de chumbo-tetraetila – e a maioria das minas de extração ter sido desativada, parte da contaminação ambiental pelo chumbo continua a ser mantida através do grande número de pequenas indústrias de reciclagem de baterias que, geralmente, funcionam próximas a residências, constituindo uma fonte de exposição em áreas urbanas. A maioria dos operários trabalha irregularmente neste processo de reciclagem, de modo que a magnitude do problema não se encontra documentada. Não menos importante, essa atividade muitas vezes realizada de modo clandestino em região urbana, contamina o ar, o solo e a água, não só no lugar de processamento, mas também nas regiões circunvizinhas, sendo que os resíduos permanecem no local mesmo após o término da atividade (INOZZO et al., 2008).

Vulcano e colaboradores (2008) realizaram um estudo no qual foram analisados os teores de chumbo em chás comercializados na região metropolitana de Belo Horizonte, usando a técnica de GF AAS. De acordo com os resultados obtidos, todas as amostras apresentaram valores abaixo da legislação. Um estudo que verificou a capacidade de carnes bovinas absorverem chumbo e cádmio foi realizado por Lopes e colaboradores (2007), cujos resultados indicaram riscos associados ao consumo de carne inadequadamente abatida, manipulada, estocada e/ou comercializada. Soares e Moraes (2003) empregando a técnica de GF AAS, propuseram um método para analisar chumbo e aplicaram-no na determinação em cervejas brasileiras. Usando co-precipitação, vários alimentos como cebola, repolho, alface, endro, bem como em peixe e galinha, dentre outros, um grupo da Turquia propôs uma determinação de chumbo empregando GF AAS (OYMAK et al., 2009).

## **1.2 As matrizes**

### **1.2.1. Batata**

A batata (*Solanum tuberosum*) é originária dos Andes peruanos e bolivianos, onde é cultivada há mais de 7.000 anos. Foi introduzida na Europa antes de 1520 sendo responsável pela primeira revolução verde no velho continente: os ingleses incendiavam os trigais e matavam os porcos criados pelos irlandeses, levando o povo à miséria, entretanto a batata resistia ao pisoteamento das tropas, às geadas e ficavam armazenadas no solo. No século 18 já era um alimento popular naquele continente e dele levado a outras regiões do mundo. Num passado recente a expansão de seu cultivo por todo mundo se deu principalmente a avanços tecnológicos em seu cultivo. (PASTORINI, 2003).

Quarto alimento mais importante produzido no mundo, mais de 3,14 milhões de toneladas foram produzidas em 2006 em 149 diferentes países de todos os continentes. Hoje, os quatro maiores produtores são a China, a Rússia, a Índia e os Estados Unidos. (BRADSHAW & RAMSAY, 2009). É uma valiosa fonte de carboidratos, vitaminas, especialmente vitamina C, vitamina B6, folatos e

carotenóides e glicoalcalóides, antes considerados indesejáveis, porém novas pesquisas têm demonstrado propriedades promotoras de saúde de alguns glicoalcalóides, especialmente efeitos anticancerígenos. Os compostos fenólicos têm uma vasta gama de propriedades promotoras de saúde e as batatas são uma fonte rica em especial. Além de diferenças genotípicas, o armazenamento, processamento e preparo desse alimento interferem em seu valor nutritivo (NAVARRE et. al., 2009).

Considerando a sua importância no cenário mundial, sobretudo com o crescimento populacional e dos problemas decorrentes, a FAO (Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação) declarou 2008 como o “Ano Internacional da Batata”, tendo esse ato o objetivo de apontar a importância desse alimento como estratégico para a segurança alimentar e redução da fome e da pobreza mundial. Diferentemente do que ocorre com outros alimentos, a maior parte da produção é destinada a consumo local, favorecendo o cultivo por pequenos e médios produtores, sendo o preço final do produto relacionado apenas aos custos locais (FAO, 2008).

No Brasil, o cultivo de batata concentra-se nos estados do sul (Paraná e Rio Grande do Sul), sudeste (Minas Gerais e São Paulo) e, em reduzida proporção, no nordeste (Bahia). Atualmente cerca de 1/3 da produção nacional é mineira (IBGE, 2006). O consumo médio brasileiro per capita situa-se em 13 kg/ano, enquanto europeus e norte-americanos consomem o quíntuplo. Devido ao impacto causado pela exploração do solo e intensa atividade mineradora em nosso estado, revela-se interessante o estudo dessa matriz, de forma que os dados obtidos podem apresentar uma correlação com outros estudos de monitoramento de contaminação de solos e de qualidade de águas.

### **1.2.2. Mandioca**

A mandioca, *Manihot esculenta* Crantz, é uma planta perene, arbustiva, pertencente à família das Euforbiáceas. A parte mais importante da planta é a raiz. Rica em fécula, utilizada na alimentação humana e animal ou como matéria prima para diversas indústrias. Originária do continente americano, provavelmente do Brasil, a mandioca já era cultivada pelos índios, por ocasião da descoberta do país (FRAIFE FILHO, 2007).

O cultivo da mandioca é uma atividade de grande relevância econômica, pois é uma das principais fontes de carboidratos para milhões de pessoas, essencialmente nos países em desenvolvimento. O Brasil, possuindo aproximadamente dois milhões de hectares de área plantada, é um dos maiores produtores mundiais, chegando a 25 milhões de toneladas de raízes frescas de mandioca. No Brasil, o cultivo de mandioca ocorre por todo país, havendo um destaque para alguns estados do norte (Pará) e nordeste (Maranhão e Bahia) (MESSIAS et. al, 2007).

Atualmente a demanda de amido de mandioca (fécula) tem crescido de forma substancial, principalmente pelo setor industrial, a exemplo da utilização de fécula na mistura de farinha de trigo para fabricação de pães, objetivando reduzir as importações de trigo, gerando divisas para o país. Também é usado como espessante, utiliza as propriedades de gelatinização em cremes, tortas, pudins, sopas, alimentos infantis, molhos e caldos; como estabilizante, aumenta a capacidade de retenção de água em

sorvetes, fermento em pó, etc; como recheio, aumenta o teor de sólidos em sopas enlatadas, sorvetes, conservas de frutas e preparados farmacêuticos; como ligante, impede a perda de água durante o cozimento em salsichas e carne enlatada; na engomagem, para reduzir ruptura e desfibramento nos teares; na estamparia, para espessar os corantes e agir como suporte das cores; no acabamento, para aumentar a firmeza e o peso de papel, papelão e tecidos (CARVALHO, 2003).

A participação mineira em 2008 chegou a 900 mil toneladas (IOF, 2009). Em nosso estado a maior produção de mandioca encontra-se nas microrregiões Norte de Minas, Vale do Jequinhonha/Mucuri e Sul de Minas. Com o esforço por parte do governo em aumentar a produtividade mineira, é esperado um aumento da produtividade nessas e em outras áreas, o que merece atenção, seja pelo uso de terras próximas a regiões com extensa atividade mineradora e/ou regiões com problemas ambientais já apontados, como é o caso do Quadrilátero Ferrífero.

Atualmente o consumo nacional desse alimento é 50,6 kg/indivíduo considerando a ingestão do produto direto e seus produtos derivados (MATTOS, 2006).

### **1.3 Espectrometria de absorção atômica em forno de grafite**

Na determinação de elementos-traço, isto é, espécies cujas concentrações estejam na ordem ou abaixo de  $\mu\text{g L}^{-1}$ , várias são as técnicas disponíveis, como por exemplo, a espectrometria de massa com fonte de plasma indutivamente acoplamento (ICP-MS), espectrometria de emissão atômica com fonte de plasma indutivamente acoplado (ICP-AES), espectrometria de fluorescência atômica (AFS), fluorescência de raios X (XRF), polarografia, voltametria, entre outras menos usadas. Dentre essas, há um destaque para a espectrometria de absorção atômica (AAS), seja em chama (FAAS), em forno de grafite ou com gerador de hidretos (HG AAS), pois é amplamente utilizada em análises de rotina em razão de vários fatores: alta especificidade, sensibilidade, robustez, baixos limites de detecção para vários elementos em diferentes amostras e baixo custo relativo (FRESCCHI et al., 2000). Não menos importante, o volume de amostra necessário para uma análise é geralmente pequeno, no caso do GF AAS, por exemplo, é comum se analisar amostras de volume inferior a 100  $\mu\text{L}$ , algo bastante interessante, sobretudo quando se trata de amostras escassas e/ou de difícil obtenção.

A técnica de GF AAS é uma técnica bem estabelecida para determinações monoelementares. Como cada analito requer programas de tempo/temperatura específicos, com ciclos de aquecimento que podem levar alguns minutos, infere-se que a principal desvantagem da técnica reside no tempo total gasto quando se deseja determinar muitos elementos por amostra, além do tempo gasto para encontrar as condições ótimas para cada uma dessas determinações.

Na realização de medidas com essa técnica é imprescindível estabelecer um programa de aquecimento apropriado para controlar tempo e temperatura das etapas de secagem, de pirólise e de atomização (fig. 2.3). Este programa otimizado permite evaporar o solvente bem como eliminar os constituintes da matriz, antes da atomização do analito, a fim de se reduzirem eventuais interferências. Cada elemento, numa determinada matriz, possui uma temperatura de pirólise (TP) e uma de atomização

(TA) características, o que justifica a necessidade de encontrar tais parâmetros para uma determinada análise. Nem sempre a busca por essas condições ótimas é feita de uma forma sistemática, levando-se em consideração todas as variáveis envolvidas.

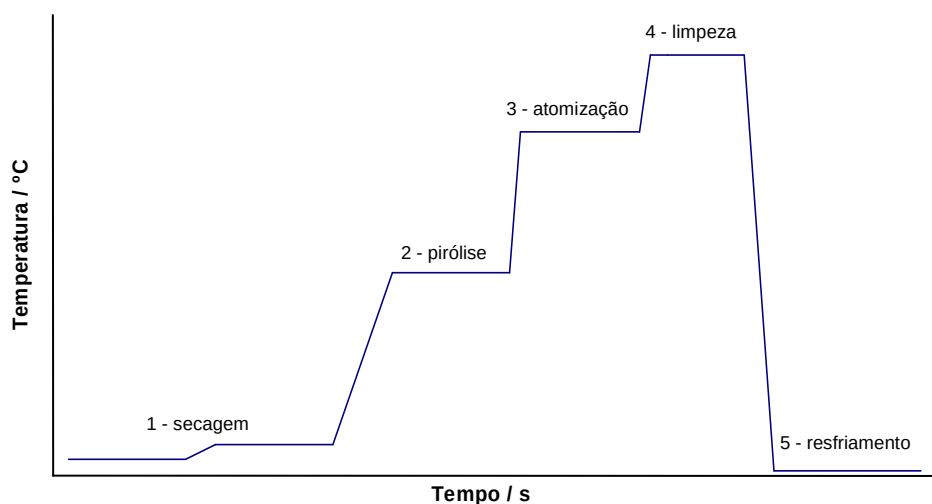


**Figura 1.1** – Programa de temperatura de um forno de grafite.

O emprego de modificadores químicos é uma prática às vezes necessária nessa técnica. Eles têm como função diminuir, ou até mesmo eliminar, interferências provocadas pela matriz ou concomitantes presentes na amostra, favorecendo um aumento da eficiência da etapa de pirólise, sendo possível empregar temperaturas maiores do que aquelas num processo sem o modificador. Entretanto, a eliminação dos concomitantes não deve afetar a atomização do analito de interesse. O modificador químico converte o analito em uma forma menos volátil, permitindo maiores temperaturas de pirólise e/ou converte os concomitantes em uma forma mais volátil, promovendo a separação analito-matriz (WELZ & SPERLING, 1999).

Um modificador químico é normalmente uma solução concentrada contendo um ou mais compostos químicos que é adicionada à alíquota da amostra no forno de grafite através do amostrador automático ou diretamente no tubo de grafite pouco antes da introdução da amostra. A solução apresenta uma alta concentração de modo a favorecer as reações entre os concomitantes, o analito e o modificador (NÓBREGA, et. al, 2004). São várias as espécies empregadas como modificadores, no entanto uma mistura dos sais nitrato de paládio e nitrato de magnésio é aquela que se destaca como uma das mais usadas em determinações de diversos analitos, sendo por essa razão ser classificada como universal. No entanto, o custo dessa mistura é relativamente alto, principalmente pelo fato dos reagentes usados apresentarem alto grau de pureza, o que favoreceu a busca por outros reagentes.

Como alternativa, surgiu o emprego do modificador permanente, que consiste no tratamento de tubos de grafite, seja a plataforma integrada ou L'Vov, como parede interna, de modo que há um recobrimento parcial de uma área, a partir da deposição de espécies metálicas formadoras de carbetos

refratários (W, Zr, Ti, Ta, Nb) ou de metais do grupo da platina (Rh, Ir, Ru, Pd, Pt) (SILVA, 2004; ORTNER, 2002).

O uso de modificadores permanentes é um procedimento bastante discutido e relatado em literatura. Pereira e colaboradores (2004) testaram vários modificadores permanentes para determinação de Al, Cd, Cr e Pb em água potável. Foram testados tubos tratados com rutênio, irídio, ródio e tungstênio e foi constatado que cada modificador apresenta uma diferente eficiência para cada analito. Num método em que materiais biológicos diversos (cabelo humano, sangue canino, tecidos de peixe e de lagosta) foram digeridos com hidróxido de tetrametilamônio (TMAH) e analisados por GF AAS para determinação de cádmio, rutênio foi empregado como modificador permanente (SILVA et al., 2003). Irídio, ródio, zircônio e rutênio foram usados como modificadores permanentes na determinação de cádmio, cromo e chumbo em sedimentos marinhos e de lagoa, sendo essa amostra introduzida no forno de grafite na forma de suspensão (PEREIRA et al, 2006). Um estudo que envolveu a comparação do uso da mistura nitrato de Pd-Mg como modificador químico com o uso de tungstênio, ródio e irídio como modificadores permanentes numa metodologia para determinação de chumbo em *orujo* (aguardente espanhol de uva) usando GF AAS, mostrou uma melhor eficiência dos modificadores permanentes em relação aos demais (VILAR et al., 2007).

#### 1.4 Quimiometria

Atualmente, a possibilidade de obtenção de uma grande quantidade de dados numéricos tem aumentado em todos os campos da ciência, incluindo a química analítica, devido ao desenvolvimento de novas técnicas e instrumentação que permitem uma resposta de forma mais rápida e algumas vezes medidas simultâneas. Neste contexto, a aplicação de ferramentas estatísticas é de fundamental importância, principalmente para explorar e entender essa gama crescente de dados e informações originadas de um sistema.

Em diversos segmentos da química, a intensificação do uso de recursos computacionais para analisar dados químicos cresceu nos últimos anos. Na área de química analítica, a aquisição de dados atingiu um ponto bastante sofisticado, devido ao aumento da quantidade dos dados analíticos gerados e à incorporação de computadores aos instrumentos produzindo uma enorme quantidade de informação, muitas vezes complexa e variada (PEREIRA-FILHO et al, 2002).

A necessidade de ferramentas novas para extrair um maior número de informações relevantes de um conjunto de dados deu origem à Quimiometria, que é uma área destinada especificamente à análise de dados químicos de natureza multivariada. Os métodos multivariados consideram a correlação entre muitas variáveis analisadas simultaneamente, permitindo a extração de uma quantidade maior de informações, muitas vezes impossível quando se analisa as variáveis isoladamente (FERREIRA et. al, 1999).

Dentre as várias ferramentas da quimiometria, os planejamentos são divididos em três categorias: triagem, planejamento fatorial e metodologia de superfície de resposta. Experimentos de triagem são realizados com o objetivo de verificar quais das muitas variáveis são importantes e afetam a resposta, mas

sem o conhecimento de como e do quanto. Uma vez selecionadas, tais variáveis podem ser estudadas num planejamento fatorial, que indicará como essas interferem na resposta e, finalmente, uma metodologia de superfície de resposta apontará as condições ótimas para essas variáveis (ALTEKAR et al., 2006).

#### **1.4.1. Planejamento fatorial**

O planejamento fatorial é uma ferramenta estatística importante e simples, aplicável em espectrometria atômica. A observação dos efeitos de variáveis e interações entre elas é de extrema importância para entender os processos que são monitorados em um determinado sistema. Quando é empregada uma otimização univariada, não é possível detectar interações entre as variáveis estudadas. Na otimização univariada das temperaturas de pirólise e atomização em espectrometria de absorção atômica com atomização em forno de grafite (GF AAS) é comum, inicialmente, a fixação da temperatura de pirólise, variando-se somente a temperatura de atomização. Em seguida, depois de encontrar a melhor temperatura de pirólise, a temperatura de atomização é variada. Neste tipo de procedimento, alguns resultados e interpretações incompletas podem ocorrer, devido ao fato de que os efeitos de interação entre as variáveis não são explorados. Além do problema relatado anteriormente, o número de experimentos executados é geralmente maior se comparado com aqueles obtidos em um planejamento fatorial (PEREIRA-FILHO et al., 2002).

Nesse planejamento, o número de experimentos a ser realizado é definido de acordo com número de fatores e níveis estabelecidos. Um fator consiste num parâmetro cuja influência na resposta deseja-se estudar, como ocorre na técnica de GF AAS, em que as temperaturas de atomização e de pirólise, bem como o tipo de modificador, interferem na absorvância. Já os níveis correspondem a valores diferentes escolhidos para cada fator e cada um desses níveis recebe como codificação qualitativa os sinais (-) e (+), sendo a variação dos fatores nesses níveis responsável pelo efeito de um fator sobre a resposta. Tanto para a pirólise como para a atomização são escolhidos dois valores de temperatura, um mínimo e um máximo, sendo tal escolha feita de acordo com conhecimentos anteriores ou condições sugeridas pelo fabricante do equipamento, para o analito que se deseja determinar. Já para o modificador são escolhidos dois entre aqueles que apresentaram melhor eficiência. Caso o planejamento seja realizado com três fatores em dois níveis, ele é classificado como um planejamento fatorial  $2^3$ , sendo necessário um total de oito experimentos, com medições efetuadas normalmente em triplicata, para testar todas as possibilidades de combinações entre esses fatores.

A indicação dos efeitos dos fatores selecionados, bem como os efeitos de suas interações, são interpretados num gráfico de Pareto, em que as barras horizontais estão associadas com a intensidade do efeito, os valores apontados correspondem aos próprios e o sinal indica qual dos dois níveis tem maior influência na resposta. São significativos com 95% de confiança os efeitos que estão além da linha de corte. De fato, são mais interessantes nesse gráfico quais efeitos primários são significativos e os respectivos níveis que lhes afetaram.

Os efeitos principais que se apresentaram significativos são considerados para estudo em um planejamento composto central.

A otimização multivariada é um recurso bastante empregado na técnica de GF AAS. Num estudo comparativo da otimização univariada com a otimização utilizando planejamento fatorial de um método para determinação de cobre, níquel, zinco e chumbo por GF AAS em biodiesel, foi comprovada a eficiência da técnica multivariada, em que foi possível otimizar as condições de pirólise e atomização, bem como o preparo da amostra (LOBO et al., 2009). Amorim e colaboradores empregaram um planejamento fatorial para otimizar condições de análise da técnica de GF AAS para determinação de alumínio em bebidas, comprovando também a vantagem desse procedimento ao compará-lo com a otimização univariada. Nessa metodologia as amostras foram analisadas sem qualquer preparo e as condições otimizadas foram as temperaturas de atomização e de pirólise, bem como o modificador permanente empregado (AMORIM et al., 2006). Pereira-Filho e colaboradores (2002) testaram diversos modificadores permanentes (Pd, W, Zr, Rh, Ir) na proposição de métodos para determinação de alumínio, molibdênio, chumbo e cádmio, sendo necessário a realização de apenas sete experimentos para otimizar o método para os dois primeiros metais, e 11 para os dois metais, todos eles determinados por ET AAS.

#### 1.4.2. Planejamento composto central (CCD)

O planejamento composto central, ou *Central Composite Design* (CCD), é uma metodologia de superfície de resposta em que um modelo matemático empírico é construído a partir de funções polinomiais que descrevem o sistema estudado. Através dele é possível verificar como um dado fator, classificado como significativo noutra etapa da otimização, afeta a resposta quanto à magnitude e à direção (TEÓFILO, 2006).

Na tentativa de atingir uma região ótima, um modelo matemático é construído e a partir dele é gerada a superfície de resposta, de modo que modelagem e deslocamento são etapas que são repetidas conforme a necessidade do estudo. A primeira etapa é feita ajustando-se modelos (lineares ou quadráticos) a respostas obtidas com planejamentos fatoriais ampliados. Já o deslocamento se dá sempre ao longo do caminho de máxima inclinação de um determinado modelo, que é a trajetória na qual a resposta varia de forma mais pronunciada (NETO et al., 2007).

Um planejamento composto central é formado de três partes: uma parte chamada fatorial ou cúbica, contendo um número de pontos de coordenadas (+1) e (-1) e iguais ao número de fatores; uma parte axial (ou estrela) formada por um número de pontos iguais a  $2k$  pontos combinados com o ponto central e coordenadas iguais a  $\alpha$  ou  $-\alpha$ , sendo  $k$  o número de fatores e  $\alpha$  corresponde a uma distância da origem para completar a parte estrela do planejamento; e, finalmente, um número de experimentos num ponto central. Para um CCD que visa a otimização das temperaturas de pirólise e de atomização, em que há apenas esses dois fatores para otimização, são realizados 4 experimentos a partir da combinação desses dois fatores em dois níveis, 4 experimentos combinando-se as coordenadas  $\sqrt{2}$  e  $-\sqrt{2}$  com o ponto central, e 5 experimentos no ponto central para avaliação da precisão do modelo.

