



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

WDSOON COSTA SANTOS

**CONTRIBUIÇÕES PARA AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO
TRATAMENTO PRELIMINAR DE AMOSTRA SOBRE A
CONFIABILIDADE DAS INFORMAÇÕES ANALÍTICAS**

Salvador

2012

WDSOON COSTA SANTOS

**CONTRIBUIÇÕES PARA AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO
TRATAMENTO PRELIMINAR DE AMOSTRA SOBRE A
CONFIABILIDADE DAS INFORMAÇÕES ANALÍTICAS**

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

Orientadora: Profa. Dra. Maria das Graças A. Korn

Co-orientador: Prof. Dr. Mauro Korn

Salvador

2012

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, senhor de todas as coisas.

A toda minha família, especialmente aos meus pais Gilson José e Maria Jorge e ao meu tio Gilmar, os quais me concederam a oportunidade de estar aqui hoje.

Aos amigos, pelo companheirismo.

A Taiana, pelo apoio, cumplicidade, paciência e colaboração na realização deste trabalho.

A minha orientadora, Profa. Dra. Maria das Graças A. Korn, pela confiança e orientação.

Ao meu co-orientador, Prof. Dr. Mauro Korn, pelas valiosas contribuições.

Aos colegas de laboratório, especialmente a Isa pela colaboração nas análises.

Aos colegas e amigos da UNEB pelo apoio, incentivo e amizade.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química da UFBA, pela oportunidade.

Aos professores do PGQUIM pelo aprendizado e enriquecimento intelectual.

Aos professores da UNEB pela formação acadêmica proporcionada.

Aos colegas do IFBA pelo apoio, incentivo e compreensão.

A todos que direta ou indiretamente construíram esse momento comigo e que sabem melhor do que eu o quanto foram importantes nessa caminhada.

RESUMO

No presente trabalho foram investigados os efeitos sobre a recuperação de elementos causados por modificações em processos prévios a amostragem laboratorial e lixiviação dos analitos das polpas de abóbora e batata. Inicialmente, foi avaliado o efeito da inversão na ordem de operações do procedimento de tratamento preliminar das amostras brutas das polpas sobre as recuperações dos elementos. As amostras das polpas foram secas para posterior trituração (PA) ou as amostras foram trituradas antes de serem submetidas à secagem (PB). Os resultados obtidos empregando ambos os procedimentos foram comparados para 95% de confiança e eles mostraram diferenças significativas para alguns elementos determinados na amostra de batata. As concentrações de K, P e Mn, na polpa de batata, determinadas aplicando o primeiro procedimento de pré-tratamento (PA) foram $13,6 \pm 0,4$ mg K g⁻¹, $1,95 \pm 0,04$ mg P g⁻¹ e $5,7 \pm 0,2$ µg Mn g⁻¹, enquanto $12,2 \pm 0,3$ mg K g⁻¹, $1,62 \pm 0,03$ mg P g⁻¹ e $2,6 \pm 0,2$ µg Mn g⁻¹ foram determinadas quando a mesma amostra bruta foi submetida ao pré-tratamento PB para a obtenção da amostra teste. Em contraposição, no caso da amostra bruta de polpa de abóbora, os resultados para os elementos (K, P, Mn, Mg) foram maiores quando a polpa foi previamente esmagada antes da secagem. Em um estudo independente, a eficiência da extração de metais de amostras de polpas trituradas de abóbora ou batata para soluções diluídas de HNO₃ foi avaliada variando o modo (agitação mecânica ou irradiação ultrassônica) e o período (de 10 a 30 min) de agitação, bem como a concentração da solução de HNO₃ na solução de lixiviação (de 0,7 a 2,1 mol L⁻¹). Os resultados foram também comparados com aqueles obtidos nas digestões assistidas por micro-ondas das amostras teste

em meio nítrico-peróxido. Foi observado que para ambas as amostras teste (abóbora e batata) e independentemente do modo ou período de agitação que a eficiência de extração de Ca, K, Mg e Mn foi diminuída para solução para 2,1 mol L⁻¹ HNO₃. Uma melhora no nível de recuperação de P foi obtida quando a lixiviação foi realizada com soluções diluídas de HNO₃ (0,7 e 1,4 mol L⁻¹) e sob irradiação ultrassônica. Esse efeito foi relacionado à presença de átomos de fósforo em moléculas estruturais de células de abóbora e batata, bem como à cominuição (ou fragmentação) das partículas submetidas a um campo ultrassônico intenso. Contudo, efeitos indesejados foram também observados para alguns elementos quando submetidos às lixiviações assistidas com ultrassom, como exemplificado pelo teor de cálcio determinado após a lixiviação da amostra teste de batata ter atingido valor 2,3 vezes maior que o valor obtido após a mineralização da amostra em micro-ondas. Muitos desses efeitos foram relacionados à erosão da superfície interna frascos irradiados.

Palavras-chave: Pré-tratamento de amostras; Preparo de amostras; Processos pré-analíticos; Extração de metais; Lixiviação ultrassônica; Abóbora; Batata.

ABSTRACT

In the present work the effects on elemental recoveries produced by changes in process previous to lab sampling and in the leaching of analyte from pumpkin and potato pulps were studied. At first, the effect of an inversion on two steps of operations sequence related to the bulk pulp sample treatment on the elements recoveries was evaluated. In the first procedure (PA), the pulp of pumpkin or potato was first dried and then crushed, while in PB, the bulk sample was crushed and subsequently dried. The results obtained by both procedures were compared for 95% of confidence level and they showed significant difference for some elements determined in potato sample. The concentrations of K, P and Mn in the pulp of potato determined by applying the first pretreatment procedure (PA) were $13.6 \pm 0.4 \text{ mg K g}^{-1}$, $1.95 \pm 0.04 \text{ mg P g}^{-1}$ and $5.7 \pm 0.2 \text{ } \mu\text{g Mn g}^{-1}$, while $12.2 \pm 0.3 \text{ mg K g}^{-1}$, $1.62 \pm 0.03 \text{ mg P g}^{-1}$ and $2.6 \pm 0.2 \text{ } \mu\text{g Mn g}^{-1}$ were determined when the same bulk sample was submitted to the pretreatment PB to obtain test sample. For the bulk sample of pumpkin pulp, in contrast, the results for the elements (K, P, Mn, Mg) were higher in the case of the pulp was first crushed and then dried. In an independent study, the efficiency for metal species extraction from test samples of pumpkin or potato pulps to diluted HNO_3 solutions was evaluated by varying shaking mode (mechanical stirring or ultrasonic irradiation) and period (from 10 to 30 min) as well the HNO_3 concentration in the leaching solution (from 0.7 to 2.1 mol L^{-1}). Results were also compared with those obtained with microwave-assisted nitric-peroxide digestion of test samples. It was observed for both tests samples (pumpkin and potato) and independent on the shaking mode or shaking period that the

extraction efficiency of Ca, K, Mg and Mn was decreased for 2.1 mol L⁻¹ HNO₃ solution. An enhancing in P recovery level was obtained when tests samples were leached with diluted HNO₃ solutions (0.7 e 1.4 mol L⁻¹) and ultrasonic irradiation. This effect was related to the presence of phosphorus atoms in structural molecules of pumpkins and potatoes cells as well as to the solid particles comminution (or fragmentation) when submitted to an intense ultrasonic field. However, undesirable effects were also observed for some elements and they were related to ultrasonic leaching process in order to explain how the calcium leached from potato sample had been 2,3 higher than the values obtained with the sample mineralization in a microwave-assisted digestion. Some of these effects were related to the erosion of internal surface of the irradiated vessels.