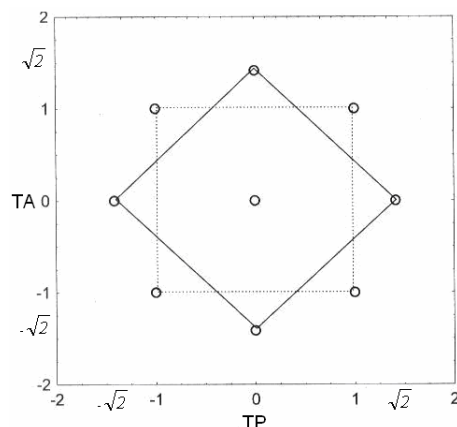


**Figura 1.2** – Esquema de um planejamento composto central para duas variáveis (TA e TP).

Com a realização dos experimentos desse planejamento, é possível então obter respostas que permitirão descrever a relação das interações entre os fatores escolhidos sob um modelo quadrático, gerando esse uma superfície, cujo ponto de máximo corresponda às condições ótimas.

Em um processo que requer a otimização de fatores que já passaram por uma etapa em que tiveram seu efeito significativo determinado, esse tipo de planejamento é uma importante ferramenta no alcance das condições ótimas.

Santos e colaboradores (2008) empregaram CCD num processo de otimização de metodologia para determinação simultânea de arsênio, chumbo e cádmio em água usada em tratamento de hemodiálise. Lara e colaboradores (2009) propuseram uma metodologia para determinação de manganês leite materno, sem digestão de amostra, em que as condições analíticas foram otimizadas por CCD. A determinação direta de cádmio em vinhos através de GF AAS usando modificador químico foi proposta por Ferreira e colaboradores (2009), cuja metodologia teve as condições de pirólise e de atomização também otimizadas por CCD.

## 1.5 Validação analítica

Na proposição de uma nova metodologia analítica, é de fundamental importância para a aplicação da mesma a definição de alguns parâmetros que garantam a obtenção de dados reprodutíveis e confiáveis. Assim, a validação de um método é um processo pelo qual é estabelecido, por estudos de laboratório, que as características do método satisfazem os requisitos de qualidade necessários para as aplicações analíticas a serem praticadas. Nesse processo, atributos ou figuras de mérito são determinados e avaliados, sendo estes importantes partes de um programa de garantia de qualidade, tendo como objetivo principal assegurar que um método seja adequado aos fins para os quais tenha sido planejado (VALENTINI, 2007).

As seguintes figuras de mérito foram avaliadas nesse trabalho: efeito da matriz, linearidade, sensibilidade, limites de detecção e de quantificação, precisão e exatidão.

#### **1.5.1. Linearidade**

A linearidade é a habilidade que um método tem de produzir resultados que são diretamente, ou através de transformações matemáticas, proporcionais à concentração da substância em análise na amostra, dentro de uma variação determinada. Este atributo da validação pode ser estabelecido por uma avaliação gráfica, em que uma grandeza está associada à concentração ou ao conteúdo analisado, sendo possível descrever essa relação por uma função matemática. Havendo uma relação linear, os resultados da análise devem ser avaliados com base em métodos estatísticos apropriados, como por exemplo, o método dos mínimos quadrados, de modo que essa relação é aproximada a uma função matemática, através da qual podem ser realizadas determinações. A construção de uma curva de calibração consiste nessa associação de respostas obtidas por uma técnica para várias quantidades ou concentrações de um analito.

A linearidade é definida pela análise de soluções de diferentes concentrações, abrangendo a faixa de concentração de interesse no trabalho, sendo necessários padrões de medida em pelo menos cinco níveis distintos de concentração (ANVISA, 2003; EURACHEM, 2007).

Além dos coeficientes de regressão  $a$  e  $b$ , também é possível calcular, a partir dos pontos experimentais, o coeficiente de correlação  $r$ . Este parâmetro permite uma estimativa da qualidade da curva obtida, pois quanto mais próximo de 1,0, menor a dispersão do conjunto de pontos experimentais e menor a incerteza dos coeficientes de regressão estimados. O mínimo aceitável para o coeficiente de correlação ( $R$ ) deve ser de 0,99 (ANVISA, 2003).

#### **1.5.2. Efeito da matriz**

Principalmente na técnica de GF AAS, em que a matriz é destruída durante a análise, várias espécies formadas e eliminadas nas etapas de secagem e de pirólise podem interferir na resposta obtida.

A interferência ou efeito da matriz pode ser determinada a partir da comparação dos resultados obtidos de amostras fortificadas com quantidades conhecidas de um analito com os resultados obtidos para soluções aquosas desse mesmo analito e nas mesmas concentrações. Isto é, esse processo consiste numa comparação de curvas de calibração construídas com o analito em meio aquoso com curvas construídas com adição de padrão. Nesse estudo, as inclinações de três curvas obtidas de cada modo são comparadas estatisticamente, através de testes  $F$  e  $t$  de Student. Não havendo diferença significativa entre as curvas, conclui-se que não há efeito de matriz na metodologia proposta.

### 1.5.3. Limite de detecção e de quantificação

Na realização de medidas em análise de traços é importante saber qual o menor valor de concentração do analito ou da propriedade que pode ser detectado pelo método. A importância desta determinação e os problemas associados a ela advêm do fato de que a probabilidade de detecção não muda rapidamente de zero para um quando seu limiar é ultrapassado. Muitas controvérsias são originadas devido ao fato de não haver atualmente uma concordância da terminologia aplicável. O termo “limite de detecção” não é aceito por todos, apesar de ser usado em alguns documentos, agências regulamentadoras e bem citado em publicações diversas.

O limite de detecção do método (LD ou LOD) é definido como a concentração mínima de uma substância medida e declarada com 95% ou 99% de confiança de que a concentração do analito é maior que zero. O LD é determinado por meio de análise completa de uma dada matriz contendo o analito. O procedimento de determinação do LD é aplicado a uma grande variedade de tipos de amostras, desde a água reagentes (branco) até águas residuárias, todas contendo o analito. O LD para um procedimento analítico pode variar em função do tipo da amostra. É fundamental assegurar-se de que todas as etapas de processamento do método analítico sejam incluídas na determinação desse limite de detecção (INMETRO, 2007).

Pode ser determinado pela equação:

$$LOD = \frac{s_a \times 3}{IC}$$

em que:  $s_a$  é o desvio padrão obtido a partir de 10 leituras consecutivas do primeiro ponto da curva de calibração por adição de analito à matriz;  $IC$  é a inclinação da curva de calibração (ANVISA, 2003).

O Limite de Quantificação (LQ ou LOQ) é a menor concentração do analito que pode ser determinada com um nível aceitável de exatidão e precisão. É considerado como o limite inferior de uma faixa linear, uma vez que é o primeiro valor que pode ser quantificado por uma curva de calibração. Algumas vezes é também denominado “Limite de Determinação”. Na prática, corresponde normalmente ao padrão de calibração de menor concentração (excluindo o branco). Pode ser calculado pela equação:

$$LOQ = \frac{s_a \times 10}{IC}$$

em que:  $s_a$  é o desvio padrão obtido a partir de 10 leituras consecutivas do primeiro ponto da curva de calibração por adição de analito à matriz;  $IC$  é a inclinação da curva de calibração (ANVISA, 2003).

### 1.5.4. Precisão

A precisão é o grau de concordância mútua entre os dados que foram obtidos a partir de um método numa série de medidas. Descreve a repetibilidade dos resultados, isto é, a avaliação da proximidade dos valores numéricos para duas ou mais repetições das medidas, ou medidas que tenham

sido obtidas do mesmo modo. A precisão determinada em ensaios efetuados em um mesmo dia é denominada precisão intra-ensaio, enquanto em dias diferentes, precisão inter-ensaio. Em ambos os casos, esse estudo é feito concomitantemente à recuperação.

Uma das formas de se expressar a precisão é através do desvio padrão relativo (DPR) ou coeficiente de variação (CV%), calculado conforme a equação:

$$CV\% = \frac{s}{\bar{C}} \times 100$$

em que,  $s$  é o desvio padrão de uma série de replicatas de medidas da mesma amostra ou solução, e  $\bar{C}$  é a concentração média desta determinada a partir das medidas realizadas.

Para os estudos realizados nesse trabalho, em que as concentrações das amostras fortificadas na avaliação da precisão variaram de 0,75 a 50,0 ug L<sup>-1</sup>, o limite aceitável de DPR é 15% (AOAC, 1993).

### **1.5.5. Exatidão**

Representa o grau de concordância entre os resultados individuais encontrados em um determinado ensaio e um valor de referência aceito como verdadeiro. A exatidão é sempre considerada dentro de certos limites, a um dado nível de confiança, ou seja, aparece sempre associada a valores de precisão. A avaliação da exatidão de um método proposto pode ser efetuada por meio do uso de materiais de referência; testes interlaboratoriais; comparação de métodos e de ensaios de adição e recuperação de analito.

#### **1.5.5.1 Materiais de referência certificados (MRC)**

São materiais de referência acompanhados de um certificado que possui o valor de concentração de um ou vários analitos e uma incerteza associada. A análise de materiais de referência certificados, sempre que possível, ou seja, sempre que exista algum material de referência semelhante à amostra que se deseja analisar e com o valor de certificação dentro da faixa de trabalho da análise, é uma ferramenta importante num processo de validação analítica. A exatidão do método é verificada a partir da comparação dos valores obtidos pelo método (a média e a estimativa do desvio padrão de uma série de replicatas) para um material certificado com os valores indicados no certificado desse. Tal procedimento é feito no mínimo em três diferentes alíquotas, sendo feita a análise normalmente em triplicata.

#### **1.5.5.2 Recuperação**

Um ensaio de recuperação consiste num teste em que amostras são fortificadas com o analito em concentrações conhecidas e estas são submetidas à análise. Pela resposta obtida é então determinada a concentração dessa amostra ( $C_1$ ) que, subtraída da concentração da amostra ( $C_2$ ) não adicionada (branco), e dividida pela concentração teórica ( $C_3$ ) pode-se estimar o percentual de recuperação. Nesse estudo é

interessante a adição do analito em pelo menos três diferentes concentrações. Para também garantir uma verificação da faixa de trabalho, é válido optar por um valor próximo ao limite de quantificação, outro próximo ao limite superior dessa faixa e o terceiro próximo à metade dessa faixa (ANVISA, 2003).

A recuperação é calculada segundo a equação:

$$\text{Recuperação (\%)} = \left( \frac{C_1 - C_2}{C_3} \right) \times 100$$

Segundo recomendação da Agência de Proteção Ambiental Norte-americana, para a maioria dos métodos analíticos, os valores determinados nos ensaios de recuperação devem contemplar a faixa de 80 a 120% (EPA, 1992).

### 1.5.6. Sensibilidade

Sendo a sensibilidade a medida da habilidade em discriminar entre pequenas diferenças na concentração de um analito, nos métodos que utilizam a técnica de GF AAS, esta pode ser indicada pelos valores obtidos para a massa característica ( $m_0$ ). Essa grandeza corresponde a uma quantidade em massa do analito que apresenta uma absorvância integrada de 0,0044s (1% de absorção). Devido à alta sensibilidade da técnica, a unidade usada para expressar a massa característica é picograma ( $10^{-12}$  g) (WELZ & SPERLING, 1999). Diferentemente de outras técnicas, em que a sensibilidade é calculada a partir da inclinação da curva de calibração, a massa característica pode ser determinada a partir da medida de uma amostra qualquer e comparada a um valor recomendado, sendo calculada pela equação abaixo:

$$m_0 = \frac{V \times c \times 0,0044}{abs},$$

onde  $V$  é o volume em  $\mu\text{L}$  da amostra,  $c$  é a concentração em  $\mu\text{g L}^{-1}$  e  $abs$  é a absorvância medida.

## 2. Materiais e métodos

### 2.1 Materiais

#### 2.1.1. Equipamentos e acessórios

Nesse estudo foi usado um espectrômetro de absorção atômica PerkinElmer Aanalyst™ 400, equipado com forno de grafite (HGA 800), com correção de background por lâmpada de deutério e amostrador automático (AS-800). As leituras foram feitas em absorvância integrada (área do pico). Foram utilizadas lâmpadas mono-elementares de catodo-oco para Ni e Pb e EDL para As e Cd (ambas da PerkinElmer), operando em condições recomendadas pelo fabricante, já ajustadas no software controlador e indicadas na tabela 2.1. O volume injetado no tubo de grafite pelo pipetador automático em todos os estudos foi de 20  $\mu\text{L}$  tanto para as amostras, como para as soluções usadas na calibração. Como gás inerte de limpeza foi usado argônio de alta pureza (99,996% da White Martins, Belo Horizonte, MG, Brasil).

Tubos de grafite pirolítico com plataforma de L'Vov inserida (PerkinElmer) foram usados em todas as investigações. Micropipetas reguláveis de 20 a 200  $\mu\text{L}$  e 100 a 1000  $\mu\text{L}$  (Digipet) foram empregadas no preparo de soluções.

**Tabela 2.1** – Condições operacionais para o GF AAS de acordo com os analitos

| Parâmetro                | As      | Cd       | Ni       | Pb       |
|--------------------------|---------|----------|----------|----------|
| Comprimento de onda (nm) | 193.7   | 228.8    | 232      | 283,3    |
| Fenda (nm)               | 2.7/2.3 | 2.1/1.35 | 1.8/1.35 | 2.7/1.05 |
| Corrente (mA)            | 400     | 210      | 40       | 10       |

As amostras foram trituradas em um moinho criogênico (Spex SamplePrep 6770, MA, USA), após desidratação em liofilizador (Edwards Modulyo 1). Para desidratação das amostras foram utilizados frascos de vidro borossilicato com capacidades para 500 e 1000 mL, previamente descontaminados.

Também foi empregado durante os experimentos um aerador de aquário, ligado a um capilar de polietileno mantido mergulhado no vial com amostra durante os experimentos, de forma a manter as suspensões estáveis, conforme apresentado da figura 2.1.



**Figura 2.1** – Uso de aerador de aquário para manter suspensão homogênea.

### 2.1.2. Reagentes

Os reagentes empregados nesse trabalho foram de grau de pureza analítica. Todas as soluções aquosas foram preparadas usando-se água deionizada (resistividade de  $18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$ ), obtida por um sistema Direct-Q (Millipore, Billerica, MA, USA). No preparo das suspensões, foram utilizados ácido nítrico e peróxido de hidrogênio da Merck (Darmstadt, Germany, No.7587956).

Nos tratamentos dos tubos de grafite com modificadores permanentes foram usadas soluções de concentração  $1000 \text{ mg L}^{-1}$  dos seguintes metais: rutênio (Fluka, No. 84033), ródio (Fluka, No. 83722),

irídio (Fluka, No. 58195), zircônio (Aldrich, No. 27497-6), nióbio (Fluka, No 274917), titânio (Aldrich, No 03796-1EA), tântalo (Fluka, No. 86275) todos em 1 mol L<sup>-1</sup> de ácido clorídrico, além de tungstênio 1000 mg L<sup>-1</sup>, solução esta preparada dissolvendo-se 0,18 g de Na<sub>2</sub>WO<sub>4</sub> (Merck, 106672) em 100 mL de água deionizada. Já as soluções analíticas de arsênio, cádmio, chumbo e níquel foram preparadas a partir de soluções estoques de 1000 mg L<sup>-1</sup>, sendo essas obtidas a partir de ampolas de titrisol da Merck em 5% V/V de ácido nítrico, preparadas e estocadas conforme recomendações desse fabricante.

Para avaliação de exatidão nas determinações de arsênio e cádmio foi analisada uma amostra de material certificado, farinha de arroz (NIST SRM1568a).

## 2.2 Métodos

### 2.2.1. Obtenção dos modificadores permanentes nos tubos de grafite

Os tubos de grafite foram tratados de acordo com um programa de aquecimento específico para recobrimento com os modificadores permanentes (Tabela 2.2), sendo tal procedimento indicado por Silva e colaboradores (1998). Com esse programa, em cada tubo de grafite tratado houve a deposição na plataforma de cada um dos modificadores permanentes testados.



**Figura 2.2** – Plataformas de L'Vov, tubos de grafite e corte de um tubo com plataforma de L'Vov

Em um tubo de grafite com plataforma de L'Vov já acoplada (Figura 2.2) foram injetados volumes de 50 µL pelo pipetador automático. Esse tubo foi então submetido ao programa de temperatura de forno, sendo este procedimento repetido 10 vezes obtendo-se uma plataforma tratada com 500 µg do modificador permanente. Tal processo foi empregado na obtenção de tubos tratados com irídio, ródio, rutênio, zircônio, tungstênio, titânio, tântalo e nióbio.

**Tabela 2.2** – Programa de temperatura de forno para tratamento da plataforma do tubo com modificadores permanentes

| Temperatura (°C) | Rampa (s) | Tempo de retenção (s) | Fluxo de Ar (mL min <sup>-1</sup> ) |
|------------------|-----------|-----------------------|-------------------------------------|
| 90               | 5         | 15                    | 250                                 |
| 140              | 5         | 15                    | 250                                 |
| 1000             | 10        | 10                    | 250                                 |
| 2000             | 0         | 5                     | 0                                   |
| 20               | 1         | 10                    | 250                                 |

### 2.2.2. Amostras e procedimentos de preparo das amostras

Neste trabalho foram utilizadas amostras de batata e mandioca coletadas diretamente no campo em cidades do Quadrilátero Ferrífero (Mata, Ouro Branco, Brumadinho, Piedade, Santa Bárbara) e de outras regiões mineiras (Cristalina, Ibiá, Borda da Mata, Bom Repouso, Araxá, Jaíba, Araújos, Nova Serrana, Mucambinho, Paracatu), obtidas no CEASA-MG (tabela 2.3). Tanto as amostras coletadas no campo, como aquelas obtidas no CEASA, passaram pelo mesmo tratamento, sendo esse constituído de quatro etapas: lavagem, ralação, desidratação e moagem.

**Tabela 2.3** – Codificação das amostras de batata e mandioca analisadas

| Cód. | Amostra de batata | Cód. | Amostra de mandioca    |
|------|-------------------|------|------------------------|
| B1   | Ouro Branco       | M1   | Jaíba                  |
| B2   | Ouro Branco       | M2   | Araújos                |
| B3   | Mata              | M3   | Nova Serrana           |
| B4   | Mata              | M4   | Santa Bárbara do Leste |
| B5   | Mata              | M5   | Brumadinho             |
| B6   | Mata              | M6   | Jaíba                  |
| B7   | Cristalina        | M7   | Mucambinho             |
| B8   | Ibiá              | M8   | Piedade                |
| B9   | Borda da Mata     | M9   | Santa Bárbara          |
| B10  | Bom Repouso       | M10  | Paracatu               |
| B11  | Araxá             | M11  | Santa Bárbara          |
| B12  | Bom Repouso       |      |                        |

As amostras de batata e mandioca coletadas no campo foram lavadas com água destilada e deionizada para remoção de sedimentos e materiais provenientes do solo. O mesmo se fez com as demais amostras para retirada de qualquer material em sua superfície. Em bandejas de plástico, foram deixadas para secar à temperatura ambiente. Utilizando um ralador de plástico, previamente descontaminado em banho ácido ( $\text{HNO}_3$  10% V/V) por um período não inferior a 24 horas, todas as amostras foram então raladas integralmente, com exceção das mandiocas, que tiveram suas cascas retiradas antes. Em seguida as amostras foram transferidas para frascos para liofilização (figura 2.3) e deixadas para liofilizar. Foram acondicionadas em frascos limpos e rotuladas até a moagem.

As amostras secas foram submetidas a moagem para garantir uma homogeneidade satisfatória e partículas da ordem de micrômetros. Sendo assim, quantidades de cerca de 1g ou menos, do material a ser moído – mandioca ou batata seca – foram transferidas para o tubo de policarbonato e acoplado ao recipiente que já continha nitrogênio líquido. O programa de moagem consistiu de três etapas em três ciclos, à velocidade de 15 cps (ciclos por segundo), conforme indicado na tabela 2.4



**Figura 2.3** – Frascos de liofilização (à direita), frascos acoplados ao liofilizador (à esquerda).

Após a moagem, as amostras foram peneiradas a fração de 63  $\mu\text{m}$  (Contenco, C-1014-230) e mantidas sob refrigeração em recipientes de PEAD.

**Tabela 2.4** – Programa da moagem criogênica

| Etapa            | Tempo / min. |
|------------------|--------------|
| Pré-congelamento | 2,0          |
| Moagem           | 3,0          |
| recongelamento   | 2,0          |

Com as amostras moídas e prontas para análise, foi preparada uma suspensão para que assim fosse injetada no tubo de grafite. A quantidade de 40,0 mg da amostra foi medida diretamente em um vial do amostrador automático, seguido da adição de 2,0 mL de diluente constituído pela solução de  $\text{HNO}_3$  2 % V/V e  $\text{H}_2\text{O}_2$  1% V/V.

### 2.3 Otimização das condições analíticas

Inicialmente, a etapa de secagem foi otimizada univariadamente, a partir das condições recomendadas pelo fabricante. Para tanto, experimentos em que eram alteradas apenas as temperaturas de secagem – foi verificada a necessidade de mais de uma etapa - foram realizados, até não se observar formação de bolhas na amostra dentro do forno de grafite. A formação de bolhas levaria à perda da amostra, além de afetar a reprodutibilidade da determinação.

Com uma amostra de batata foi feito um tratamento e preparada uma suspensão conforme descrito no item 2.2.2 da metodologia. Empregado um tubo sem modificador e nas condições recomendadas pelo fabricante, foi então realizada uma medida da absorvância para esse analito, cujo objetivo era verificar se a resposta para esse analito, nessas condições, permitiria a continuidade dos estudos.

Seguiu-se, então, para a primeira etapa da otimização que foi a triagem de modificador permanente. Nessa etapa, tendo já a etapa de secagem otimizada, com as condições recomendadas pelo fabricante para as etapas de pirólise, atomização e limpeza, foram testados tubos de grafite com plataforma tratada com diferentes tipos de modificadores permanentes. Esse conjunto de tubo com plataforma de L'Vov inserida foi tratado conforme apresentado no item 2.2.1. Foram escolhidos os dois tubos que apresentaram melhor sensibilidade, isto é, apresentaram maior intensidade para o sinal de absorvância, melhor reprodutibilidade, melhor correção de “background” e com pulso de absorção compatível com aqueles usualmente obtidos nessa técnica (figura 2.4).

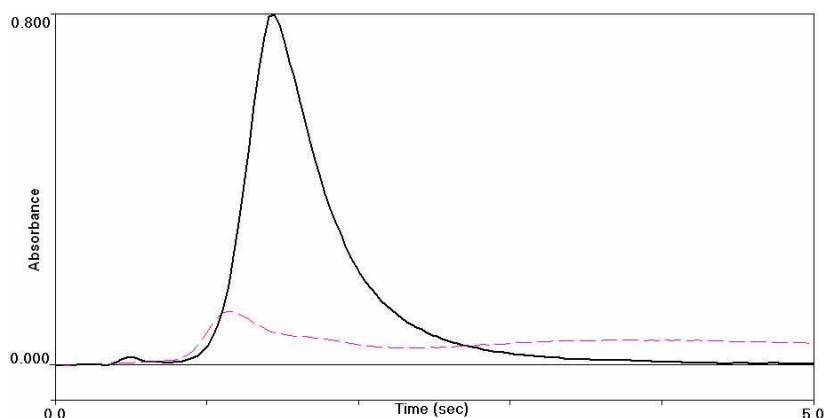


**Figura 2.4 – Pico típico em análises por GF AAS**

Os tubos testados foram: tubos com plataforma tratada com modificador químico permanente (tungstênio, ródio, rutênio, irídio, titânio, tântalo, nióbio ou zircônio) e um tubo sem modificador químico. Nesses experimentos foram utilizados as temperaturas e tempos de pirólise e atomização recomendados pelo fabricante (tabela 3.1). Dos dois modificadores que mostraram melhores resultados, foram escolhidos, aleatoriamente, um para o nível (-) e o outro para o nível (+) do planejamento fatorial.

Além do modificador químico, as temperaturas de pirólise e de atomização também foram fatores que precisaram de otimização, uma vez que os valores indicados para o fabricante referem-se à análise em meio aquoso. Sendo assim, esses dois parâmetros foram também incluídos no planejamento fatorial. Partindo-se das condições recomendadas pelo fabricante, foram escolhidos dois valores de temperatura de pirólise e dois para a temperatura de atomização. Tais valores estiveram um pouco abaixo e um pouco acima daqueles recomendados.

Finalmente, um planejamento fatorial fracionário  $2^3$  foi montado para avaliação preliminar das variáveis temperatura de pirólise, temperatura de atomização e modificador químico. As respostas obtidas foram tratadas através do software Statistica 6.0 (STATSOFT, 2001).

Após determinar quais foram os parâmetros significativos, foi possível observar como cada um desses fatores afetava a resposta. Na etapa seguinte, através de um planejamento composto central foi obtida uma superfície de resposta, utilizada no refinamento daqueles parâmetros significativos para, enfim,

obterem-se as condições ótimas de análise. O uso de modificador químico já foi definido no planejamento fatorial, já que se tratava de um parâmetro qualitativo e não necessitava de um refinamento.

## 2.4 Validação dos métodos

Todos os métodos propostos tiveram os parâmetros de mérito determinados conforme as definições descritas no item 1.5.

## 3. Resultados e discussão

### 3.1 Método para arsênio em batatas

#### 3.1.1. Otimização das condições analíticas

Como não foi obtido um bom sinal nos testes iniciais para triagem de modificadores, a amostra usada foi então fortificada com arsênio, sendo adicionada uma quantidade de solução padrão, resultando numa concentração final do analito igual a  $30 \mu\text{g L}^{-1}$ , a qual foi utilizada em todas etapas seguintes da otimização.

Com sucessivos testes de temperatura e tempo para secagem, mantidas todas as demais condições recomendadas pelo fabricante constantes, a secagem ocorreu com melhor eficiência em três etapas, variando-se de 90 a 200°C (tabela 3.1).

**Tabela 3.1** – Programa de temperatura de forno usado na triagem de modificadores permanentes para diferentes constituintes inorgânicos

| Etapa      | Temperatura (°C) |      |      |      | Rampa (s) | Tempo de retenção (s) | Fluxo de argônio (mL min <sup>-1</sup> ) |
|------------|------------------|------|------|------|-----------|-----------------------|------------------------------------------|
|            | As               | Cd   | Ni   | Pb   |           |                       |                                          |
| Secagem    | 90               | 90   | 90   | 90   | 5         | 10                    | 250                                      |
|            | 150              | 150  | 150  | 150  | 10        | 20                    | 250                                      |
|            | 200              | 200  | 200  | 200  | 10        | 20                    | 250                                      |
| Pirólise   | 1300             | 850  | 1400 | 700  | 10        | 25                    | 250                                      |
| Atomização | 2300             | 1650 | 2500 | 1800 | 1         | 5                     | 0                                        |
| Limpeza    | 2700             | 2700 | 2700 | 2700 | 1         | 5                     | 250                                      |

Após a otimização da secagem, foi realizada a triagem de modificador permanente, em que foram testados diferentes tubos de grafite com plataformas integradas para seleção daqueles dois que

apresentassem melhores performances. Os melhores resultados para arsênio foram obtidos com os tubos tratados com irídio e com rutênio. Esses dois modificadores, as temperaturas de 800 e 1400°C para pirólise, e de 2000 e 2600 °C para atomização foram considerados para construir a matriz de experimentos do planejamento fatorial, apresentada na tabela 3.2. Nessa tabela, os valores de absorvância integrada indicados correspondem à média das leituras feitas em triplicata.

A partir do gráfico de Pareto (Figura 3.1) obtido, foi possível observar que tanto a temperatura de pirólise quanto a temperatura de atomização apresentaram efeito significativo na absorvância a 95% de confiança. No mesmo gráfico, dentre nos níveis escolhidos a melhor condição indicada para atomização foi a temperatura de 2600°C, enquanto para pirólise foi a temperatura de 800°C. Já o modificador não apresentou efeito significativo, sendo escolhido o tubo tratado com irídio para os demais testes.

**Tabela 3.2** – Matriz de experimentos do planejamento fatorial para As em batata

| Experimento | Temperatura de atomização (°C) | Temperatura de pirólise (°C) | Modificador | Absorvância integrada |
|-------------|--------------------------------|------------------------------|-------------|-----------------------|
| 1           | 2000 (-)                       | 800(-)                       | Ir (-)      | 0,109 ± 0,010         |
| 2           | 2600 (+)                       | 800(-)                       | Ir (-)      | 0,033 ± 0,003         |
| 3           | 2000 (-)                       | 1400 (+)                     | Ir (-)      | 0,197 ± 0,021         |
| 4           | 2600 (+)                       | 1400 (+)                     | Ir (-)      | 0,164 ± 0,005         |
| 5           | 2000 (-)                       | 800(-)                       | Ru (+)      | 0,120 ± 0,006         |
| 6           | 2600 (+)                       | 800(-)                       | Ru (+)      | 0,249 ± 0,011         |
| 7           | 2000 (-)                       | 1400 (+)                     | Ru (+)      | 0,005 ± 0,002         |
| 8           | 2600 (+)                       | 1400 (+)                     | Ru (+)      | 0,096±0,004           |

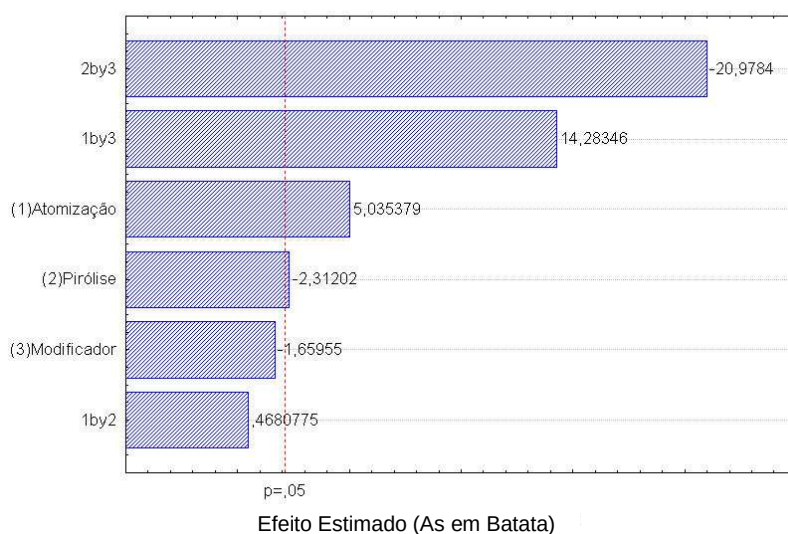


**Figura 3.1** – Gráfico de Pareto gerado a partir do planejamento fatorial para As em batata

Em seqüência, foi usado planejamento composto central (CCD) para um melhor ajuste dessas duas variáveis - temperatura de atomização (TA) e temperatura de pirólise (TP), como mostra a Tabela 3.3, em que é apresentada a matriz dos experimentos realizados. Nesse estudo foi utilizado o tubo com plataforma tratada com Ir. A Figura 3.2 mostra a superfície de resposta obtida através do tratamento matemático dos resultados obtidos com esse planejamento. As melhores temperaturas de atomização e de pirólise correspondem ponto de máximo da superfície, que é o ponto onde a derivada da função da superfície é igual a zero.

**Tabela 3.3** – Matriz de experimentos do CCD para As em batatas utilizando tubo de grafite com a plataforma tratada com irídio.

| Experimento | Temperatura de atomização (°C) | Temperatura de pirólise (°C) | Absorvância integrada |
|-------------|--------------------------------|------------------------------|-----------------------|
| 1           | 2610                           | 830                          | 0,133                 |
| 2           | 2610                           | 970                          | 0,092                 |
| 3           | 2690                           | 830                          | 0,133                 |
| 4           | 2690                           | 970                          | 0,097                 |
| 5           | 2600                           | 900                          | 0,108                 |
| 6           | 2700                           | 900                          | 0,136                 |
| 7           | 2650                           | 800                          | 0,136                 |
| 8           | 2650                           | 1000                         | 0,099                 |
| PC          | 2650                           | 900                          | 0,138                 |
| PC          | 2650                           | 900                          | 0,137                 |
| PC          | 2650                           | 900                          | 0,139                 |
| PC          | 2650                           | 900                          | 0,133                 |
| PC          | 2650                           | 900                          | 0,134                 |

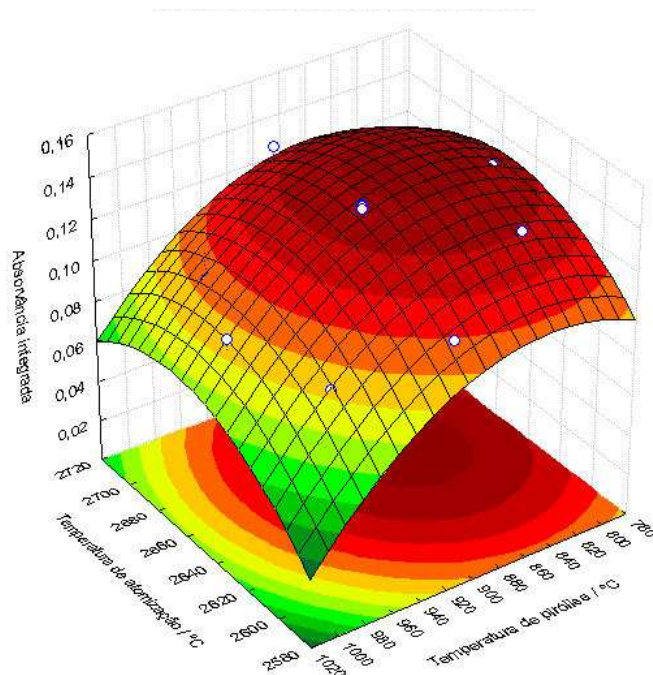


**Figura 3.2** – Superfície de resposta obtida a partir do CCD da metodologia para As em batata

A tabela 3.4 mostra as condições otimizadas para o programa de aquecimento do forno para o método proposto.

**Tabela 3.4** – Programa de aquecimento otimizado para determinação de arsênio em batata.

| Etapa        | Temperatura (°C) | Rampa (s) | Tempo de retenção (s) | Fluxo de argônio (mL min <sup>-1</sup> ) |
|--------------|------------------|-----------|-----------------------|------------------------------------------|
| Secagem      | 100              | 5         | 10                    | 250                                      |
| Secagem      | 150              | 10        | 20                    | 250                                      |
| Secagem      | 200              | 10        | 20                    | 250                                      |
| Pirólise     | 850              | 10        | 20                    | 250                                      |
| Resfriamento | 30               | 1         | 5                     | 250                                      |
| Atomização   | 2660             | 1         | 5                     | 0                                        |
| Limpeza      | 2700             | 0         | 5                     | 250                                      |

### 3.1.2. Validação do método

Na Figura 3.3 são apresentadas duas curvas de calibração cuja comparação permite avaliar o efeito de matriz. A curva tracejada corresponde àquela construída em meio aquoso (curva aquosa), enquanto a contínua corresponde àquela construída com adição de padrão à amostra (curva com ajuste de matriz).

Como é possível deduzir visualmente, há uma diferença bastante significativa entre as inclinações das curvas, dispensando assim a realização de testes estatísticos (teste F e teste t de Student). Com isso, todos os estudos posteriores foram feitos utilizando-se calibração por ajuste de matriz, ou seja, para construir a curva foram adicionados volumes de uma solução padrão de As e quantidades iguais da amostra usada nos outros testes a diferentes tubos e ainda diluente para completar os volumes, conforme a faixa de trabalho (0 a 50  $\mu\text{g L}^{-1}$ ). O método apresentou linearidade satisfatória, visto que a calibração por ajuste de matriz apresentou um coeficiente de correlação superior a 0,99 para a faixa estudada.

Demais figuras de mérito determinadas para essa metodologia estão apresentadas na tabela 3.5. A massa característica média determinada está próxima ao valor recomendado pelo fabricante do equipamento. Os valores encontrados para o limite de detecção e de quantificação foram apropriados para determinações de arsênio por GF AAS e compatíveis com outras metodologias encontradas na literatura. Na determinação simultânea de alguns analitos no vinho com introdução direta da amostra, AJTONY *et al.* (2005) propuseram um método cujo LD foi de 3,9  $\mu\text{g L}^{-1}$  de arsênio. Numa comparação entre GF AAS e HG AAS (SHAH *et al.*, 2009) o método desenvolvido para determinação de arsênio em carne de galinha por forno de grafite apresentou um LQ de 0,18  $\mu\text{g g}^{-1}$ . SZOBOSZLAI *et al.* (2007) propuseram um método de análise multi-elementar de constituintes em mel, obtendo LD para arsênio igual a 1,0  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

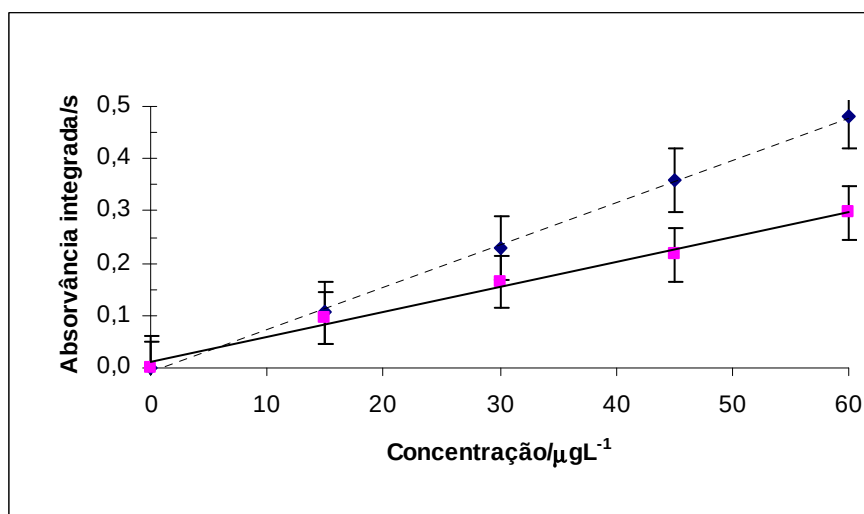


**Figura 3.3** – Estudo do efeito da matriz da metodologia para arsênio em batata

Nas tabelas 3.6 e 3.7 são apresentados os resultados obtidos nos estudos com recuperação realizados em três dias diferentes. Na primeira, são indicados os valores obtidos para a precisão usando-se a metodologia proposta na seção 1.5.5. Os resultados encontrados, cuja variação esteve entre 4,6 a 6,6% para precisão entra-ensaio, e 2,6 a 9,6% para precisão inter-ensaio, foram inferiores aos limites aceitáveis para as faixas escolhidas para testes. Na tabela 3.7 são apresentadas as recuperações obtidas para amostras de batatas fortificadas com arsênio na faixa de 10,0 a 50,0  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

**Tabela 3.5** – Parâmetros de mérito obtidos para a metodologia de As em batata.

| Parâmetro                             | Resultados                                               |
|---------------------------------------|----------------------------------------------------------|
| Equação de regressão ( $n=3$ )        | $Abs = (0,0052 \pm 0,0011) C_{As} + (0,0110 \pm 0,0010)$ |
| $R^2$ ( $n=3$ )                       | $0,9956 \pm 0,0009$                                      |
| Faixa linear ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) | $5,2 - 60,0$                                             |
| LD ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )           | 1,36                                                     |
| ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )              | 0,08                                                     |
| LQ ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )           | 5,15                                                     |
| ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )              | 0,26                                                     |
| Massa característica (pg)             | $15,8 \pm 2,8$                                           |

**Tabela 3.6** – CV intra-ensaio e inter-ensaios obtidos para o método de As em batata.

| Concentração de arsênio ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) | CV intra-ensaio (% , $n=5$ ) | CV inter-ensaios (% , $n=15$ ) |
|--------------------------------------------------|------------------------------|--------------------------------|
| 10,0                                             | 4,6                          | $7,5 \pm 2,1$                  |
| 20,0                                             | 6,6                          | $3,9 \pm 1,3$                  |
| 50,0                                             | 4,8                          | $4,5 \pm 0,8$                  |

**Tabela 3.7** – Recuperações de arsênio em batata.

| Concentração de arsênio ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) | Valor determinado ( $\mu\text{g L}^{-1}$ , $n=15$ ) | Recuperação (% , $n=15$ ) |
|--------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|---------------------------|
| 10,0                                             | $10,1 \pm 1,5$                                      | $101 \pm 15$              |
| 20,0                                             | $19,5 \pm 2,0$                                      | $97 \pm 10$               |
| 50,0                                             | $51,4 \pm 2,9$                                      | $103 \pm 7$               |

Ao analisar o material certificado com o método proposto, cujo teor de arsênio indicado é  $(0,29 \pm 0,03) \mu\text{g g}^{-1}$ , foi encontrado um valor médio de  $(0,28 \pm 0,06) \mu\text{g g}^{-1}$ . Avaliando-se essas informações com um teste F e teste t, foi possível concluir com 95% de confiabilidade que não há diferença significativa entre esses valores, visto que os valores de F e t calculados (4,0 e 0,13, respectivamente), são inferiores aos valores de F e t tabelados (19 e 4,3, respectivamente).

### 3.1.3. Determinação de arsênio em amostras de batata

Na Tabela 3.8 estão apresentados os teores de arsênio determinados nas batatas coletadas na região do Quadrilátero Ferrífero e em outras regiões mineiras. Pode ser visto que a faixa de concentração

encontrada nessas amostras foi de <LD a 0,18 µg g<sup>-1</sup>. Todos os resultados obtidos estão abaixo do LQ. Duas amostras (B1 e B2) apresentaram valores superiores ao LD.

#### 3.1.4. Conclusões para determinação de arsênio em batata

É possível o emprego da técnica de GF AAS para determinar arsênio em amostras de batata, introduzidas sob a forma de suspensão, sem necessidade de digestão prévia dessas amostras.

Apesar do efeito de matriz ter se apresentado significativo, a calibração feita por ajuste de matriz apresentou satisfatória linearidade.

Os estudos da exatidão e da precisão foram aceitáveis, bem como o valor encontrado para o material de referência certificado analisado.

**Tabela 3.8** – Teor de arsênio em batatas obtido com o método proposto.

| Amostra | Teor de arsênio (µg g <sup>-1</sup> ) | Amostra | Teor de arsênio (µg g <sup>-1</sup> ) |
|---------|---------------------------------------|---------|---------------------------------------|
| B1      | 0,18 ± 0,04                           | B7      | < LD                                  |
| B2      | 0,14 ± 0,05                           | B8      | < LD                                  |
| B3      | < LD                                  | B9      | < LD                                  |
| B4      | < LD                                  | B10     | < LD                                  |
| B5      | < LD                                  | B11     | < LD                                  |
| B6      | < LD                                  | B12     | < LD                                  |

O método apresentou uma boa sensibilidade, visto que a massa característica determinada ficou bem próxima àquela recomendada pelo fabricante (15,0 pg).