Key-words: Sample pre-treatment; Sample preparation; Pre-analytical processes; Elemental extraction; Ultrasonic leaching; Pumpkin; Potato

LISTA DE FIGURAS

- Figura 3.1.** Equipamentos empregados no tratamento preliminar: a) Moinho de impacto; b) Suporte de PVC para malhas de nylon. **13**
- Figura 3.2.** Equipamentos empregados nos procedimentos de extração. a) Sonda ultrassônica; b) agitador mecânico de hélice. **16**
- Figura 4.1.** Monitoramento da redução de massa das amostras em função do tempo de secagem. **20**
- Figura 4.2.** Distribuição do tamanho das partículas em amostras de abóbora e batata. **23**
- Figura 4.3.** Percentual em massa de partículas menores que 100 μm nas amostras de abóbora e batata submetidas aos diferentes procedimentos de tratamento preliminar. **24**
- Figura 4.4.** Amostras de abóbora e batata depois de submetidas aos diferentes procedimentos de tratamento preliminar (Fração $<100\mu\text{m}$). **25**
- Figura 4.5.** Correlação ente metais em amostra de batata a partir dos dados padronizados. **44**
- Figura 4.6.** Concentrações de Ca e Mg em amostra de abóbora submetida a diferentes procedimentos de extração e à digestão. (US: ultrassom; AM: agitação mecânica; MW: microondas). **50**
- Figura 4.7.** Concentrações de Cu (a) e Fe (b) em amostra de abóbora submetida a diferentes procedimentos de extração e à digestão. (US: ultrassom; AM: agitação mecânica; MW: microondas). **53**
- Figura 4.8.** Concentração de Zn em amostra e batata submetida à digestão e à extração assistida por ultrassom em diferentes frascos. **57**
- Figura 4.9.** Concentração de P em abóbora (a) e em batata (b) submetidas a diferentes procedimentos de extração e à digestão. (US: ultrassom; AM: agitação mecânica; MW: microondas). **58**

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1.	Impurezas em diferentes materiais (ng/g). Adaptado de KRUG (2008).	6
Tabela 1.2.	Composição das amostras por 100 gramas de parte comestível, adaptado de TACO, 2006.	8
Tabela 3.1.	Programa de aquecimento para digestão das amostras de abóbora e batata em forno de microondas com cavidade.	14
Tabela 3.2.	Condições empregadas nos procedimentos de extração.	16
Tabela 3.3.	Parâmetros instrumentais para as medidas por ICP OES axial, Varian.	19
Tabela 4.1.	Separação granulométrica de amostras de abóbora e batata	22
Tabela 4.2.	Teor de carbono residual (n = 4)	26
Tabela 4.3.	Acidez residual dos digeridos (n = 4)	28
Tabela 4.4.	Concentração de metais em amostra de abóbora (n = 4)	30
Tabela 4.5.	Concentração de metais em amostra de batata (n = 4)	30
Tabela 4.6.	Comparação dos teores de metais em amostra de abóbora (n = 4; F: falsa; V: verdadeira)	31
Tabela 4.7.	Comparação dos teores de metais em amostra de batata (n = 4; F: falsa; V: verdadeira)	31
Tabela 4.8.	Concentração de metais em amostra de abóbora submetida a diferentes procedimentos de extração assistida por ultrassom (média ± SD, n = 3).	36
Tabela 4.9.	Concentração de metais em amostra de abóbora submetida a diferentes procedimentos de extração com agitação mecânica (média ± SD, n=3).	37
Tabela 4.10.	Concentração de metais em amostra de batata submetida a diferentes procedimentos de extração assistida por ultrassom (média ± SD, n = 3).	38

Tabela 4.11.	Concentração de metais em amostra de batata submetida a diferentes procedimentos de extração com agitação mecânica (média \pm SD, n=3).	39
Tabela 4.12.	Coeficientes de correlação linear (<i>r</i>) para os diferentes metais em amostra de abóbora.	42
Tabela 4.13.	Coeficientes de correlação linear (<i>r</i>) para os diferentes metais em amostra de batata.	42
Tabela 4.14.	Comparação dos teores de metais obtidos por diferentes procedimentos de extração e digestão em amostra de abóbora (média \pm SD, n=3).	45
Tabela 4.15.	Comparação dos teores de metais obtidos por diferentes procedimentos de extração e digestão em amostra de batata (média \pm SD, n=3).	45
Tabela 4.16.	Concentração de metais em amostra de batata submetida à extração assistida por ultrassom com HNO ₃ 1,4 mol L ⁻¹ por 20 min em diferentes frascos (média \pm SD, n = 3).	55
Tabela 4.17.	Teor de metais determinado a partir da extração assistida por ultrassom usando vidro triturado no lugar da amostra (media \pm SD, n = 3).	56
Tabela 4.18.	Percentual de fragmentação em massa das amostras e do vidro expostos à irradiação ultrassônica em diferentes recipientes.	59

SUMÁRIO

RESUMO.....	iv
ABSTRACT.....	vi
LISTA DE FIGURAS.....	viii
LISTA DE TABELAS.....	ix
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	9
3. EXPERIMENTAL.....	10
3.1. Reagentes, Soluções e Amostras.....	10
3.2. Equipamentos.....	11
3.3. Procedimentos.....	12
3.3.1. Tratamento Preliminar das Amostras.....	12
3.3.2. Determinação do Teor de Umidade das Amostras.....	13
3.3.3. Separação Granulométrica.....	13
3.3.4. Digestão das Amostras.....	14
3.3.5. Determinação da acidez residual.....	15
3.3.6. Procedimentos de extração.....	15
3.3.7. Avaliação da redução do tamanho de partículas de amostras irradiadas com Ultrassom.....	17
3.3.8 Extração assistida por ultrassom utilizando vidro triturado no lugar da amostra.....	17
3.3.9. Determinação dos analitos por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES).....	18

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	20
4.1. Secagem e determinação do teor de umidade das amostras.....	20
4.2. Seleção do tamanho de partículas.....	21
4.3. Digestão das amostras de abóbora e batata assistida por microondas.....	25
4.4. Comparação dos teores de metais em amostras de abóbora e batata submetidas a diferentes procedimentos de tratamento preliminar.....	28
4.5. Avaliação da eficiência de diferentes procedimentos de extração na determinação das concentrações de metais em amostras de abóbora e batata.....	35
5. CONCLUSÕES.....	61
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	63

1. INTRODUÇÃO

A determinação do teor de uma ou mais espécies químicas em diferentes tipos de amostra é algo corriqueiro em laboratórios de química analítica. Na maioria dos casos, os procedimentos de análise química se iniciam pela amostragem e tratamento adequado da amostra. A escolha da estratégia de preparo mais apropriada depende, entre outras coisas, da natureza da matriz e do método de análise, e pode ser determinante para a obtenção de resultados confiáveis e, conseqüentemente, para o sucesso da análise (KRUG, 2008; NOGUEIRA et al., 2009).

A maioria das amostras exige uma série de tratamentos preliminares, que envolvem métodos predominantemente físicos, como lavagem, secagem, moagem e peneiramento, antes de dar seguimento às demais etapas do protocolo analítico. A partir deste tratamento preliminar da amostra, obtém-se a chamada amostra analítica ou laboratorial, da qual serão retiradas as alíquotas para análise (KRUG, 2008; MARKET, 1995). Embora precedam a amostragem laboratorial, estas operações são determinantes para o sucesso de uma análise química. Contudo, são poucos os trabalhos encontrados na literatura dedicados ao estudo dos efeitos destes processos sobre os resultados analíticos.

Uma etapa do tratamento preliminar muito comum quando se trata de análise de amostras de origem vegetal é a lavagem, que tem como objetivo a retirada de material estranho da superfície, como terra, areia, poeira, resíduos de pulverização, os quais podem constituir-se em fontes de contaminação.