Felizmente todas as amostras analisadas apresentaram baixos teores de arsênio, sendo tais valores abaixo do limite de quantificação.

### 3.2 Método para cádmio em batata

#### 3.2.1. Otimização das condições analíticas

A otimização desse método, bem como a sua validação, seguiu a mesma seqüência adotada na determinação de arsênio em batata (seção 3.1). Entretanto, não foi necessário fortificar a amostra usada na otimização, pois essa já apresentava um teor desse analito cuja absorvância gerava um sinal adequado para os experimentos seguintes necessários para otimização e validação do método.

Na etapa de triagem de modificadores para esse método, os modificadores permanentes que apresentaram melhores resultados foram zircônio e titânio. Foram esses então escolhidos para o

planejamento fatorial, cuja matriz dos experimentos é apresentada na tabela 3.9, bem como as temperaturas 800 e 1200°C para pirólise, e 1600 e 2100°C para atomização, sendo os valores de absorvância integrada indicados correspondentes à média das medições em triplicata.

A partir do gráfico de Pareto (Figura 3.4) obtido, foi possível perceber que todos os três fatores apresentaram efeito significativo na absorvância a 95% de confiança. No mesmo gráfico, dentre nos níveis escolhidos, a melhor condição indicada para atomização foi a temperatura de 1600°C, enquanto para pirólise foi a temperatura de 800°C. A partir desses dois valores de temperatura, um planejamento o CCD foi então construído. Já o melhor modificador foi o titânio. Esse tubo foi usado nos experimentos do CCD, cuja matriz é apresentada na tabela 3.10. A Figura 3.5 mostra a superfície de resposta obtida através desse planejamento.

Concluída a otimização, a Tabela 3.11 apresenta o programa de aquecimento do forno, utilizado na determinação proposta.

**Tabela 3.9** – Matriz de experimentos do planejamento fatorial para cádmio em batata

| Experimento | Temperatura de atomização (°C) | Temperatura de pirólise (°C) | Modificador | Absorvância integrada |
|-------------|--------------------------------|------------------------------|-------------|-----------------------|
| 1           | 1600 (-)                       | 800 (-)                      | Zr (-)      | 0,413 ± 0,019         |
| 2           | 2100 (+)                       | 800 (-)                      | Zr (-)      | 0,158 ± 0,005         |
| 3           | 1600 (-)                       | 1200 (+)                     | Zr (-)      | 0,008 ± 0,003         |
| 4           | 2100 (+)                       | 1200 (+)                     | Zr (-)      | -0,006 ± 0,002        |
| 5           | 1600 (-)                       | 800 (-)                      | Ti (+)      | 0,523 ± 0,021         |
| 6           | 2100 (+)                       | 800 (-)                      | Ti (+)      | 0,223 ± 0,006         |
| 7           | 1600 (-)                       | 1200 (+)                     | Ti (+)      | 0,005 ± 0,002         |
| 8           | 2100 (+)                       | 1200 (+)                     | Ti (+)      | -0,003 ± 0,001        |

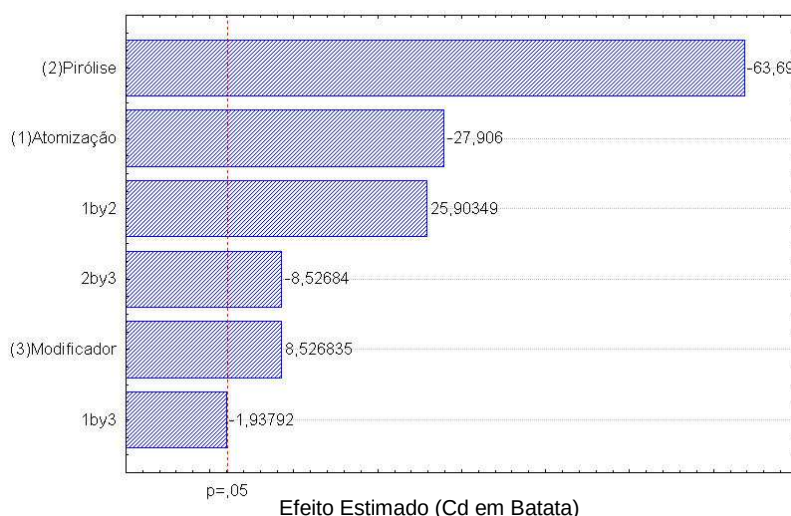


**Figura 3.4** – Gráfico de Pareto gerado a partir do planejamento fatorial para Cd em batata.

**Tabela 3.10** – Matriz de experimentos do CCD para cádmio em batata utilizando tubo de grafite com a plataforma tratada com titânio

| Experimento | Temperatura de atomização (°C) | . Temperatura de pirólise (°C) | Absorvância integrada |
|-------------|--------------------------------|--------------------------------|-----------------------|
| 1           | 1530                           | 700                            | 0,576                 |
| 2           | 1530                           | 900                            | 0,639                 |
| 3           | 1770                           | 700                            | 0,474                 |
| 4           | 1770                           | 900                            | 0,449                 |
| 5           | 1480                           | 800                            | 0,717                 |
| 6           | 1820                           | 800                            | 0,505                 |
| 7           | 1650                           | 660                            | 0,633                 |
| 8           | 1650                           | 940                            | 0,628                 |
| 9 (PC)      | 1650                           | 800                            | 0,764                 |
| 10 (PC)     | 1650                           | 800                            | 0,752                 |
| 11 (PC)     | 1650                           | 800                            | 0,774                 |
| 12 (PC)     | 1650                           | 800                            | 0,769                 |
| 13 (PC)     | 1650                           | 800                            | 0,738                 |

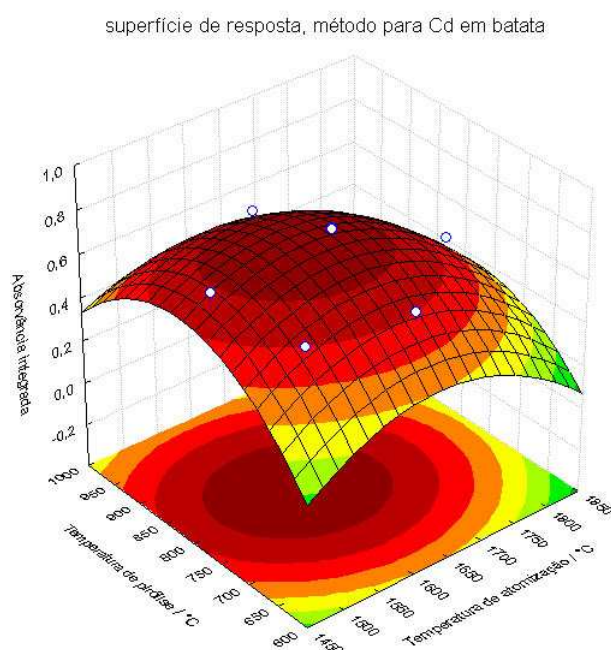


**Figura 3.5** – Superfície de resposta obtida a partir do CCD da metodologia para Cd em batata

**Tabela 3.11** – Programa de aquecimento otimizado para determinação de Cd em batata.

| Etapa        | Temperatura (°C) | Rampa (s) | Tempo de permanência (s) | Fluxo de argônio (mL min <sup>-1</sup> ) |
|--------------|------------------|-----------|--------------------------|------------------------------------------|
| Secagem      | 100              | 5         | 10                       | 250                                      |
| Secagem      | 150              | 10        | 20                       | 250                                      |
| Secagem      | 200              | 10        | 20                       | 250                                      |
| Pirólise     | 800              | 10        | 20                       | 250                                      |
| Resfriamento | 30               | 1         | 5                        | 250                                      |
| Atomização   | 1600             | 1         | 5                        | 0                                        |
| Limpeza      | 2700             | 0         | 5                        | 250                                      |

### 3.2.2. Validação do método

Na Figura 3.6 são apresentadas duas curvas de calibração cuja comparação permitiu avaliar o efeito de matriz. A curva tracejada corresponde àquela construída em meio aquoso (curva aquosa), enquanto a contínua corresponde àquela construída com ajuste de matriz. O método apresentou linearidade satisfatória, visto que as ambas curvas de calibração apresentaram coeficientes de correlação superiores a 0,99 para a faixa estudada (0 a 5,0 µg L<sup>-1</sup>). Mesmo com as curvas apresentando inclinações semelhantes, foram aplicados testes estatísticos (teste F e teste t de Student) para confirmar essa possibilidade.

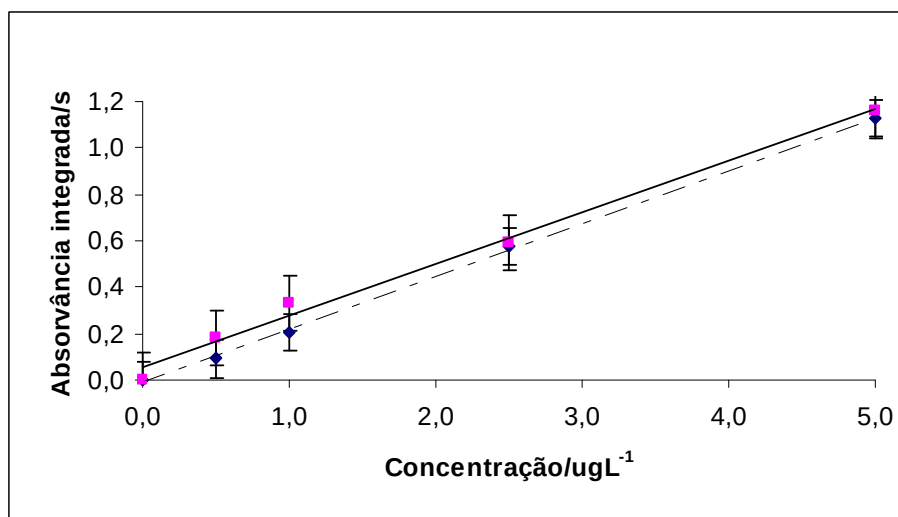


**Figura 3.6** – Estudo do efeito da matriz da metodologia para cádmio em batata

A Tabela 3.12 apresenta as demais figuras de mérito determinadas para esse método. A massa característica média determinada está próxima ao valor recomendado pelo fabricante do equipamento.

Para os limites de detecção e de quantificação foram encontrados valores também adequados para determinações por GF AAS e compatíveis com outras metodologias encontradas na literatura. ARANDA et al. (2008) usando extração por ponto nuvem em amostras biológicas digeridas por microondas, relatam um método cujo LQ foi  $0,027 \mu\text{g.L}^{-1}$ . Já ALEIXO et al. (2004) obtiveram LQ de  $0,03 \mu\text{g.L}^{-1}$  na determinação de cádmio em alimentos, como hortaliças, jiló, cogumelo entre outros. BOBROWSKA-GRZESIK e JAKOBIK-KOLON (2008) analisando frutas secas e ervas, conseguiram LD e LQ iguais a  $0,034 \mu\text{g L}^{-1}$  e  $1,10 \mu\text{g.L}^{-1}$ , respectivamente, no método empregado para esse analito.

Nas tabelas 3.13 e 3.14 são apresentados os resultados obtidos nos estudos com recuperação também realizados em três dias diferentes. Na primeira tabela, estão indicados os valores obtidos para a precisão, avaliada através dos coeficientes de variação (CV), usando-se a metodologia proposta na seção 1.5.5. Os resultados encontrados, cuja variação esteve entre 6,0 a 7,9% para precisão intra-ensaio, e 2,6 a 9,6% para precisão inter-ensaio, foram inferiores aos limites aceitáveis para a faixa escolhida para os testes. A Tabela 3.14 apresenta as recuperações obtidas para amostras de batatas fortificadas com cádmio na faixa de 0,8 a  $4,0 \mu\text{g L}^{-1}$ .

**Tabela 3.12** – Parâmetros de mérito obtidos para a metodologia de Cd em batata.

| Parâmetro                                             | Resultados                                                        |
|-------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|
| Equação de regressão ( $n=3$ )                        | $\text{Abs}=(0,2745 \pm 0,0292)C_{\text{Cd}}+(0,0455 \pm 0,0087)$ |
| $R^2$ ( $n=3$ )                                       | $0,9971 \pm 0,0013$                                               |
| Faixa linear ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )                 | 0,25 – 5,0                                                        |
| LD ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )<br>( $\text{ng g}^{-1}$ ) | 0,08<br>3,77                                                      |
| LQ ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )<br>( $\text{ng g}^{-1}$ ) | 0,25<br>12,6                                                      |
| Massa característica (pg)                             | $0,28 \pm 0,04$                                                   |

**Tabela 3.13** – CV intra-ensaio e inter-ensaios obtidos para a metodologia de Cd em batata.

| Concentração de cádmio ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) | CV intra-ensaio<br>(%, $n=5$ ) | CV inter-ensaios<br>(%, $n=15$ ) |
|-------------------------------------------------|--------------------------------|----------------------------------|
| 0,8                                             | 6,0                            | $6,1 \pm 2,3$                    |
| 2,0                                             | 6,1                            | $6,8 \pm 1,8$                    |
| 4,0                                             | 7,9                            | $6,0 \pm 3,4$                    |

Ao analisar o material certificado à metodologia proposta, cujo teor de cádmio indicado é  $(0,022 \pm 0,002) \mu\text{g g}^{-1}$ , foi encontrado o valor médio de  $(0,023 \pm 0,001) \mu\text{g g}^{-1}$ . Avaliando-se essas informações com aplicação dos testes F e t, foi possível concluir com 95% de confiabilidade que não há diferença

significativa entre esses valores, visto que os valores de F e t calculados (13,7 e 0,86, respectivamente), os quais são inferiores aos valores de F e t tabelados (19 e 4,3, respectivamente).

**Tabela 3.14** – Recuperações de cádmio em batata.

| Concentração de cádmio ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) | Valor determinado ( $\mu\text{g L}^{-1}$ , n=15) | Recuperação (% , n=15) |
|-------------------------------------------------|--------------------------------------------------|------------------------|
| 0,8                                             | $0,8 \pm 0,0$                                    | $100 \pm 4$            |
| 2,0                                             | $2,1 \pm 0,1$                                    | $105 \pm 3$            |
| 4,0                                             | $4,1 \pm 0,2$                                    | $102 \pm 5$            |

### 3.2.3. Determinação de cádmio em amostras de batata

Na Tabela 3.15 estão apresentados os teores de cádmio determinados em batatas coletadas na região do Quadrilátero Ferrífero e de outras regiões mineiras. Pode-se observar que a faixa de concentração de cádmio nessas amostras foi de 19,5 a 80,4  $\text{ng g}^{-1}$ .

**Tabela 3.15** – Teor de cádmio em batata obtido com o método proposto.

| Amostra | Teor de cádmio ( $\text{ng g}^{-1}$ ) | Amostra | Teor de cádmio ( $\text{ng g}^{-1}$ ) |
|---------|---------------------------------------|---------|---------------------------------------|
| B1      | $80,4 \pm 4,5$                        | B7      | $23,8 \pm 0,5$                        |
| B2      | $79,0 \pm 0,5$                        | B8      | $32,0 \pm 1,1$                        |
| B3      | $23,6 \pm 1,3$                        | B9      | $22,7 \pm 1,0$                        |
| B4      | $21,5 \pm 0,6$                        | B10     | $26,8 \pm 1,1$                        |
| B5      | $20,5 \pm 0,6$                        | B11     | $19,5 \pm 1,2$                        |
| B6      | $23,5 \pm 0,9$                        | B12     | $23,8 \pm 1,2$                        |

### 3.2.4. Conclusões para cádmio em batata

É possível o emprego da técnica de GF AAS para determinar cádmio em amostras de batata, introduzidas sob a forma de suspensão, sem necessidade de digestão prévia dessas amostras.

O efeito da matriz não foi significativo, o que foi comprovado através de testes estatísticos. Com isso foi possível o uso de calibração aquosa, apresentando essa curva de calibração uma linearidade satisfatória, já que o coeficiente de correlação foi superior a 0,99. A partir dessa constatação, também foi possível analisar as amostras com a curva de calibração aquosa.

O método apresentou uma ótima sensibilidade, visto que a massa característica média foi 0,28  $\mu\text{g}$ , valor abaixo daquele indicado pelo fabricante (0,50  $\mu\text{g}$ ).

A exatidão, investigada em estudos de recuperação para diferentes concentrações do metal em batata, e a precisão estão dentro dos limites aceitáveis, bem como o teste feito com o material certificado.

Comparando-se os resultados das amostras que apresentaram maiores teores de cádmio - B1 e B2 – com os dados obtidos para determinação de arsênio em batatas, nota-se que essas duas foram as únicas que apresentaram teores quantificáveis de arsênio. Tal ocorrência poderia indicar uma associação entre esses metais.

### 3.3 Método para níquel em batata

#### 3.3.1. Otimização das condições analíticas

Analogamente, a otimização desse método, bem como a sua validação, seguiu a mesma sequência adotada na determinação de arsênio e cádmio em batata (seções 3.1 e 3.2), sendo necessário fortificar a amostra com níquel na concentração final de  $30,0 \mu\text{g L}^{-1}$ .

Os modificadores permanentes que apresentaram melhores resultados na etapa de triagem foram ródio e nióbio, sendo empregadas as temperaturas de pirólise e de atomização iguais a 1200 e 2600°C, condições recomendadas pelo fabricante. Além desses dois modificadores, foram também consideradas para o planejamento fatorial as temperaturas de 1200 e 1600°C para pirólise, e de 2300 e 2600°C para atomização, cuja matriz de experimentos está apresentada na tabela 3.16, em que os valores de absorvância integrada indicados correspondem à média das leituras em triplicata.

**Tabela 3.16** – Matriz de experimentos do planejamento fatorial para níquel em batata.

| Experimento | Temperatura de atomização (°C) | Temperatura de pirólise (°C) | Modificador | Absorvância integrada |
|-------------|--------------------------------|------------------------------|-------------|-----------------------|
| 1           | 2300 (-)                       | 1200 (-)                     | Rh (-)      | $0,482 \pm 0,020$     |
| 2           | 2600 (+)                       | 1200 (-)                     | Rh (-)      | $0,646 \pm 0,010$     |
| 3           | 2300 (-)                       | 1600 (+)                     | Rh (-)      | $0,480 \pm 0,006$     |
| 4           | 2600 (+)                       | 1600 (+)                     | Rh (-)      | $0,645 \pm 0,005$     |
| 5           | 2300 (-)                       | 1200 (-)                     | Nb (+)      | $1,001 \pm 0,081$     |
| 6           | 2600 (+)                       | 1200 (-)                     | Nb (+)      | $0,664 \pm 0,029$     |
| 7           | 2300 (-)                       | 1600 (+)                     | Nb (+)      | $0,640 \pm 0,036$     |
| 8           | 2600 (+)                       | 1600 (+)                     | Nb (+)      | $0,664 \pm 0,007$     |

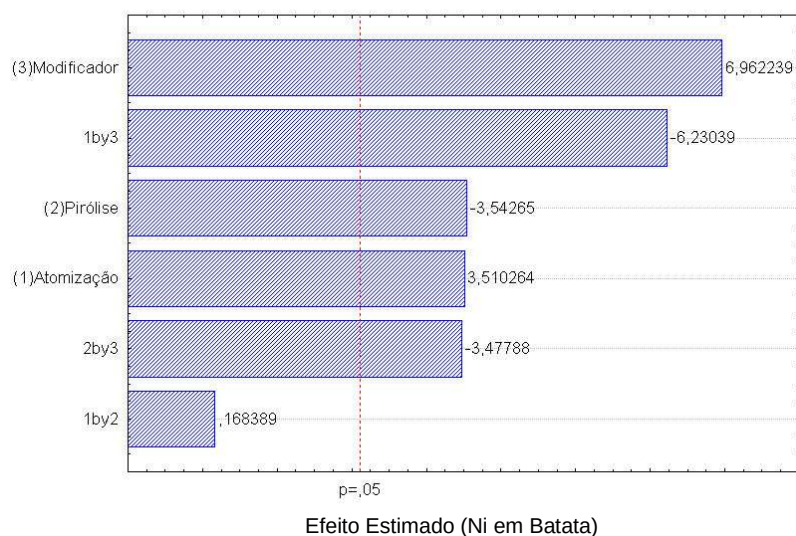


**Figura 3.7** – Gráfico de Pareto gerado a partir do planejamento fatorial para níquel em batatas

**Tabela 3.17** – Matriz de experimentos do CCD para níquel em batata utilizando tubo de grafite com a plataforma tratada com nióbio.

| Experimento. | Temperatura de atomização (°C) | Temperatura de pirólise (°C) | Absorvância integrada |
|--------------|--------------------------------|------------------------------|-----------------------|
| 1            | 2300                           | 1050                         | 0,183                 |
| 2            | 2300                           | 1350                         | 0,558                 |
| 3            | 2500                           | 1050                         | 0,667                 |
| 4            | 2500                           | 1350                         | 0,703                 |
| 5            | 2259                           | 1200                         | 0,590                 |
| 6            | 2541                           | 1200                         | 0,705                 |
| 7            | 2400                           | 988                          | 0,673                 |
| 8            | 2400                           | 1412                         | 0,678                 |
| 9 (PC)       | 2400                           | 1200                         | 0,690                 |
| 10 (PC)      | 2400                           | 1200                         | 0,688                 |
| 11 (PC)      | 2400                           | 1200                         | 0,695                 |
| 12 (PC)      | 2400                           | 1200                         | 0,695                 |
| 13 (PC)      | 2400                           | 1200                         | 0,693                 |

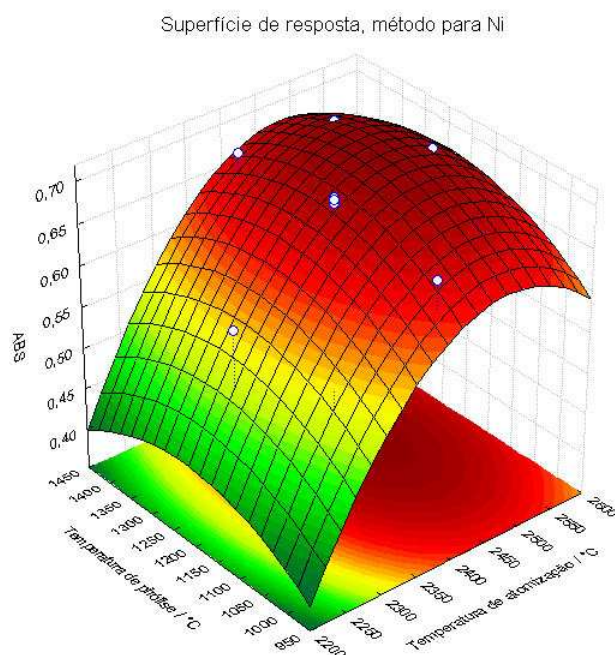


**Figura 3.8** – Superfície de resposta obtida a partir do CCD para níquel em batata.

Nota-se, através do gráfico de Pareto obtido (Figura 3.7) que todas as três variáveis apresentaram efeito significativo na absorvância a 95% de confiança. No mesmo gráfico, dentre nos níveis escolhidos a melhor condição indicada para atomização foi a temperatura 2600°C, enquanto para pirólise foi a temperatura de de 1200°C. Com base nesses dois valores de temperatura o CCD foi então elaborado. Já o melhor modificador permanente foi o titânio. Esse tudo foi usado nos experimentos do CCD, cuja matriz é apresentada na tabela 3.17. A partir desse segundo planejamento foi possível obter a superfície de resposta obtida, que está apresentada na Figura 3.8.

As condições otimizadas para o programa de aquecimento do forno de grafite para determinação de níquel em batata estão apresentadas na Tabela 3.18.

**Tabela 3.18** – Programa otimizado de aquecimento para determinação de Ni em batata.

| Etapa        | Temperatura (°C) | Rampa (s) | Tempo de retenção (s) | Fluxo de argônio (mL min <sup>-1</sup> ) |
|--------------|------------------|-----------|-----------------------|------------------------------------------|
| Secagem      | 100              | 5         | 10                    | 250                                      |
| Secagem      | 150              | 10        | 20                    | 250                                      |
| Secagem      | 200              | 10        | 20                    | 250                                      |
| Pirólise     | 1520             | 10        | 20                    | 250                                      |
| Resfriamento | 30               | 1         | 5                     | 250                                      |
| Atomização   | 2620             | 0         | 5                     | 0                                        |
| Limpeza      | 2700             | 1         | 5                     | 250                                      |

### 3.3.2. Validação do método

Na Figura 3.9 são apresentadas duas curvas de calibração cuja comparação permitiu avaliar o efeito de matriz. A curva tracejada corresponde àquela construída em meio aquoso (curva aquosa), enquanto a contínua corresponde àquela construída com ajuste de matriz. O método apresentou linearidade satisfatória, visto que ambas curvas de calibração apresentaram coeficientes de correlação superiores a 0,99 para a faixa estudada (0 a 50,0  $\mu\text{g L}^{-1}$ ). Apesar das curvas aparentarem inclinações visivelmente semelhantes, foram aplicados testes estatísticos (teste F e teste t de Student) que confirmaram essa possibilidade.

A Tabela 3.19 apresenta as demais figuras de mérito determinadas para esse método. A massa característica média determinada ficou próxima ao valor recomendado pelo fabricante do equipamento. Para os limites de detecção e de quantificação foram encontrados valores também adequados para determinações de níquel por GF AAS e compatíveis com outras metodologias encontradas na literatura. Tuzen (2009), analisando metais diversos em peixes do Mar Negro, obteve um limite de detecção para Ni igual a 0,37  $\mu\text{g g}^{-1}$ . Lemos *et al.* (2005) aplicando um procedimento de pré-concentração usado na determinação de níquel em alimentos obtiveram um LD de 2,0  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Na proposição de um método para determinação de Ni em amostras de alimentos, empregando extração em ponto nuvem, Ghaedi (2008) *et al.* obtiveram um LD igual a 1,9  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

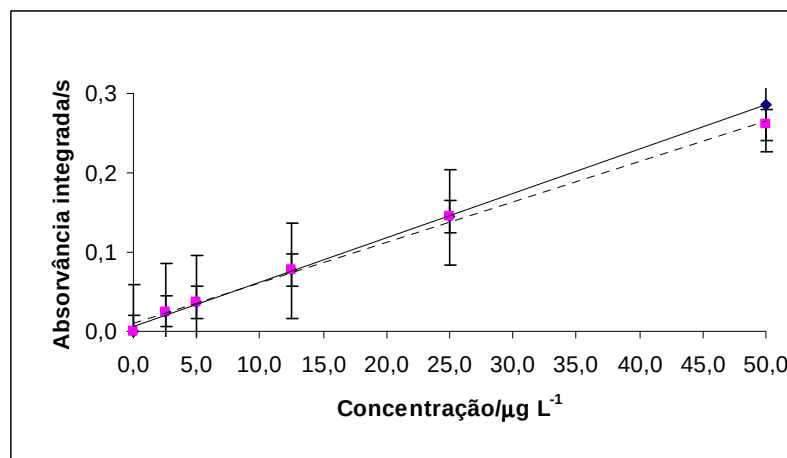


**Figura 3.9** – Estudo do efeito da matriz da metodologia para níquel em batatas.

Nas tabelas 3.20 e 3.21 são apresentados os resultados obtidos nos estudos com recuperação também realizados em três dias diferentes. Na primeira tabela, estão indicados os valores obtidos para a precisão usando-se a metodologia proposta na seção 1.5.5. Os resultados encontrados, cuja variação esteve entre 5,6 e 8,9% para precisão intra-ensaio, e 3,1 a 8,9% para precisão inter-ensaio, foram inferiores aos limites aceitáveis para as faixas escolhidas para os testes. A Tabela 3.21 apresenta as recuperações obtidas para batatas com quantidades de níquel adicionadas na faixa de 10,0 a 40,0  $\mu\text{g L}^{-1}$ , mostrando que todos os

resultados estão incluídos na faixa de 80 a 120%. Infelizmente não foi analisado material certificado pois aquele disponível não apresentava níquel como constituinte.

**Tabela 3.19** – Parâmetros de mérito para o método de determinação de níquel em batata.

| Parâmetro                             | Resultados                                              |
|---------------------------------------|---------------------------------------------------------|
| Equação de regressão ( $n=3$ )        | $Abs = (0,0054 \pm 0,0004)C_{Ni} + (0,0059 \pm 0,0048)$ |
| $R^2$ ( $n=3$ )                       | $0,9983 \pm 0,0004$                                     |
| Faixa linear ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) | $7,85 - 50,0$                                           |
| LD ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )           | 2,35                                                    |
| ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )              | 0,12                                                    |
| LQ ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )           | 7,85                                                    |
| ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )              | 0,39                                                    |
| Massa característica (pg)             | $13,8 \pm 0,34$                                         |

**Tabela 3.20** – CV intra-ensaio e inter-ensaios obtidos para o método de Ni em batata.

| Concentração de níquel ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) | CV intra-ensaio<br>(%, $n=5$ ) | CV inter-ensaios<br>(%, $n=15$ ) |
|-------------------------------------------------|--------------------------------|----------------------------------|
| 10,0                                            | 5,9                            | $4,6 \pm 1,5$                    |
| 20,0                                            | 5,6                            | $5,7 \pm 2,0$                    |
| 40,0                                            | 8,1                            | $7,2 \pm 1,9$                    |

**Tabela 3.21** – Recuperações de níquel em batata.

| Concentração de níquel ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) | Valor determinado<br>( $\mu\text{g L}^{-1}$ , $n=15$ ) | Recuperação<br>(%, $n=15$ ) |
|-------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|-----------------------------|
| 10,0                                            | $10,6 \pm 0,3$                                         | $106 \pm 3$                 |
| 20,0                                            | $20,3 \pm 1,5$                                         | $102 \pm 7$                 |
| 40,0                                            | $40,0 \pm 2,1$                                         | $100 \pm 5$                 |

### 3.3.3. Determinação dos níveis de níquel em amostras de batata

Na Tabela 3.22 estão apresentados os teores de níquel determinados em batatas coletadas na região do Quadrilátero Ferrífero e em outras regiões mineiras. A faixa de concentração encontrada foi de  $< \text{LQ}$  a  $0,800 \mu\text{g g}^{-1}$ .

**Tabela 3.22** – Teor de níquel em batata com o método proposto.

| Amostra | Teor de níquel ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) | Amostra | Teor de níquel ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) |
|---------|-----------------------------------------|---------|-----------------------------------------|
| B1      | $0,23 \pm 0,01$                         | B7      | < LD                                    |
| B2      | $0,27 \pm 0,01$                         | B8      | $0,22 \pm 0,03$                         |
| B3      | $0,25 \pm 0,01$                         | B9      | < LD                                    |
| B4      | $0,54 \pm 0,02$                         | B10     | < LD                                    |
| B5      | $0,74 \pm 0,01$                         | B11     | $0,30 \pm 0,01$                         |
| B6      | $0,80 \pm 0,02$                         | B12     | < LD                                    |

#### 3.3.4. Conclusões para níquel em batata

É possível o emprego da técnica de GF AAS para determinar níquel em amostras de batata, introduzidas sob a forma de suspensão, sem necessidade de digestão prévia dessas amostras.

O efeito da matriz também não foi significativo, o que foi novamente comprovado através de testes estatísticos. Com isso foi possível o uso de calibração aquosa, apresentando a mesma uma linearidade satisfatória, já que o coeficiente de correlação foi superior a 0,99. A partir dessa constatação, também foi possível analisar as amostras com a curva de calibração aquosa.

O método apresentou uma ótima sensibilidade, visto que a massa característica média foi 13,8 pg, valor abaixo daquele indicado pelo fabricante (15,0 pg).

A exatidão, investigada em estudos de recuperação para diferentes concentrações do metal em batata, bem como a precisão podem ser consideradas boas. Infelizmente, não foi empregado material certificado para esse método, pois não foi encontrado algum compatível, seja em natureza, como em teor.

### 3.4 Método para chumbo em batatas

#### 3.4.1. Otimização das condições analíticas

Não diferentemente, a otimização e validação desse método seguiram as seqüências para determinação dos demais constituintes inorgânicos em batata apresentados anteriormente (seções 3.1 a 3.3), sendo a amostra usada nessa etapa fortificada com chumbo, de forma que a concentração final desse analito fosse  $30,0 \mu\text{g L}^{-1}$ .

Na escolha dos dois melhores modificadores permanentes para o planejamento fatorial, utilizando-se temperaturas e tempos de pirólise e atomização recomendados pelo fabricante, tântalio e titânio foram aqueles que apresentaram melhores performances. Além desses dois modificadores, também foram consideradas para esse planejamento as temperaturas de 550 e 850°C para pirólise, e de 1600 e

2000°C para atomização. Nas tabelas 3.23 e 3.24 são apresentados as matrizes do planejamento fatorial e do CCD, bem como nas figuras 3.10 e 3.11 os gráficos obtidos nessa etapa da otimização.

**Tabela 3.23** – Matriz de experimentos do planejamento fatorial para chumbo em batata.

| Experimento | Temperatura de atomização (°C) | Temperatura de pirólise (°C) | Modificador | Absorvância integrada |
|-------------|--------------------------------|------------------------------|-------------|-----------------------|
| 1           | 1600 (-)                       | 550 (-)                      | Ta (-)      | 0,861 ± 0,069         |
| 2           | 2000 (+)                       | 550 (-)                      | Ta (-)      | 0,711 ± 0,042         |
| 3           | 1600 (-)                       | 850 (+)                      | Ta (-)      | 0,692 ± 0,042         |
| 4           | 2000 (+)                       | 850 (+)                      | Ta (-)      | 0,591 ± 0,053         |
| 5           | 1600 (-)                       | 550 (-)                      | Ti (+)      | 0,919 ± 0,015         |
| 6           | 2000 (+)                       | 550 (-)                      | Ti (+)      | 0,784 ± 0,003         |
| 7           | 1600 (-)                       | 850 (+)                      | Ti (+)      | 0,628 ± 0,038         |
| 8           | 2000 (+)                       | 850 (+)                      | Ti (+)      | 0,700±0,044           |

Com o gráfico de Pareto (Figura 3.10) foi possível perceber que os três fatores escolhidos apresentaram efeito significativo na absorvância a 95% de confiança. No mesmo gráfico, dentre nos níveis escolhidos a melhor condição indicada para atomização foi a temperatura de 1600°C, enquanto para pirólise foi a temperatura de 550°C. Esses dois valores indicados foram considerados na elaboração do CCD. Já o melhor modificador permanente foi o titânio, sendo o tubo cuja plataforma tratada com esse metal usado nos testes seguintes. O tratamento estatístico dos resultados encontrados no CDD permitiu a obtenção da superfície de resposta mostrada na Figura 3.11.

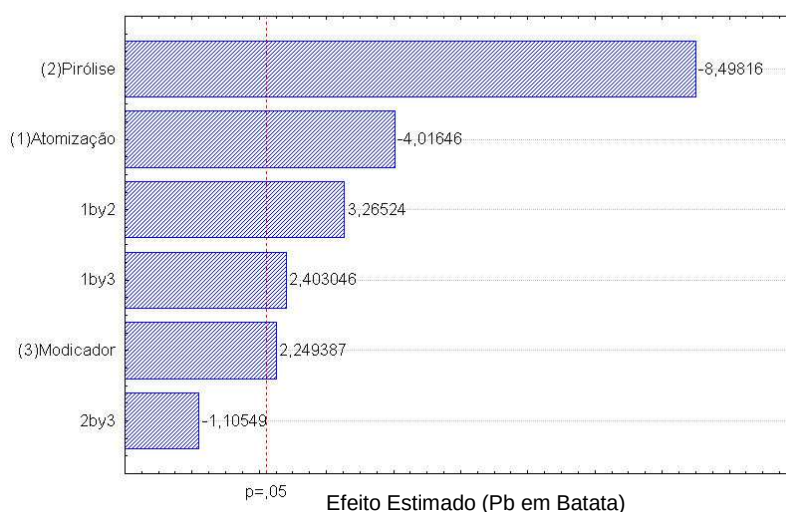


**Figura 3.10** – Gráfico de Pareto gerado a partir do planejamento fatorial para chumbo em batata.

As condições otimizadas para o programa de aquecimento do forno de grafite para determinação de chumbo em batata estão indicadas na tabela 3.25.

**Tabela 3.24** – Matriz de experimentos do CCD para chumbo em batata utilizando tubo de grafite com a plataforma tratada com titânio.

| Exp.    | Temperatura de atomização (°C) | Temperatura de pirólise (°C) | Absorvância integrada |
|---------|--------------------------------|------------------------------|-----------------------|
| 1       | 1400                           | 600                          | 0,509                 |
| 2       | 1400                           | 900                          | 0,495                 |
| 3       | 1700                           | 600                          | 0,329                 |
| 4       | 1700                           | 900                          | 0,335                 |
| 5       | 1340                           | 750                          | 0,486                 |
| 6       | 1760                           | 750                          | 0,282                 |
| 7       | 1550                           | 540                          | 0,455                 |
| 8       | 1550                           | 960                          | 0,430                 |
| 9 (PC)  | 1550                           | 750                          | 0,524                 |
| 10 (PC) | 1550                           | 750                          | 0,522                 |
| 11 (PC) | 1550                           | 750                          | 0,523                 |
| 12 (PC) | 1550                           | 750                          | 0,522                 |
| 13 (PC) | 1550                           | 750                          | 0,519                 |

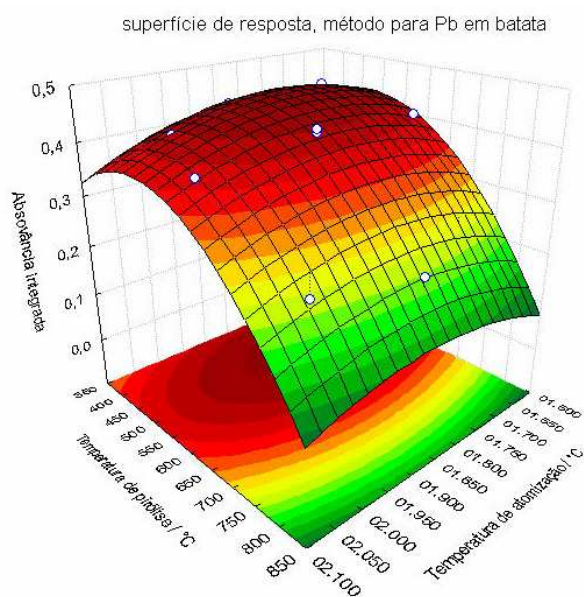


**Figura 3.11** – Superfície de resposta obtida no CCD para chumbo em batata

**Tabela 3.25** – Programa de aquecimento otimizado para determinação de chumbo em batata

| Etapa        | Temperatura (°C) | Rampa (s) | Tempo de retenção (s) | Fluxo de argônio (mL min <sup>-1</sup> ) |
|--------------|------------------|-----------|-----------------------|------------------------------------------|
| Secagem      | 100              | 5         | 10                    | 250                                      |
| Secagem      | 150              | 10        | 20                    | 250                                      |
| Secagem      | 100              | 10        | 20                    | 250                                      |
| Pirólise     | 600              | 10        | 20                    | 250                                      |
| Resfriamento | 30               | 1         | 5                     | 250                                      |
| Atomização   | 1650             | 0         | 5                     | 0                                        |
| Limpeza      | 2700             | 1         | 5                     | 250                                      |

### 3.4.2. Validação do método

São apresentadas duas curvas de calibração na figura 3.12, cuja comparação teve a finalidade de avaliar o efeito de matriz. A curva tracejada corresponde àquela construída em meio aquoso (curva aquosa), enquanto a contínua corresponde àquela construída com ajuste de matriz. O método apresentou linearidade satisfatória, visto que ambas curvas de calibração apresentaram coeficientes de correlação superiores a 0,99 para a faixa estudada (0 a 50,0  $\mu\text{g L}^{-1}$ ). Para verificar a aparente semelhança das inclinações das curvas foram aplicados testes estatísticos (teste F e teste t de Student).

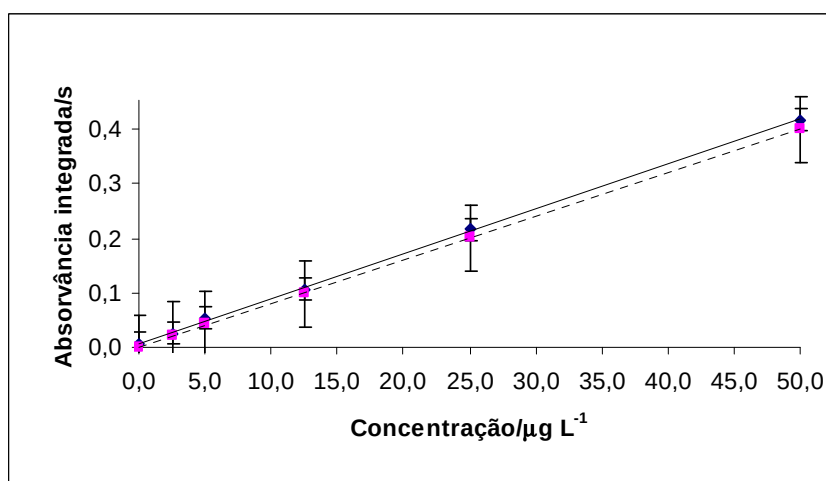


**Figura 3.12** – Estudo do efeito da matriz para determinação de chumbo em batata.

As demais as figuras de mérito determinadas para o presente estudo são apresentadas na Tabela 3.26. A massa característica média determinada foi pouco menor do que a recomendada em água, indicando assim uma boa sensibilidade da técnica para determinação de chumbo. Para os limites de detecção e de quantificação foram encontrados valores também adequados para determinações por GF

AAS e compatíveis com outras metodologias encontradas na literatura. Na determinação de microelementos em ervas e suas infusões, KALNY *et al.* (2007) usaram a técnica de GF AAS para propor um método cujo LQ foi 0,21 µg. g<sup>-1</sup>. KILIC *et al.* (2002) determinaram chumbo em gomas de mascar produzidas na Turquia em ET AAS, cujo método apresentou um LD igual a 1,2 µg.L<sup>-1</sup>. DESSUY *et al.* (2008) desenvolveram um método para determinação de chumbo em vinhos por GF AAS, cujo LQ apresentado foi 1,8 µg.L<sup>-1</sup>

Nas tabelas 3.27 e 3.28 são apresentados os resultados obtidos nos estudos com recuperação também realizados em três dias diferentes. Na primeira tabela, estão indicados os valores obtidos para a precisão usando-se a metodologia proposta na seção 1.5.5. Os resultados encontrados, cuja variação esteve entre 3,5 a 6,4% para precisão intra-ensaio, e 2,6 a 9,3% para precisão inter-ensaio, foram inferiores aos limites. A Tabela 3.28 apresenta as recuperações obtidas para amostras de batatas fortificadas com chumbo na faixa de 10,0 a 40,0 µg L<sup>-1</sup>.