Nesta etapa é importante se tomar cuidado com a possibilidade de perdas de elementos por lixiviação (KRUG, 2008; MARKET, 1995).

Quando a amostra se apresenta na forma sólida, outra etapa importante a ser considerada é a secagem, uma vez que, de modo geral, a amostra apresenta em maior ou menor proporção certa quantidade de água em sua composição. Essa variabilidade do teor de umidade afeta o grau de heterogeneidade da amostra, principalmente no caso de alimentos de origem vegetal (KING e CURREN, 2002). A água contida no alimento pode apresentar-se livre na superfície do mesmo, sendo facilmente evaporada, constituindo a chamada umidade de superfície. Ela também pode ser encontrada no interior do alimento, sem combinar-se quimicamente com o mesmo, sendo denominada de umidade adsorvida (AGUILERA et al., 2011; ADOLFO LUTZ, 2004).

A secagem até massa constante, normalmente, é realizada em estufa com circulação de ar, empregando-se uma temperatura adequada, na qual não haja riscos de perdas das espécies de interesse por volatilização e não ocorra a degradação térmica das amostras. No caso de amostras vegetais, recomenda-se secagem com circulação de ar com temperaturas de 60 – 70 °C (KALLUF, 2006; KRUG, 2008).

Geralmente, a secagem é seguida de uma etapa de moagem, na qual a amostra é convertida a um material finamente triturado, o que lhe confere maior homogeneidade, permitindo a retirada de pequenas porções para análise sem que haja perda da representatividade (MARKET, 1995; KING, 2002). Esta é uma etapa crítica, devido à possibilidade de abrasão da superfície dos equipamentos de moagem e conseqüente contaminação da amostra por

elementos presentes na constituição desses materiais (KREJCOVÁ et al., 2008; HOENIG, 2001). Essa possibilidade pode ser excluída ou reduzida ao mínimo a partir da utilização de moinhos constituídos de materiais com dureza superiores a da amostra e/ou que não incluam em sua composição as espécies a serem determinadas (MARKET, 1995; KRUG, 2008).

As amostras previamente moídas podem ser peneiradas em malhas com poros de diferentes diâmetros a fim de se avaliar a distribuição do tamanho de partículas, a partir da qual é possível fazer inferências sobre sua homogeneidade (MARKET, 1995; KRUG, 2008). Em alguns casos, o peneiramento é utilizado para selecionar uma fração de tamanho de partículas da amostra, devendo-se atentar para efeitos de segregação ou fracionamento do analito (KRUG, 2008). Geralmente, se opta por frações de menor diâmetro, as quais se dissolvem mais rápido e são mais suscetíveis à extração e decomposição devido à maior área superficial (KING e CURREN, 2002; KRUG, 2008).

A maioria das técnicas empregadas na quantificação do teor de metais requer a inserção da amostra na forma de uma solução líquida. Para atender a esta exigência, amostras sólidas geralmente são submetidas à decomposição total ou parcial a partir do ataque ácido associado a diferentes fontes de energia (SNEDDON et al., 2006; KORN et al., 2009). Um método ideal de digestão de amostras deve ser simples, rápido, gerar resultados precisos e exatos, consumir pouco reagente e ser aplicável a muitas amostras (KRUG, 2008; ARRUDA e SANTELLI, 1997).

A busca por procedimentos de decomposição que reúnam tais características é constante, tendo suscitado o desenvolvimento de vários

estudos. Dentre as alternativas apresentadas na literatura, trabalhos explorando processos de digestão assistidos por radiação microondas têm despertado o interesse de muitos pesquisadores, o que resultou num aumento significativo destes a partir de meados da década de 90 (SNEDDON et al., 2006; KORN et al., 2009). Vários autores demonstraram a eficiência da digestão assistida por microondas em diferentes matrizes, como amostras ambientais (HASSAN et al., 2007; SASTRE et al., 2002; ROJE, 2011), biológicas (NOGUEIRA et al., 2009; TORRES et al., 2009; BUGALLO, 2007) e vegetais (KORN et al., 2009; NOGUEIRA et al., 2002; BENDICHO et al., 2000).