**Tabela 3.26** – Parâmetros de mérito obtidos para a metodologia de Pb em batata.

| Parâmetro                                         | Resultados                                            |
|---------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|
| Equação de regressão ( $n=3$ )                    | $Abs = (0,0074 \pm 0,0005)C_{pb} + (0,054 \pm 0,029)$ |
| $R^2$ ( $n=3$ )                                   | $0,9992 \pm 0,0010$                                   |
| Faixa linear (µg L <sup>-1</sup> )                | 0 – 60                                                |
| LD (µg L <sup>-1</sup> )<br>(µg g <sup>-1</sup> ) | 1,32<br>0,07                                          |
| LQ (µg L <sup>-1</sup> )<br>(µg g <sup>-1</sup> ) | 4,39<br>0,22                                          |
| Massa característica (pg)                         | $11,0 \pm 0,4$                                        |

**Tabela 3.27** – CV intra-ensaio e inter-ensaios obtidos para a metodologia de Pb em batata.

| Concentração de chumbo (µg L <sup>-1</sup> ) | CV intra-ensaio<br>(%, n=5) | CV inter-ensaios<br>(%, n=15) |
|----------------------------------------------|-----------------------------|-------------------------------|
| 10,0                                         | 4,0                         | $6,8 \pm 2,5$                 |
| 20,0                                         | 6,4                         | $6,6 \pm 2,6$                 |
| 40,0                                         | 3,5                         | $4,8 \pm 2,2$                 |

**Tabela 3.28** – Recuperações de níquel em batata.

| Concentração de chumbo ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) | CV intra-ensaio (% , n=15) | CV inter-ensaios (% , n=15) |
|-------------------------------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| 10,0                                            | 10,2 $\pm$ 0,5             | 102 $\pm$ 5                 |
| 20,0                                            | 20,6 $\pm$ 1,4             | 103 $\pm$ 7                 |
| 40,0                                            | 42,1 $\pm$ 2,1             | 105 $\pm$ 5                 |

**3.4.3. Determinação de teores de chumbo em amostras de batata por GF AAS**

Na Tabela 3.29 estão apresentados os teores de chumbo determinados em batatas coletadas na região do Quadrilátero Ferrífero e em outras regiões mineiras. A faixa de concentração encontrada foi de < LQ a 0,666  $\mu\text{g g}^{-1}$ .

**Tabela 3.29** – Teor de chumbo em batata com o método proposto.

| Amostra | Teor de chumbo ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) | Amostra | Teor de chumbo ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) |
|---------|-----------------------------------------|---------|-----------------------------------------|
| B1      | 0,168 $\pm$ 0,003                       | B7      | 0,634 $\pm$ 0,009                       |
| B2      | 0,469 $\pm$ 0,010                       | B8      | 0,588 $\pm$ 0,028                       |
| B3      | 0,274 $\pm$ 0,015                       | B9      | 0,353 $\pm$ 0,034                       |
| B4      | 0,479 $\pm$ 0,012                       | B10     | < LD                                    |
| B5      | 0,361 $\pm$ 0,031                       | B11     | 0,666 $\pm$ 0,025                       |
| B6      | 0,580 $\pm$ 0,009                       | B12     | 0,488 $\pm$ 0,053                       |

**3.4.4. Conclusões para chumbo em batata**

É possível o emprego da técnica de GF AAS para determinar chumbo em amostras de batata, introduzidas sob a forma de suspensão, sem necessidade de digestão prévia dessas amostras.

O efeito da matriz também não foi significativo, o que foi novamente comprovado através de testes estatísticos. Com isso foi possível o uso de calibração aquosa, apresentando a mesma uma linearidade satisfatória, já que o coeficiente de correlação foi superior a 0,99. A partir dessa constatação, também foi possível analisar as amostras com a curva de calibração aquosa.

O método apresentou uma boa sensibilidade para o analito, visto que a massa característica média foi 11,0 pg, valor bem próximo daquele indicado pelo fabricante (10,0 pg).

A exatidão, investigada em estudos de recuperação para diferentes concentrações do metal em batata e a precisão foram aceitáveis, uma vez em foram encontrados valores dentro dos limites

recomendados. Infelizmente, o material certificado disponível indicava um teor de chumbo bem abaixo do limite de quantificação do método proposto e não foi possível com ele obter resultados significativos.

### 3.5 Resumo de dados sobre a determinação de contaminantes inorgânicos em batatas

A tabela abaixo resume os dados obtidos na determinação de arsênio, cádmio, níquel e chumbo em mandioca, empregando as metodologias propostas nesse trabalho.

**Tabela 3.30** – Teores de As, Cd, Ni e Pb em batata obtidos com os métodos propostos.

| Amostra | Teor de arsênio<br>( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) | Teor de cádmio<br>( $\text{ng g}^{-1}$ ) | Teor de níquel<br>( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) | Teor de chumbo<br>( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) |
|---------|---------------------------------------------|------------------------------------------|--------------------------------------------|--------------------------------------------|
| B1      | $0,18 \pm 0,04$                             | $80,4 \pm 4,46$                          | $0,23 \pm 0,01$                            | $0,17 \pm 0,01$                            |
| B2      | $0,14 \pm 0,05$                             | $79,0 \pm 0,50$                          | $0,27 \pm 0,01$                            | $0,47 \pm 0,01$                            |
| B3      | < LD                                        | $23,6 \pm 1,29$                          | $0,25 \pm 0,01$                            | $0,27 \pm 0,02$                            |
| B4      | < LD                                        | $21,5 \pm 0,57$                          | $0,54 \pm 0,02$                            | $0,48 \pm 0,01$                            |
| B5      | < LD                                        | $20,5 \pm 0,58$                          | $0,74 \pm 0,01$                            | $0,36 \pm 0,03$                            |
| B6      | < LD                                        | $23,5 \pm 0,94$                          | $0,80 \pm 0,02$                            | $0,58 \pm 0,01$                            |
| B7      | < LD                                        | $23,8 \pm 0,50$                          | < LD                                       | $0,63 \pm 0,01$                            |
| B8      | < LD                                        | $32,0 \pm 1,14$                          | $0,22 \pm 0,03$                            | $0,59 \pm 0,03$                            |
| B9      | < LD                                        | $22,7 \pm 1,04$                          | < LD                                       | $0,35 \pm 0,03$                            |
| B10     | < LD                                        | $26,8 \pm 1,09$                          | < LD                                       | < LD                                       |
| B11     | < LD                                        | $19,5 \pm 1,17$                          | $0,30 \pm 0,01$                            | $0,67 \pm 0,03$                            |
| B12     | < LD                                        | $23,8 \pm 1,22$                          | < LD                                       | $0,16 \pm 0,01$                            |

### 3.6 Método para arsênio, cádmio, níquel e chumbo em mandioca

#### 3.6.1. Otimização das condições analíticas

Por se tratar de uma matriz com certa semelhança com a batata, houve uma tentativa de otimização de métodos para determinar constituintes inorgânicos nesse tubérculo adotando-se uma sequência similar aos estudos com batata, uma vez que a técnica revelou boa eficiência nos métodos propostos para aquela matriz.

Primeiramente, foi verificada a formação de bolhas, com a conseqüente crepitação de amostra, na utilização do programa pré-ajustado pelo fabricante. Tal como ocorreu antes, essa matriz – mandioca – necessitou de ajustes na etapa de secagem. Dessa forma, foram aproveitados os parâmetros ajustados para essa etapa nos métodos desenvolvidos para batata.

Em seguida, novamente empregando um tubo de grafite sem modificador permanente e com o equipamento ajustado nas condições indicadas pelo fabricante, foi realizada uma medida para verificar se a resposta do equipamento para o analito em estudo apresentava uma resposta que permitiria a continuidade dos estudos. Caso a resposta fosse muito baixa, essa amostra seria fortificada com a adição de um padrão, de modo que a concentração final desse analito ficasse igual a 30,0 µg L<sup>-1</sup>, concentração que apresentava um bom sinal para todos testados, com exceção de cádmio, que não necessitou dessa adição.

Na tabela 3.31 são apresentados os dois modificadores (Mod.) permanentes que apresentaram melhores performances para cada analito, bem como as temperaturas de pirólise (TP) e de atomização (TA) usadas no planejamento fatorial. Também são apresentadas as condições recomendadas pelo fabricante, as mesmas que foram usadas nos testes da escolha dos modificadores.

**Tabela 3.31** – Condições empregadas no planejamento fatorial de cada analito para sua determinação em mandioca por GF AAS

| Analito | Nível       | Temperatura de atomização (°C) | Temperatura de pirólise (°C) | Modificador |
|---------|-------------|--------------------------------|------------------------------|-------------|
| As      | (-)         | 2000                           | 1100                         | Ir          |
|         | (+)         | <b>2400</b>                    | <b>1500</b>                  | <b>W</b>    |
|         | recomendado | 2300                           | 1300                         |             |
| Cd      | (-)         | <b>1400</b>                    | <b>600</b>                   | Rh          |
|         | (+)         | 1900                           | 1100                         | <b>W</b>    |
|         | recomendado | 1650                           | 850                          |             |
| Ni      | (-)         | 2200                           | <b>1200</b>                  | Rh          |
|         | (+)         | <b>2600</b>                    | 1600                         | <b>Ti</b>   |
|         | recomendado | 2500                           | 1400                         |             |
| Pb      | (-)         | 1500                           | <b>450</b>                   | W           |
|         | (+)         | <b>2000</b>                    | 950                          | <b>Ti</b>   |
|         | recomendado | 1800                           | 700                          |             |

Na tabela 3.32 são apresentadas as matrizes dos planejamentos fatoriais, em que os valores de absorvância indicados correspondem aos valores médios das leituras em triplicata. Através dos gráficos de Pareto (figura 3.13) obtidos foi possível observar que todos os fatores selecionados apresentaram efeitos significativos na resposta. Com base ainda nesses gráficos as melhores condições foram apontadas, sendo as tais destacadas na tabela 3.31. Esses resultados foram empregados no planejamento composto central, cuja matriz para cada analito é exposta na tabela 3.32.

**Tabela 3.32** – Matriz de experimentos do planejamento fatorial para As, Cd, Ni e Pb em mandioca

| Exp. | TA | TP | Mod | As<br>Absorvância.<br>integrada | Cd<br>Absorvância.<br>integrada | Ni<br>Absorvância.<br>integrada | Pb<br>Absorvância.<br>integrada |
|------|----|----|-----|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| 1    | -  | -  | -   | 0,039 ± 0,005                   | 0,150 ± 0,012                   | 0,173 ± 0,003                   | 0,083 ± 0,004                   |
| 2    | +  | -  | -   | 0,070 ± 0,002                   | 0,002 ± 0,001                   | 0,258 ± 0,007                   | 0,440 ± 0,003                   |
| 3    | -  | +  | -   | 0,033 ± 0,004                   | 0,173 ± 0,029                   | 0,167 ± 0,010                   | 0,243 ± 0,005                   |
| 4    | +  | +  | -   | 0,079 ± 0,005                   | 0,001 ± 0,000                   | 0,254 ± 0,003                   | 0,183 ± 0,014                   |
| 5    | -  | -  | +   | 0,050 ± 0,004                   | 0,213 ± 0,002                   | 0,196 ± 0,003                   | 0,312 ± 0,012                   |
| 6    | +  | -  | +   | 0,077 ± 0,005                   | 0,002 ± 0,001                   | 0,284 ± 0,001                   | 0,387 ± 0,008                   |
| 7    | -  | +  | +   | 0,071 ± 0,006                   | 0,210 ± 0,002                   | 0,182 ± 0,003                   | 0,038 ± 0,003                   |
| 8    | +  | +  | +   | 0,078 ± 0,004                   | 0,002 ± 0,001                   | 0,260 ± 0,007                   | 0,065 ± 0,004                   |

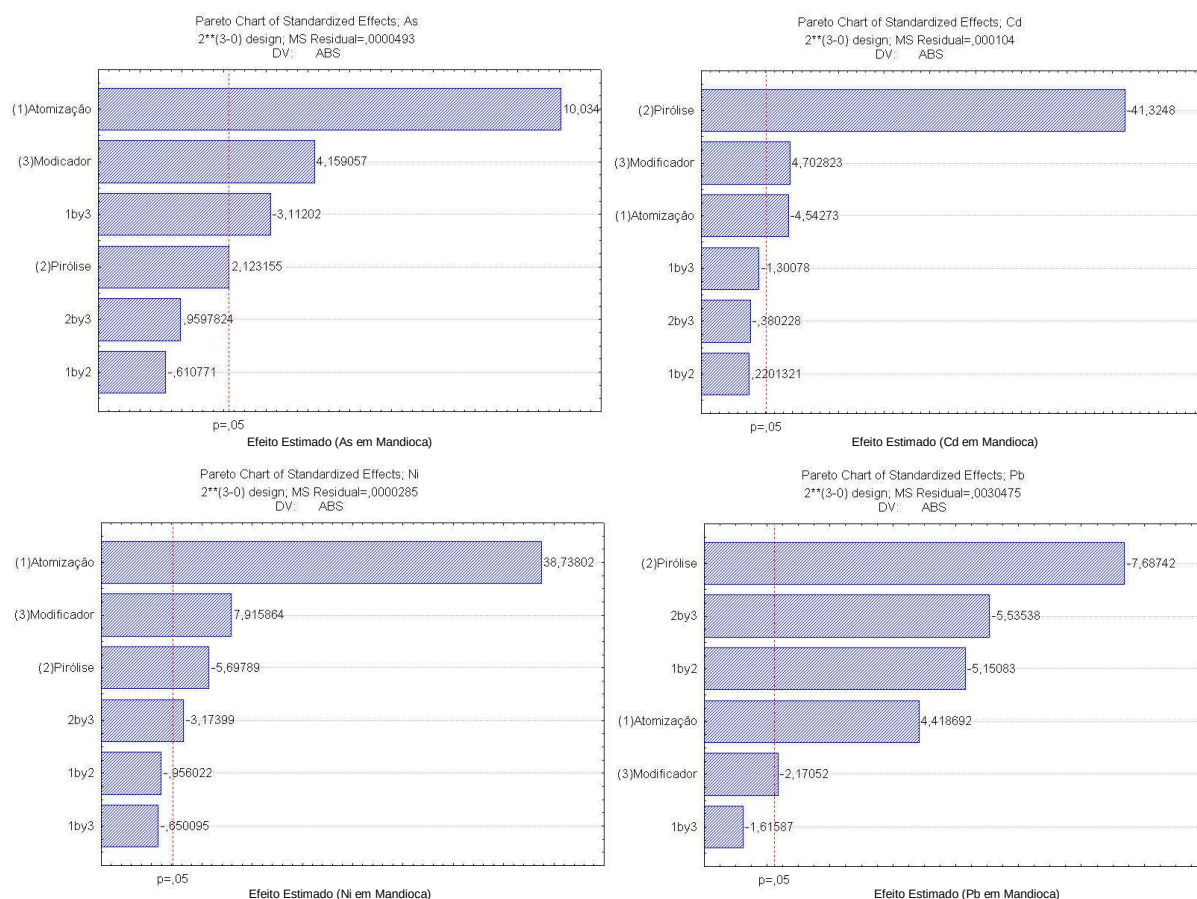


**Figura 3.13** – Gráficos de Pareto gerados em cada planejamento fatorial para As, Cd, Ni e Pb em mandioca.

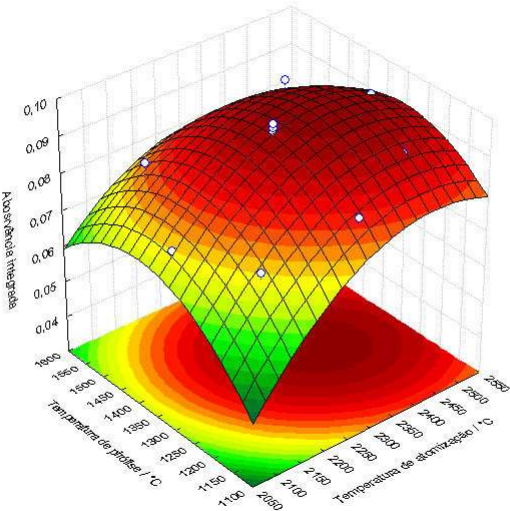
Em cada CCD foi empregado aquele tubo cuja plataforma foi tratada com o modificador permanente apontado no planejamento fatorial correspondente. Esses modificadores foram aqueles em

destaque na tabela 3.31. A Figura 3.15 mostra as superfícies de resposta obtidas através desses planejamentos (CCD). Como foi possível chegar às condições de pirólise e de atomização ótimas para análise, a tabela 3.34 apresenta o programa de aquecimento do forno de grafite otimizado para determinação dos vários analitos em mandioca.

**Tabela 3.33a –** Matriz de experimentos do CCD para As e Cd em mandioca

| As   |         |         |                       | Cd   |         |         |                       |
|------|---------|---------|-----------------------|------|---------|---------|-----------------------|
| Exp. | TA (°C) | TP (°C) | Absorvância integrada | Exp. | TA (°C) | TP (°C) | Absorvância integrada |
| 1    | 2150    | 1200    | 0,078                 | 1    | 1300    | 450     | 0,094                 |
| 2    | 2150    | 1500    | 0,084                 | 2    | 1300    | 750     | 0,120                 |
| 3    | 2450    | 1200    | 0,092                 | 3    | 1700    | 450     | 0,012                 |
| 4    | 2450    | 1500    | 0,091                 | 4    | 1700    | 750     | 0,066                 |
| 5    | 2088    | 1350    | 0,074                 | 5    | 1220    | 600     | 0,071                 |
| 6    | 2512    | 1350    | 0,093                 | 6    | 1780    | 600     | 0,090                 |
| 7    | 2300    | 1138    | 0,087                 | 7    | 1500    | 390     | 0,004                 |
| 8    | 2300    | 1562    | 0,079                 | 8    | 1500    | 810     | 0,051                 |
| PC   | 2300    | 1350    | 0,096                 | PC   | 1500    | 600     | 0,105                 |
| PC   | 2300    | 1350    | 0,094                 | PC   | 1500    | 600     | 0,101                 |
| PC   | 2300    | 1350    | 0,095                 | PC   | 1500    | 600     | 0,102                 |
| PC   | 2300    | 1350    | 0,095                 | PC   | 1500    | 600     | 0,106                 |
| PC   | 2300    | 1350    | 0,096                 | PC   | 1500    | 600     | 0,101                 |

superfície de resposta, método para As em mandioca



superfície de resposta, método para Cd em mandioca

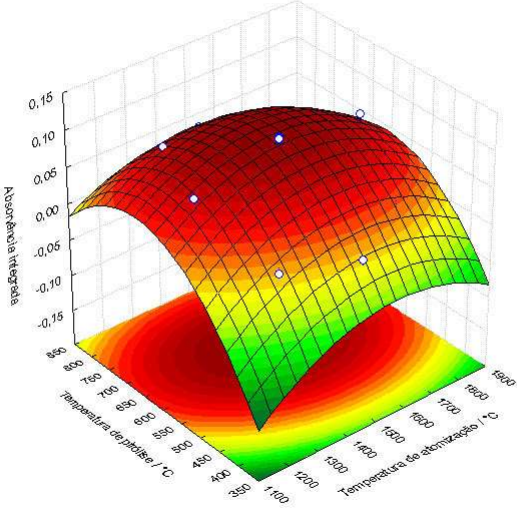


**Figura 3.15a –** Superfícies de resposta obtida em cada CCD para As e Cd em mandioca

**Tabela 3.33b** – Matriz de experimentos do CCD para Ni e Pb em mandioca

| Ni   |         |         |                       | Pb   |         |         |                       |
|------|---------|---------|-----------------------|------|---------|---------|-----------------------|
| Exp. | TA (°C) | TP (°C) | Absorvância integrada | Exp. | TA (°C) | TP (°C) | Absorvância integrada |
| 1    | 2350    | 1050    | 0,207                 | 1    | 1700    | 450     | 0,455                 |
| 2    | 2350    | 1350    | 0,173                 | 2    | 1700    | 750     | 0,239                 |
| 3    | 2650    | 1050    | 0,245                 | 3    | 2000    | 450     | 0,415                 |
| 4    | 2650    | 1350    | 0,242                 | 4    | 2000    | 750     | 0,230                 |
| 5    | 2290    | 1200    | 0,185                 | 5    | 1640    | 600     | 0,413                 |
| 6    | 2700    | 1200    | 0,243                 | 6    | 2060    | 600     | 0,396                 |
| 7    | 2500    | 990     | 0,223                 | 7    | 1850    | 390     | 0,431                 |
| 8    | 2500    | 1410    | 0,225                 | 8    | 1850    | 810     | 0,235                 |
| PC   | 2500    | 1200    | 0,249                 | PC   | 1850    | 600     | 0,427                 |
| PC   | 2500    | 1200    | 0,245                 | PC   | 1850    | 600     | 0,425                 |
| PC   | 2500    | 1200    | 0,248                 | PC   | 1850    | 600     | 0,425                 |
| PC   | 2500    | 1200    | 0,247                 | PC   | 1850    | 600     | 0,423                 |
| PC   | 2500    | 1200    | 0,244                 | PC   | 1850    | 600     | 0,428                 |

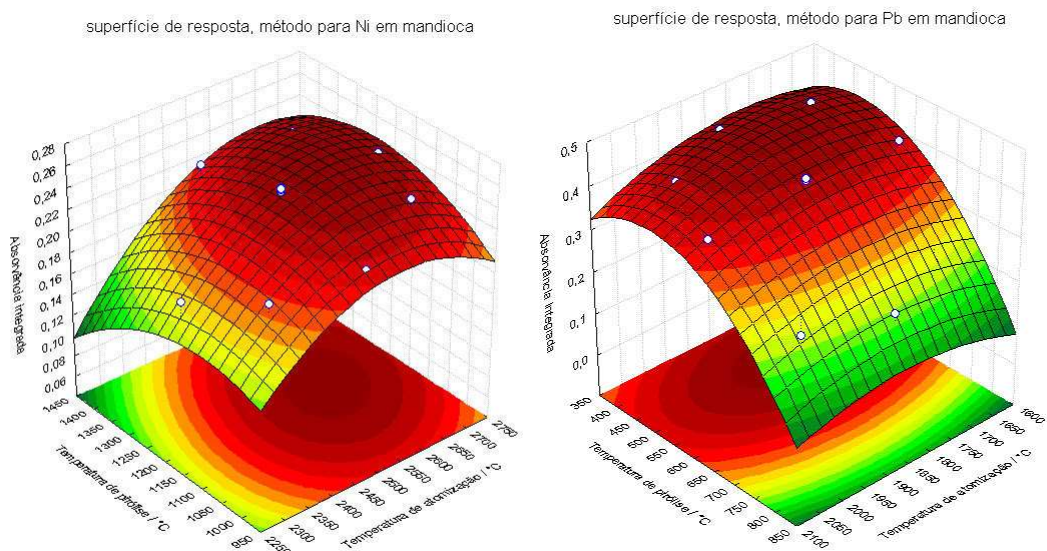


**Figura 3.15b** – Superfícies de resposta obtida em cada CCD para Ni e Pb em mandioca

**Tabela 3.34** – Programa de aquecimento otimizado para determinação de As, Cd, Ni e Pb em mandioca

| Etapa        | Temperatura (°C) |      |      |      | Rampa (s) | Tempo de retenção (s) | Fluxo de argônio (mL min <sup>-1</sup> ) |
|--------------|------------------|------|------|------|-----------|-----------------------|------------------------------------------|
|              | As               | Cd   | Ni   | Pb   |           |                       |                                          |
| Secagem      | 100              | 100  | 100  | 100  | 5         | 10                    | 250                                      |
| Secagem      | 150              | 150  | 150  | 150  | 10        | 20                    | 250                                      |
| Secagem      | 200              | 200  | 200  | 200  | 10        | 20                    | 250                                      |
| Pirólise     | 1340             | 640  | 1200 | 480  | 10        | 20                    | 250                                      |
| Resfriamento | 30               | 30   | 30   | 30   | 1         | 5                     | 250                                      |
| Atomização   | 2340             | 1500 | 2600 | 1780 | 1         | 5                     | 0                                        |
| Limpeza      | 2700             | 2700 | 2700 | 2700 | 0         | 5                     | 250                                      |

### 3.6.2. Validação dos métodos para mandioca

Na figura 3.16 são apresentadas curvas de calibração em meio aquoso (tracejadas) e por ajuste de matriz (contínuas). Com exceção do método proposto para arsênio, para os outros três métodos a comparação das inclinações da curva aquosa com a curva por ajuste de matriz não apresentaram diferença significativa, o que foi comprovado com testes F e t de Student. Dessa forma, a determinação de Cd, Ni e Pb pode ser realizada através de calibração aquosa, enquanto a determinação de arsênio requer uma calibração por ajuste de matriz. As faixas de trabalho de cada método são apresentadas na tabela 3.35. Em todas elas foi observada uma boa linearidade, visto que apresentaram coeficientes de correlação superiores a 0,99.

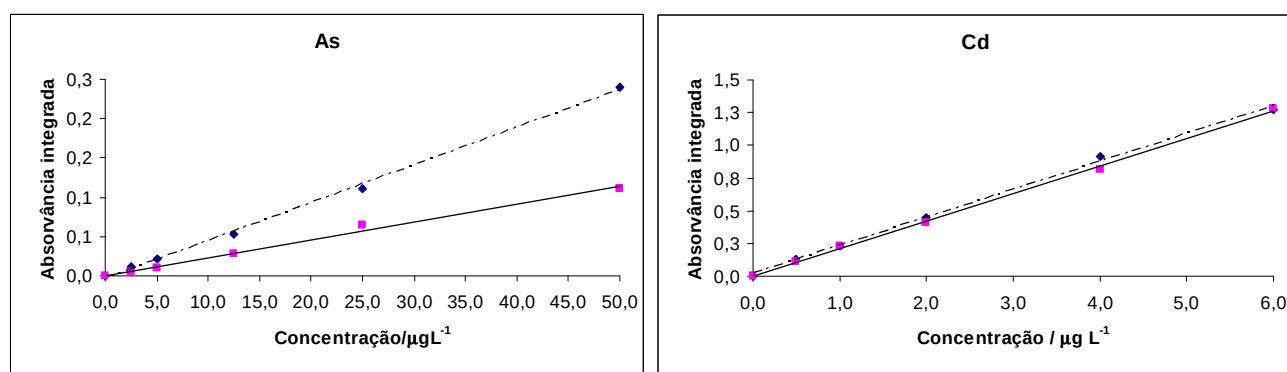


**Figura 3.16a** – Estudo do efeito da matriz para determinação de As e Cd em mandioca

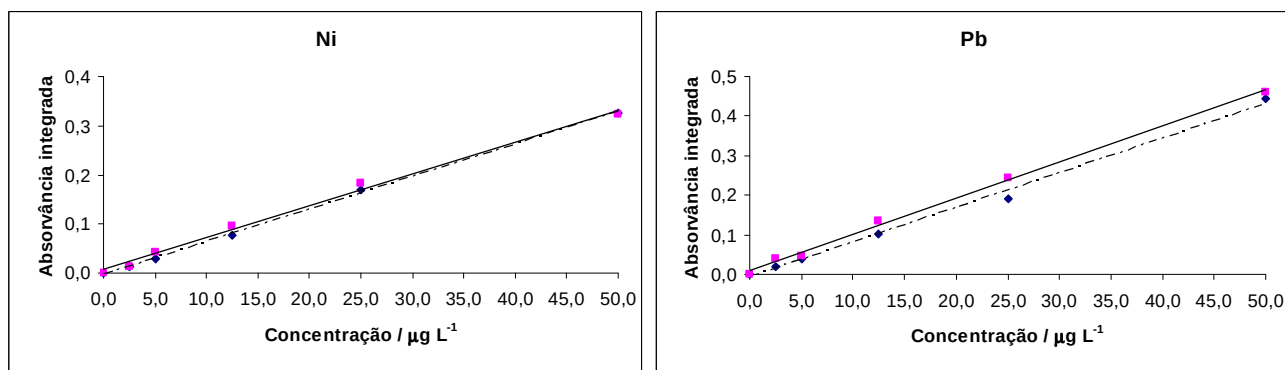


**Figura 3.16b** – Estudo do efeito da matriz para determinação de Ni e Pb em mandioca

A Tabela 3.35 apresenta as demais figuras de mérito determinadas para os métodos desenvolvidos. A massa característica média determinada para cada método foi bem próxima aos valores indicados, com exceção do método para arsênio, que apresentou menor sensibilidade. Os valores determinados estão de acordo com aqueles recomendados pelo fabricante do equipamento. Os valores encontrados para os limites de detecção e de quantificação foram apropriados para determinações de arsênio por GF AAS.

Já na Tabela 3.36, podem-se observar os valores obtidos para a precisão usando-se a metodologia proposta na seção 1.5.5. Todos os valores obtidos estão de acordo com os valores aceitáveis.

A Tabela 3.37 apresenta as recuperações obtidas para amostras de mandiocas fortificadas com quantidades dos analitos nas faixas indicadas, mostrando que todos os resultados estão dentro da faixa de 80 a 120%.

**Tabela 3.35** – Parâmetros de mérito para os métodos de determinação de As, Cd, Ni e Pb em mandioca

| Parâmetro                              | Resultados                                               |                     |                     |                     |
|----------------------------------------|----------------------------------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| Equação de regressão ( $n=3$ )         | $Abs = (0,0021 \pm 0,0001) C_{As} + (0,0013 \pm 0,0009)$ |                     |                     |                     |
|                                        | $Abs = (0,2287 \pm 0,0200) C_{Cd} + (0,0261 \pm 0,0085)$ |                     |                     |                     |
|                                        | $Abs = (0,0062 \pm 0,0009) C_{Ni} + (0,0005 \pm 0,0001)$ |                     |                     |                     |
|                                        | $Abs = (0,0084 \pm 0,0008) C_{Pb} + (0,0004 \pm 0,007)$  |                     |                     |                     |
| Analito                                | As                                                       | Cd                  | Ni                  | Pb                  |
| $R^2$ ( $n=3$ )                        | $0,9966 \pm 0,0011$                                      | $0,9979 \pm 0,0020$ | $0,9992 \pm 0,0006$ | $0,9988 \pm 0,0010$ |
| Faixa linear ( $\mu g L^{-1}$ )        | 4,7 – 50,0                                               | 0,07 – 6,0          | 3,5-50,0            | 1,34 – 50,0         |
| LD ( $\mu g L^{-1}$ )                  | 2,63                                                     | 0,02                | 1,06                | 0,04                |
| ( $\mu g g^{-1}$ )                     | 0,13                                                     | 1,12*               | 0,05                | 0,02                |
| LQ ( $\mu g L^{-1}$ )                  | 4,66                                                     | 0,07                | 3,54                | 1,34                |
| ( $\mu g g^{-1}$ )                     | 0,23                                                     | 3,74*               | 0,18                | 0,07                |
| Massa característica (pg) <sup>1</sup> | 42,2                                                     | 0,35                | 14,01               | 10,1                |

\*valores expressos em  $ng g^{-1}$ .

**Tabela 3.36** – CV intra-ensaio e inter-ensaios obtidos para As, Cd, Ni e Pb em mandioca.

| Concentração de As ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) | CV intra-ensaio (% , n=5) | CV inter-ensaios (% , n=15) | Concentração de Cd ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) | CV intra-ensaio (% , n=5) | CV inter-ensaios (% , n=15) |
|---------------------------------------------|---------------------------|-----------------------------|---------------------------------------------|---------------------------|-----------------------------|
| 10,0                                        | 3,46                      | $4,46 \pm 0,92$             | 0,8                                         | 3,25                      | $3,54 \pm 2,27$             |
| 20,0                                        | 4,41                      | $3,05 \pm 2,00$             | 3,0                                         | 4,82                      | $3,08 \pm 1,81$             |
| 40,0                                        | 4,45                      | $3,31 \pm 2,04$             | 5,5                                         | 2,16                      | $2,55 \pm 0,40$             |
| Concentração de Ni ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) | CV intra-ensaio (% , n=5) | CV inter-ensaios (% , n=15) | Concentração de Pb ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) | CV intra-ensaio (% , n=5) | CV inter-ensaios (% , n=15) |
| 10,0                                        | 8,44                      | $5,82 \pm 3,46$             | 10,0                                        | 6,08                      | $5,65 \pm 1,14$             |
| 20,0                                        | 3,85                      | $4,77 \pm 0,79$             | 20,0                                        | 4,95                      | $4,23 \pm 2,81$             |
| 50,0                                        | 2,42                      | $2,14 \pm 0,27$             | 50,0                                        | 5,78                      | $4,83 \pm 1,37$             |

**Tabela 3.37** – Recuperações de As, Cd, Ni e Pb em mandioca por GF AAS.

| Concentração de As ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) | Valor determinado ( $\mu\text{g L}^{-1}$ , n=5) | Recuperação (% , n=5) | Concentração de Cd ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) | Valor determinado (% , n=5) | Recuperação (% , n=5) |
|---------------------------------------------|-------------------------------------------------|-----------------------|---------------------------------------------|-----------------------------|-----------------------|
| 10,0                                        | $9,9 \pm 0,3$                                   | $99 \pm 3$            | 0,8                                         | $0,8 \pm 0,1$               | $103 \pm 5$           |
| 20,0                                        | $20,7 \pm 0,9$                                  | $103 \pm 5$           | 3,0                                         | $3,1 \pm 0,2$               | $102 \pm 6$           |
| 40,0                                        | $36,8 \pm 3,3$                                  | $92 \pm 8$            | 5,5                                         | $5,5 \pm 0,3$               | $100 \pm 6$           |
| Concentração de Ni ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) | Valor determinado ( $\mu\text{g L}^{-1}$ , n=5) | Recuperação (% , n=5) | Concentração de Pb ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) | Valor determinado (% , n=5) | Recuperação (% , n=5) |
| 10,0                                        | $9,5 \pm 0,3$                                   | $95 \pm 3$            | 10,0                                        | $9,3 \pm 0,6$               | $93 \pm 6$            |
| 20,0                                        | $19,4 \pm 1,0$                                  | $97 \pm 5$            | 20,0                                        | $20,1 \pm 1,5$              | $100 \pm 8$           |
| 40,0                                        | $40,4 \pm 1,2$                                  | $101 \pm 3$           | 50,0                                        | $38,1 \pm 2,5$              | $95 \pm 6$            |

Ao analisar o material de referência com a metodologia proposta para arsênio, cujo teor desse analito certificado é  $(0,29 \pm 0,03) \mu\text{g g}^{-1}$ , foi encontrado o valor médio de  $(0,30 \pm 0,03) \mu\text{g g}^{-1}$ . Avaliando-se essas informações com um teste F e teste t, foi possível concluir com 95% de confiabilidade que não há diferença significativa entre esses valores, visto que os valores de F e t calculados (1,2 e 0,4, respectivamente), são inferiores aos valores de F e t tabelados (19 e 4,3, respectivamente). Na análise de cádmio, com a metodologia correspondente, no mesmo material de referência, foi encontrado o valor  $(0,021 \pm 0,002) \mu\text{g g}^{-1}$ . Comparando esse valor com o certificado  $(0,022 \pm 0,02)$ , através de teste F e teste t de Student, é possível afirmar que não há diferença significativa entre esses valores, com 95% de

confiança, uma vez que os valores de F e t calculados (0,7 e 0,12, respectivamente) são menores que os valores teóricos (19 e 4,3, respectivamente). Conforme já afirmado antes, não foi possível analisar esse material com os métodos de Pb e Ni, pois o valor indicado para Pb era bem inferior ao LQ, e não havia valor indicado ou certificado para níquel.

### **3.6.3. Determinação de arsênio, cádmio, níquel e chumbo em amostras de mandioca por GF AAS**

Na Tabela 3.37 estão apresentados os teores determinados dos vários constituintes inorgânicos para mandiocas em batatas coletadas na região do Quadrilátero Ferrífero e em outras regiões mineiras. Apenas os teores de arsênio e cádmio em algumas amostras apresentam valores significativos. Na maior parte das amostras, os teores de todos analitos encontraram-se abaixo do LQ.

### **3.6.4. Conclusões para determinação de arsênio, cádmio, níquel e chumbo em mandiocas.**

Como ocorreu para batata, apenas o método proposto para arsênio apresentou considerável efeito de matriz.

A sensibilidade de cada método foi muito boa, uma vez que alguns métodos apresentaram massa característica menor que a recomenda pelo fabricante, o que ocorreu com o método para cádmio e para níquel, enquanto o método para chumbo foi bem próximo. Já o método para arsênio apresentou massa característica bem maior que o recomendado (quase o triplo), indicando a perda de sensibilidade devido ao efeito de matriz.

O uso de suspensão preparada na concentração de 2% m/v permitiu a obtenção de bons resultados nas determinações, bem como nas etapas de otimização e validação das metodologias.

A exatidão e a precisão, investigadas em estudos de recuperação para diferentes concentrações de todos constituintes investigados, foram aceitáveis, bem como o valor encontrado para o material de referência certificado usado, embora esse tenha sido avaliado apenas para cádmio e arsênio.

Alguns dos constituintes foram encontrados em teores baixos, ficando abaixo do limite de detecção dos vários métodos propostos, como foi o arsênio e cádmio. No entanto, tal como ocorreu com chumbo em batata, todas as amostras de mandioca apresentam teores consideráveis desse metal, variando de 0,06 a 3,18  $\mu\text{g g}^{-1}$ . Algo semelhante pôde ser observado para a determinação de níquel, sendo encontrado teores acima do LD para todas amostras.

**Tabela 3.38** – Teores de As, Cd, Ni e Pb em mandioca obtidos com o método proposto.

| Amostra | Teor de arsênio<br>( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) | Teor de cádmio<br>( $\text{ng g}^{-1}$ ) | Teor de níquel<br>( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) | Teor de chumbo<br>( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) |
|---------|---------------------------------------------|------------------------------------------|--------------------------------------------|--------------------------------------------|
| M1      | < LD                                        | < LD                                     | $0,60 \pm 0,03$                            | $0,74 \pm 0,03$                            |
| M2      | < LD                                        | $2,6 \pm 0,6$                            | $0,17 \pm 0,03$                            | $1,13 \pm 0,05$                            |
| M3      | < LD                                        | < LD                                     | $0,22 \pm 0,01$                            | $0,94 \pm 0,03$                            |
| M4      | < LD                                        | $5,8 \pm 1,2$                            | $1,14 \pm 0,01$                            | $2,77 \pm 0,07$                            |
| M5      | < LD                                        | < LD                                     | $0,25 \pm 0,03$                            | $0,76 \pm 0,08$                            |
| M6      | $0,70 \pm 0,35$                             | < LD                                     | $0,25 \pm 0,03$                            | $0,06 \pm 0,02$                            |
| M7      | < LD                                        | < LD                                     | $0,30 \pm 0,01$                            | $0,37 \pm 0,03$                            |
| M8      | $0,22 \pm 0,05$                             | < LD                                     | $0,71 \pm 0,06$                            | $3,18 \pm 0,07$                            |
| M9      | < LD                                        | $1,6 \pm 0,7$                            | $4,60 \pm 0,10$                            | $1,31 \pm 0,06$                            |
| M10     | $0,37 \pm 0,09$                             | $2,0 \pm 0,8$                            | $0,42 \pm 0,05$                            | $0,60 \pm 0,01$                            |
| M11     | < LD                                        | $1,7 \pm 0,4$                            | $0,82 \pm 0,46$                            | $0,16 \pm 0,01$                            |

#### 4. Conclusões finais

Com base nos estudos desenvolvidos nesta Dissertação, pode-se concluir que é possível a determinação direta (sem necessidade de digestão prévia das amostras), com níveis adequados de sensibilidade, exatidão e precisão, de arsênio, cádmio, chumbo e níquel em amostras de batata e de mandioca.

A otimização das condições de análise utilizando a quimiometria foi um procedimento simples e rápido para se obter métodos com a sensibilidade, precisão e exatidão desejadas, fazendo uso de um número reduzido de experimentos em relação à otimização univariada economizando, assim, tempo, reagentes, amostras, tubos de grafite, entre outros recursos.

A introdução de amostras na forma de suspensão mostrou-se eficiente, sendo tal procedimento simples e rápido. Caso houvesse digestão das amostras seria despendido um o tempo maior nessa etapa, além do consumo de reagentes ultrapuros, necessidade de equipamentos de alto custo (forno de microondas e *sub-boiling*), geração de quantidade maior de resíduos e o surgimento de outras fontes de erros e contaminações.

O uso de suspensões a 2% m/v foi válido para ambas matrizes, visto que em concentrações maiores da amostra, a estabilidade da suspensão, nas condições trabalhadas, não era facilmente mantida e, com isso, não seria garantida uma repetibilidade nas determinações.

A sensibilidade foi boa para todos os métodos propostos, para cada conjunto metal/matriz, o que pode ser observado pelas massas características e limites de detecção obtidos. A calibração, em todos os casos, empregando a técnica de ajuste de matriz ou a calibração aquosa, apresentou bons coeficientes de correlação linear nas faixas de trabalho estudadas.

Estudos de exatidão e de precisão efetuados através de recuperação dos metais em amostras artificialmente contaminadas, mostraram resultados bons, com desvios padrões relativos compatíveis com a técnica de GF AAS para todos os metais. Para os métodos de determinação de arsênio e de cádmio, os estudos com materiais certificados mostraram concordância entre valores certificados e determinados, com desvios igualmente compatíveis.

Quanto aos limites de quantificação e de detecção encontrados para os métodos propostos, tanto para batata quanto para mandioca, é possível verificar que estão compatíveis com dados da literatura.

Comparando o limite tolerado de ingestão semanal (*Provisional Tolerable Weekly Intake* – PTWI) para os constituintes investigados – 15  $\mu\text{g kg}^{-1}$  para As, 2,5  $\mu\text{g kg}^{-1}$  para Cd e 50  $\mu\text{g kg}^{-1}$  para Pb (WHO, 2000) - com o consumo médio de batata e com os teores encontrados, é possível concluir que os teores de As encontrados ficaram próximos a 3% desse limite, os teores de Cd entre 2 e 10%, enquanto os de Pb ficaram entre 1 e 3%. Fazendo-se a mesma associação para mandioca: os teores de As ficaram entre 25 e 28%, os teores de Cd entre 2% e 10%, e os teores de Pb entre 4 e 88%.

Os valores encontrados para determinações de chumbo em mandioca e batata podem indicar um problema generalizado com esse contaminante, visto que os resultados obtidos mostraram teores consideráveis desse metal. Um projeto que visa avaliar e monitorar a qualidade da água das bacias hidrográficas mineiras tem sido executado desde 2001 pelo IGAM – Instituto Mineiro de Gestão de Águas. No último relatório publicado (2008), há a indicação do aumento de vários contaminantes, dentre esses alguns inorgânicos, como chumbo, que aparece em teores crescentes em boa parte dos pontos de coleta em todo estado. O chumbo foi o metal que apresentou maior número de violações do limite máximo estipulado para águas superficiais.