Algumas das vantagens destes procedimentos em relação aos convencionais são os menores tempos de preparo, devido às altas temperaturas e pressões alcançadas, diminuição dos riscos de perdas de componentes voláteis e de contaminação, uma vez que o emprego de frascos fechados restringe o contato da amostra com o ambiente externo, e redução do consumo de reagentes (KRUG, 2008; ARRUDA e SANTELLI, 1997). Geralmente, a decomposição assistida por microondas emprega ácidos minerais (HNO_3 , HCl , H_2SO_4 , HF , HClO_4) associados ou não a reagentes oxidantes auxiliares. O ácido mais comumente usado é o HNO_3 por se tratar de um ácido forte, de alto poder oxidante, encontrado com alto grau de pureza e por formar sais solúveis (KRUG, 2008).

Em alguns casos, a destruição total da matriz pode ser dispensável para a avaliação do teor de metais em diversas amostras. Nestes casos, a extração dos analitos constitui-se numa estratégia de preparo alternativa ao processo de decomposição. No que se refere à extração, uma opção apresentada pela literatura são os procedimentos assistidos por ultrassons, os

quais diminuem os tempos de extração, o consumo de reagentes, e apresentam um custo relativamente baixo (PEREIRA et al., 2010). Por isso, tais procedimentos têm sido aplicados a vários tipos de amostras para a extração de diferentes espécies químicas (BENDICHO, 2011; PEREIRA et al., 2010; KAZI et al., 2008).

Os efeitos dos ultrassons em sistemas líquidos são atribuídos ao fenômeno de cavitação acústica, que consiste na geração, crescimento e implosão de numerosas microbolhas de cavitação, cujo colapso produz condições extremas de temperatura e pressão, mais de 5000 K e 1000 atm, respectivamente (SANTOS JÚNIOR et al., 2006; CAPELO et al., 2005). Em sistemas contendo partículas sólidas em suspensão ocorre o colapso assimétrico das bolhas de cavitação, gerando microjatos de alta velocidade, o que resulta na erosão e ruptura das partículas, aumentando assim a sua área superficial com conseqüente aumento da eficiência do processo de extração (BENDICHO et al., 2009; SANTOS JÚNIOR et al., 2006).

Entretanto, a eficiência destes procedimentos está condicionada a uma série de fatores como tipo de equipamento usado (banho ou sonda ultrassônica), amplitude, potência e tempo de exposição à radiação ultrassônica, natureza, volume e concentração da solução extratora, massa, tamanho de partículas e características da amostra, e tipo de interação entre analito e matriz. A influência de tais fatores torna crucial um controle rigoroso das condições experimentais, o qual não é fácil de ser alcançado, dificultando deste modo o estabelecimento de comparações, principalmente, quando são empregados banhos ultrassônicos devido à falta de homogeneidade na distribuição da radiação (BENDICHO et al., 2009; CAPELO et al., 2005).

Quando se emprega sonda ultrassônica, a inserção direta da ponteira da sonda na mistura caracteriza-se como uma possível fonte de contaminação, uma vez que, o contato com soluções ácidas e o tempo de exposição podem provocar a erosão desta (BENDICHO et al., 2009). Além destes, outro importante fator a ser considerado é a constituição dos frascos e recipientes de reação, uma vez que, segundo KRUG (2008), nenhum material é absolutamente resistente a uma solução, mesmo que somente água entre em contato com o mesmo. O vidro de borossilicato, por exemplo, contém grande quantidade de impurezas quando comparado com quartzo, e polímeros como PTFE e PFA (KRUG, 2008). A Tabela 1.1 mostra algumas impurezas presentes em diferentes materiais.

Tabela 1.1. Impurezas em diferentes materiais (ng/g). Adaptado de KRUG (2008).

Elemento	Carbono Vítreo	PTFE Teflon®	Quartzo Heralux®	Quartzo Suprasil®	Vidro Borossilicato
B	100	-	100	10	principal
Na	350	25000	1000	10	principal
Mg	100	-	100	100	6x10 ⁵
Al	6000	-	30000	100	principal
Si	85000	-	principal	principal	principal
K	80000	-	800-3000	100	10 ⁶
Ti	12000	-	800	100	3000
Cr	80	30	5	3	3000
Mn	100	-	10	10	6000
Fe	2000	10	800	200	2x10 ⁵
Co	2	2	1	1	100
Ni	500	-	-	-	2000
Cu	200	20	70	10	1000
Zn	300	10	50	100	3000
As	50	-	80	0,1	500-22000
Cd	10	-	10	-	1000
Sb	10	0,4	2	1	8000
Hg	1	10	1	1	-

A avaliação destes fatores é de extrema importância, visto que procedimentos baseados na extração ultrassônica são constantemente empregados para obtenção de informações a respeito de diversos tipos de amostra, como por exemplo, na área de análise de alimentos (TADEO et al., 2010; PADILHA et al., 2009), a qual busca conhecer a composição destes, fornecendo subsídios para avaliações nutricionais e de riscos associados ao consumo dos mesmos (CECCHI, 2003; TACO, 2006).

A qualidade das informações acerca destas amostras, passa pela escolha do método de preparo mais adequado, que depende, entre outras coisas, da composição química das mesmas (CECCHI, 2003). No caso de alimentos de origem vegetal como abóbora (*Cucurbita moschata*) e batata (*Solanum tuberosum* L.) a composição química pode variar em função do estágio de maturação, condições ambientais, solo, clima, adubação e doenças (QUADROS et al., 2009).

O conhecimento da composição química de alimentos é fundamental do ponto de vista da segurança alimentar e nutricional, impulsionando o desenvolvimento de vários trabalhos nesta área (TADEO et al., 2010; PADILHA et al., 2009). Alimentos de origem vegetal como abóbora e batata, os quais estão entre os mais cultivados e consumidos no Brasil, são importantes fontes de nutrientes para a população (KALLUF, 2006; CASTRO, 2009), o que torna essencial a realização de estudos sobre sua constituição química. Alguns dados referentes à composição química de amostras de abóbora e batata, adaptados de TACO 2006, são apresentados na Tabela 1.2.

Tabela 1.2. Composição das amostras por 100 gramas de parte comestível, adaptado de TACO, 2006.

Amostra	Umidade (%)	Proteína (g)	Lipídeos (g)	Carboidratos (g)	Fibra Alimentar (g)	Cinzas (g)
Abóbora	95,7	0,6	Tr	3,3	1,2	0,4
Batata	82,9	1,8	Tr	14,7	1,2	0,6

Tr: traço.

As características das amostras a serem analisadas, bem como a forma de prepará-las, para proceder à determinação da composição química das mesmas, podem promover variações significativas nos resultados obtidos. Deste modo, no presente trabalho será avaliada a influência de diferentes procedimentos de preparo sobre a determinação do teor de metais em amostras de abóbora e batata.

2. OBJETIVOS

O presente trabalho tem como objetivo investigar possíveis influências de modificações nas etapas de tratamento preliminar e no preparo de amostras de polpa de abóbora e batata sobre a determinação multielementar por ICP OES. Inicialmente, pretende-se avaliar o efeito da alteração da ordem de execução das etapas de tratamento preliminar sobre as concentrações de metais em amostras de polpa de abóbora e batata. Posteriormente, procurou-se investigar a influência da concentração de ácido nítrico, do tipo de agitação (ultrassom e agitação mecânica) e do tempo de agitação sobre a eficiência dos procedimentos de extração de diferentes elementos nestas amostras. Objetiva-se também, discutir efeitos decorrentes da irradiação ultrassônica em sistemas líquidos contendo partículas sólidas, e o impacto destes sobre os resultados obtidos.