## 5. Referências

Ahamed, M.; Kaleem, M.; Siddiqui, J. Environmental lead toxicity and nutritional factors. *Clinical Nutrition*, 2007, Volume 26(4), p. 400-408

Ajtóny, Z.; Szoboszlai, N.; Susko, E. K.; Mezei, P.; György, K.; Bencs, L. Direct sample introduction of wines in graphite furnace atomic absorption spectrometry for the simultaneous determination of arsenic, cadmium, copper and lead content. *Talanta*, 2008, Volume 76(3), p. 627-634

Aleixo P. C., D. S. Junior, A. C. Tomazelli, I. A. Rufini, H. Berndt, F. J. Krug, Cadmium and lead determination in foods by beam injection flame furnace atomic absorption spectrometry after ultrasound-assisted sample preparation. *Analytica Chimica Acta*, 2004, Volume 512(2), p. 329-337.

Altekar, M.; Homon, C. A.; Mohammed, A.; Steven, K; Mason, W.; Nelson, R. M.; Patnaude, L. A.; Taylor, P. B. Assay Optimization: A Statistical Design of Experiments Approach. *Journal of the Association for Laboratory Automation*, 2006, Volume 11 (1), p. 33-41.

Amin, N.; Kaneco, S.; Suzuki, T.; Ohta, K. Slurry sampling electrothermal atomic absorption spectrometric determination of copper in herbal medicine samples with a molybdenum tube atomizer, *Microchemical Journal*, 2003, Volume 74(2), p. 181-186.

Amorim, F. R.; Bof, C.; Franco, M. B.; Silva, J. B. B.; Nascentes, C. C. Comparative study of conventional and multivariate methods for aluminum determination in soft drinks by graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Microchemical Journal*, 2006, Volume 82 (2), p. 168-173

ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. Portaria n° 685, de 27 de agosto de 1998.

ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), Princípios Gerais para o Estabelecimento de Níveis Máximos de Contaminantes Químicos em Alimentos. Resolução – RE no 899, de 29 de maio de 2003.

AOAC (Association of Official Analytical Chemists), Peer-verified Methods Program, Manual on Policies and Procedures, Arlington, VA, USA, 1993.

Arain, M. B.; Kazi, T. G.; Baig, J. A.; Jamali, M. K.; Afridi, H. I.; Shah, A. Q.; Jalbani, N.; Sarfraz, R. A. Determination of arsenic levels in lake water, sediment, and foodstuff from selected area of Sindh, Pakistan: Estimation of daily dietary intake, *Food and Chemical Toxicology*, 2009, Volume 47(1), p. 242-248

Aranda P. R., Gil, R. A.; Moyano, S.; De Vito, I.; Martinez, L. D. Cloud point extraction for ultra-trace Cd determination in microwave-digested biological samples by ETAAS. *Talanta*, 2008, Volume 77(2), p. 663-666

ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry), Toxicological profile for arsenic. 2007.

ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry), Toxicological profile for cadmium. 2006.

ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry), Toxicological profile for lead. 2005.

ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry), Toxicological profile for nickel. 2005.

Bakkali, K.; Martos, N. R.; Souhail ,B.; Ballesteros, E. Characterization of trace metals in vegetables by graphite furnace atomic absorption spectrometry after closed vessel microwave digestion, *Food Chemistry*, 2009, Volume 116(2), p. 590-594

Barbosa Jr., F.; Fillion, M.; Lemire, M.; Passos, C. J. S. Jairo; Rodrigues, L.; Philibert, A., Guimaraes, J. R.; Mergler, D. Elevated blood lead levels in a riverside population in the Brazilian Amazon, *Environmental Research*, 2009, Volume 109 (5), p 594-599

Bellinger,D. C.; Bellinger, A. M. Childhood lead poisoning: the torturous path from science to policy, *J. Clin. Invest.*, 2006, 116, 853–857.

Bobrowska-Grzesik, E., A. Jakobik-Kolon, Leaching of cadmium and lead from dried fruits and fruit teas to infusions and decoctions, *Journal of Food Composition and Analysis*, 2008, Volume 21(4), p. 326-331

Borba, R. P.; Figueiredo, B. R.; Cavalcanti, J. A.. Arsênio na água subterrânea em Ouro Preto e Mariana, Quadrilátero Ferrífero (MG). *Rev. Esc. Minas*, v. 57, n. 1, Mar. 2004 .

Bradshaw, J. E., Ramsay, G. Potato Origin and Production. *Advances in Potato Chemistry and Technology*, 2009, Academic Press, San Diego, Pages 1-26

BRASIL – Ministério da Saúde – ANVISA - Portaria n ° 685: Princípios Gerais para o Estabelecimento de Níveis Máximos de Contaminantes Químicos em Alimentos, de 27 de agosto de 1998

BRASIL – Ministério da Saúde – FUNASA - Portaria 1.469: Controle e Vigilância da Qualidade da Água para Consumo Humano e seu Padrão de Potabilidade, de 22 de fevereiro de 2001

Bruhn, C. G.; Bustos, C. J.; Saez, K. L.; Neira, J. Y.; Alvarez,S. E. A comparative study of chemical modifiers in the determination of total arsenic in marine food by tungsten coil electrothermal atomic absorption spectrometry. *Talanta*, 2007, Volume 71(1), p. 81-89

Carvalho, J. O. M. Recomendações Técnicas para o Cultivo da Mandioca em Rondônia.. Homepage Embrapa Rondônia - Informações Técnicas, <http://www.cpafrro.embrapa.br>, 23 abr. 2003. (acessado em 28/06/2009)

Denkhaus, E., K. Salnikow, Nickel essentiality, toxicity, and carcinogenicity, *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 2002, Volume 42(1), Pages 35-56

Dessuy, M. B., M. G. R. Vale, A. S. Souza, S. L.C. Ferreira, B. Welz, D.A. Katskov, Method development for the determination of lead in wine using electrothermal atomic absorption spectrometry comparing platform and filter furnace atomizers and different chemical modifiers. *Talanta*, 2008, Volume 74(5), p. 1321-1329

Duarte, R. P. & Pasqua, A. Avaliação de Cádmio (Cd), Chumbo (Pb), Níquel (Ni) e Zinco (Zn) em solos, plantas e cabelos humanos. *Energia na Agricultura*, 2000, Volume 15(1), 46-68.

Duffus, J. H – Toxicologia Ambiental – Ediciones Omega, Barcelona – Espanha – 1983

EPA (Environmental Protection Agency), Guidance for Methods Development and Methods Validation for the RCRA Program SW-846 Methods, 1992.

EURACHEM. The Fitness for Purpose of Analytical Methods. A laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. 2007

FAO – 2008: International Year of Potato. [www.potato2008.org](http://www.potato2008.org) acessado em 29/06/2008

Feist, B. ; Mikula, Pytlakowska, B.; Puzio, K. B; Buhl, F. Determination of heavy metals by ICP-OES and F-AAS after preconcentration with 2,2'-bipyridyl and erythrosine, *Journal of Hazardous Materials*, Vol. 152(3), 2008, p. 1122-1129.

Ferreira, M. M. C.; Antunes, A. M.; Melgo, M. S; Volpe, P. L. O. Quimiometria I: calibração multivariada, um tutorial. *Quím. Nova*, 1999, vol.22(5), p. 724-731 .

Ferreira, S. L. C.; Jesus, R. M.; Matos, G. D.; Andrade, J. B.; Bruns, R. E.; Santos, W. N. L.; Andrade, D. D.; Vale, M. G. R.; Dessuy, M. B. Multivariate optimization and validation of an analytical method for the determination of cadmium in wines employing ET AAS. *J. Braz. Chem. Soc.*, 2009, vol.20 (4), p. 788-794.

Freschi, G. P. G.; Dakuzaku, C. S; 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. *Eclet. Quím.*, 2000, vol.25, p. 213-226 .

Garrett R G. Centeno JA, Collery P, Fernet G, Finkelman R B, Gibb H, Etienne J C Natural sources of metals to the environment. *Metal ions in biology and medicine*, 2000, Volume 6, p. 508–510

Ghaedi, M., A. Shokrollahi, F. Ahmadi, H.R. Rajabi, M. Soylak, Cloud point extraction for the determination of copper, nickel and cobalt ions in environmental samples by flame atomic absorption spectrometry. *Journal of Hazardous Materials*, 2008, Volume 150(3), p. 533-540

Gonzalez, M., M. Gallego, M. Valcarcel, Determination of nickel, chromium and cobalt in wheat flour using slurry sampling electrothermal atomic absorption spectrometry, *Talanta*, 1999, Volume 48 (5), p. 1051-1060,

IBGE – Levantamento Sistemático da Produção Agrícola (LSPA - julho/2006). Portal do MAPA. <http://www.agricultura.gov.br/> (acessado em 18/08/2009)

IGAM – Instituto Mineiro de Gestão das Águas – Projeto “Águas de Minas”. Dados de Monitoramento em 2009. <http://aguas.igam.mg.gov.br/aguas/htmls/index.htm> (acessado em 31/08/2009)

INMETRO - Orientação Sobre Validação de Métodos de Ensaios Químicos - DOQ-CGCRE-008 – Junho/2007

Inozzo, R.; Mimosso, E. L.; Deimling, L. I.; Santos-Mello, R. Plumbemia em trabalhadores da indústria de reciclagem de baterias automotivas da Grande Porto Alegre, RS. *J. Bras. Patol. Med. Lab.*, 2008, Volume 44 (6), p. 407-412 .

Kalny P, Z. Fijalek, A. Daszczuk, P. Ostapczuk, Determination of selected microelements in polish herbs and their infusions. *Science of The Total Environment*, 2007, Volume 381 (3), p. 99-104

Karavoltzos, S.; Sakellari, A., Dassenakis, M.; Scoullou, M. Cadmium and lead in organically produced foodstuffs from the Greek market, *Food Chemistry*, 2008, Volume 106 (2), p. 843-851

Kilic Z., E. Kenduzler, O. Acar, Determination of lead and copper in chewing gum samples by electrothermal-flame atomic absorption spectrometry using various chemical modifiers and arsenic by hydride generation, *Food Chemistry*, 2002, Volume 77 (1), p. 85-92.

Lara, P. C. P., Silveira, J. N., Neto, W. B.; Silva, J. B. B. Direct Determination of Mn in Breast Milk by GF AAS After Multivariate Optimization. *Analytical Letters*, 2009, Volume 42(7), 923-934.

Lemos V. A., P. X. Baliza, J. S. Santos, L. S. Nunes, A. A. . Jesus, M. E. Rocha, A new functionalized resin and its application in preconcentration system with multivariate optimization for nickel determination in food samples. *Talanta*, 2005, Volume 66(1), p. 174-180.

Li, J. T.; Liao, B.; Lan, C. Y.; Qiu, J.W.; Shu, W. S. Zinc, nickel and cadmium in carambolas marketed in Guangzhou and Hong Kong, China: Implication for human health, *Science of The Total Environment*, 2007, Volume 388 (3), p. 405-412.

Lima, E. C.; Barbosa Jr., F; Krug, F. J, Lead determination in slurries of biological materials by ETAAS using a W-Rh permanent modifier. *J. Anal Chem* , 2001, 269:496-501

Lobo, F. A.; Goveia, D.; Oliveira, A. P.; Pereira-Filho, E. R., Fraceto, L. F.; Dias-Filho, N. L.; Rosa, A. H. Comparison of the univariate and multivariate methods in the optimization of experimental conditions for determining Cu, Pb, Ni and Cd in biodiesel by GFAAS. *Fuel*, 2009, Volume 88 (10), p. 1907-1914.

Lopes, M. V. et al. Cadmium and lead retention in fresh and rotten red meat. *J. Braz. Chem. Soc.* 2007, vol.18, n.4, p. 703-708

Lopez-Garcia, I.; Vinas, P.; Romero-Romero, R.; Hernandez-Cordoba, M. Fast determination of phosphorus in honey, milk and infant formulas by electrothermal atomic absorption spectrometry using a slurry sampling procedure. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 2007, Volume 62(1), p. 48-55

Matschullat, J., Borba, R.P., Deschamps, E., Figueiredo, B.F., Gabrio, T., Schwenk, M. Human and environmental contamination in the Iron Quadrangle, Brazil. *Applied Geochemistry*, 2000, Volume 15, p.181-190

Mattos, P.L.; Cardoso, E. R. - Cultivo da Mandioca para o Estado do Pará - Embrapa Mandioca e Fruticultura, Sistemas de Produção, 13, 2003

Melo, E. E. C.; Costa, E. T. S.; Guilherme, L. R. G.; Faquin, V.; Nascimento, C. W. A. Accumulation of arsenic and nutrients by castor bean plants grown on an As-enriched nutrient solution, *Journal of Hazardous Materials*, 2009, Volume 168 (1), p. 479-483

Messias, A. R., J. Silva; R. P. Teixeira Avaliação de variedades de mandioca de mesa em sistema de cultivo orgânico na região do Recôncavo Baiano - Anais do XII Congresso Brasileiro da Mandioca - Mandioca Bioenergia, Alimento e Renda – 23 a 26 de outubro/2007 – Paranavaí/PR

Meyer, P. A.; Brown, M. J.; Falk, H. Global approach to reducing lead exposure and poisoning, *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 2008, Volume 659, p. 166-175

Nascimento, C. W. A. ; Pereira, J. B. M. Absorção e distribuição de cádmio e micronutrientes em cultivares de feijoeiro expostas a doses de cádmio. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 1997, Volume 32 (12), p. 1303-1308.

Navarre, D. A., A. Goyer, R. Shakya, Nutritional Value of Potatoes: Vitamin, Phytonutrient, and Mineral Content, In: Jaspreet Singh and Lovedeep Kaur, Editor(s), *Advances in Potato Chemistry and Technology*, Academic Press, San Diego, 2009, Pages 395-424.

Nazari, S. Liquid phase microextraction and ultratrace determination of cadmium by modified graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, Volume 165 (1), p. 200-205.

Neto, B. B.; Scarminio, E. S.; Bruns, R. E. “Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria”. 3 Ed, Editora da Unicamp, Campinas, 2003.

Nobrega, J. A.; Rust, J.; Calloway, C. P.; Jones, B. T. Use of modifiers with metal atomizers in electrothermal AAS: a short review, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 2004, Volume 59(9), p. 1337-1345.

Ortner, H. M.; Bulska, E.; Rohr, U.; Schlemmer, G.; Weinbruch, S.; Welz, B. Modifiers and coatings in graphite furnace atomic absorption spectrometry--mechanisms of action (A tutorial review), *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 2002, Volume 57 (12), p. 1835-1853.

Oymak, T.; Tokalioglu, S.; Yilmaz, V. ; Kartal, S.; Aydin, D. Determination of lead and cadmium in food samples by the coprecipitation method, *Food Chemistry*, 2009, Volume 113 (4), p. 1314-1317.

Pastorini, L. H. Produção e teor de carboidratos não estruturais em tubérculos de batata obtidos em duas épocas de plantio. *Hortic. Bras*, 2003, Volume 21, n. 4.

Pereira, L. A.; Amorim, I. G.; Silva, J. B. B.; Development of methodologies to determine aluminum, cadmium, chromium and lead in drinking water by ET AAS using permanent modifiers. *Talanta*, 2004, Volume 64, p. 395-401.

Pereira, L. A.; Amorim, I.; Silva, J. B. B. Determination of cadmium, chromium and lead in marine sediment slurry samples by electrothermal atomic absorption spectrometry using permanent modifiers, *Talanta*, 2006, Volume 68 (3), p. 771-775.

Pereira-Filho, E. R.; Poppi, R. J.; Arruda, M. A. Z. Emprego de planejamento fatorial para a otimização das temperaturas de pirólise e atomização de Al, Cd, Mo e Pb por ETAAS. *Quím. Nova*, 2002, vol.25(2), p. 246-253.

Pimentel, L. C. F.; Chaves, C. R.; Freire, L. A. A.; Afonso, J. C. O inacreditável emprego de produtos químicos perigosos no passado. *Quím. Nova*, 2006, Volume 29 (5), p. 1138-1149.

Reyes, M. N. M.; R. C. Campos, Determination of copper and nickel in vegetable oils by direct sampling graphite furnace atomic absorption spectrometry, *Talanta*, 2006, Volume 70(5), p. 929-932.

Santos Jr., D, Barbosa, F., Tomazelli, A. C.; Krug, F. J, Nóbrega, J. A. , Arruda, M. A. Z. Determination of Cd e Pb in food slurries by GFAAS using criogenic grinding for sample preparation. *Anal Bioanal Chem*, 2002, 373:183-190.

Santos, J. S., M. L. P. Dos Santos, M. M. Conti, S. N. Dos Santos, E. Oliveira, Evaluation of some metals in Brazilian coffees cultivated during the process of conversion from conventional to organic agriculture. *Food Chemistry*, 2009, Volume 115 (4), p. 1405-1410.

Santos, L. M. G. dos; Gonçalves, J. M.; Jacob, S. C. Determinação simultânea de As, Cd e Pb em amostras de água purificada para hemodiálise por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite, após otimização multivariada baseada no uso de planejamento experimental. *Quím. Nova*, 2008, Vol. 31(5), p. 975-979.

Shah, A. Q., Kazi, T. G.; rain, M. B.; Jamali, M. K.; Afridi, H. I.; Kandhro, G. A.; Baig, J. A.; Srfraz, R. A.; Ansari, R. Comparison of electrothermal and hydride generation atomic absorption spectrometry for the determination of total arsenic in broiler chicken, *Food Chemistry*, 2009, Volume 113(4), p. 1351-1355.

Sharma, P. and Dubey, R. S. Lead toxicity in plants. *Braz. J. Plant Physiol.* 2005, vol.17, n.1, pp. 35-52 .

Silva, J. B. B.; Borges, D. L. G.; Veiga, M. A. M. S.; Curtius, A. J.; Welz, B. Determination of cadmium in biological samples solubilized with tetramethylammonium hydroxide by electrothermal atomic absorption spectrometry, using ruthenium as permanent modifier, *Talanta*, 2003, volume 60(5), p. 977-982

Silva, J. B. B. Comportamento da atomização eletrotérmica de ouro, prata, bismuto, cádmio, chumbo e estanho em soluções aquosas e em etanol, a partir de diferentes superfícies atomizadoras. *Quím. Nova*. 2004, Volume 27(4), p. 528-535.

Silva, J. B. B.; Giacomelli, M. B. O.; Souza, I. G.; Curtius, A.; J. Iridium and rhodium as permanent chemical modifier for the determination of Ag, As, Bi, Cd and Sb by electrothermal atomic absorption spectrometry, *Microchemical Journal*, 1998, Volume 60, p.249-255.

Soares, L. M. V. and Moraes, A. M. M. Lead and cadmium content of Brazilian beers. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, 2003, Volume 23 (2), p. 285-289.

Soares, V. A.; Kus, M. M.; Peixoto, A. L.; Carrocci, J. S. Salazar; Filho, R. F. Determination of nutritional and toxic elements in pasteurized bovine milk from Vale do Paraíba region (Brazil), *Food Control*, 2010, Volume 21(1), p. 45-49.

StatSoft, Inc. STATISTICA for Windows - <http://www.statsoft.com> – 2001.

Szoboszlai N., Ajtony Z., L. Bencs, R. Haraszi, J. Szigeti, Study on the simultaneous determination of some essential and toxic trace elements in honey by multi-element graphite furnace atomic absorption spectrometry, *Talanta*, 2007, Volume 71(2), p. 683-690.

Taylor, A.; Branch, S.; Day, M. P.; Patriarca, M.; White, M. Atomic spectrometry update. Clinical and biological materials, foods and beverages. *J. Anal. At. Spectrom.*, 2008, Volume 23, p. 595–646.

Teófilo, R. F.; Ferreira, M. M. C. Quimiometria II: Planilhas Eletrônicas para Cálculos de Planejamentos Experimentais, um Tutorial, *Quim. Nova*, 2006, Volume 29, p. 338-345.

Tuzen M., Toxic and essential trace elemental contents in fish species from the Black Sea, Turkey, *Food and Chemical Toxicology*, In Press, Corrected Proof, Available online 4 May 2009.

Valentini S. R., Sommer W. A. , Matioli G. Validação de métodos analíticos. *Arq Mudi.* 2007;11(2)26-31.

Vilar, M.; Barciela, J.; Garcia-Martin, S. R.; Pena, M.; Herrero, C. Comparison of different permanent chemical modifiers for lead determination in Orujo spirits by electrothermal atomic absorption spectrometry, *Talanta*, 2007, Volume 71(4), p. 1629-1636.

Vulcano, I. R. C.; Silveira, J. N.; Alvarez-Leite, E. M. Teores de chumbo e cádmio em chás comercializados na região metropolitana de Belo Horizonte. *Rev. Bras. Cienc. Farm.* 2008, Volume 44 (3), p. 425-431

Welz, B.; Sperling, M. “Atomic Absorption Spectrometry” 3 Ed, Wiley-VHC, Germany, 1999.

WHO - International Agency For Research on Cancer (IARC) - Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans - Volume 58: Beryllium, Cadmium, Mercury, and Exposures in the Glass Manufacturing Industry – Geneva, 1997.

WHO (World Health Organization) IPCS (International Programme on Chemical Safety): Environmental Health Criteria 165 – Inorganic Lead. Geneva. 1995.

WHO (World Health Organization), Who Food Additive Series 44: Lead (976). World Health Organization, Geneva, 2000.

WHO (World Health Organization), Who Food Additive Series 46: Arsenic (658). World Health Organization, Geneva, 2000.

WHO (World Health Organization), Who Food Additive Series 46: Cadmium (659). World Health Organization, Geneva, 2000.

Yebra, M. C.; Cancela, S.; Cespon, R. M. Automatic determination of nickel in foods by flame atomic absorption spectrometry, *Food Chemistry*, 2008, Volume 108 (2), p. 774-778.