3. EXPERIMENTAL

3.1. Reagentes, Soluções e Amostras

As vidrarias empregadas na realização dos experimentos foram lavadas com detergente neutro, e depois levadas à descontaminação em banho de HNO₃ 10% (v/v) por, no mínimo, 12 h. Em seguida, preferiu-se o enxágüe das mesmas com água desionizada por três vezes.

As soluções foram preparadas a partir de reagentes com grau analítico de pureza e diluídas com água ultrapura com condutividade 0,005 µS cm⁻¹, obtida em sistema de purificação Milli-Q[®]. Para a avaliação do teor de metais foi preparada uma solução multielementar 50 mg L⁻¹ dos microelementos (Al, As, Ba, Cd, Cr, Cu, Fe, Li, Mn, Pb, Sb, Se, Sr, V e Zn), a partir da diluição das soluções padrão (1000 mg L⁻¹ de cada elemento). No caso dos macroelementos (Na, K, Ca, Mg e P), estes foram diluídos diretamente dos padrões contendo 1000 mg L⁻¹ de cada elemento.

A digestão das amostras foi realizada empregando HNO₃ P.A. (14 mol L⁻¹) (Merck, Alemanha) e H₂O₂ P.A. (Merck, Alemanha). Nas extrações foram utilizadas soluções diluídas desse mesmo ácido nas concentrações 0,7 (5%), 1,4 (10%) e 2,1 mol L⁻¹ (15% (m/v)).

A determinação da acidez residual das amostras foi efetuada pela titulação destas com solução aquosa de hidróxido de sódio (Quimex, Brasil), previamente padronizada com ftalato ácido de potássio (Vetec, Brasil). Para determinação do carbono residual foi preparada uma solução estoque 5000 mg L⁻¹ de carbono a partir de ácido cítrico monohidratado (Merck, Alemanha).

As amostras de batata (*Solanum tuberosum* L.) e abóbora (*Cucurbita moschata*) foram adquiridas em mercados de Salvador, conduzidas até o laboratório, onde foram lavadas com água destilada, descascadas, secas em estufa a 60°C com circulação de ar, posteriormente trituradas e peneiradas.

3.2. Equipamentos

A secagem das amostras foi conduzida em estufa de esterilização e secagem com circulação de ar, modelo 400 D, Nova Ética, com controle de temperatura e circulação forçada de ar.

A trituração das amostras foi realizada em Moinho A11 Basic IKA, com batedor e câmara de moagem em aço inoxidável, e volume útil de 80 mL, empregando o módulo de impacto. No caso da trituração prévia das amostras, antes da secagem, esta foi efetuada em liquidificador doméstico usando um copo exclusivo para as amostras em estudo.

As digestões das amostras foram realizadas em forno de microondas com cavidade Milestone, Start D (Bergamo, Itália), em frascos de perfluoralcoxi (PFA).

Nos procedimentos de extração auxiliados por ultrassom foi empregada uma sonda ultrassônica, Sonics Vibra-Cell, VC 750, 750 W e 20 kHz, com ponteira fixa constituída de liga de titânio (Ti-6Al-4V). No caso das extrações com agitação mecânica, utilizou-se um agitador mecânico de hélice, IKA RW 11 basic “Lab Egg”, com rotação máxima de 2000 rpm. Os extratos foram filtrados em papel de filtro quantitativo, JP42 – faixa azul, maioria dos poros com diâmetro de 8 µm.

As análises multielementares foram realizadas em espectrômetro de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) simultâneo com visão axial VISTA PRO (Varian, Mulgrave, Austrália), com câmara de nebulização *Sturmar-Master* e nebulizador *V-Groove*.

A acidez residual das amostras foi determinada pela titulação das mesmas com NaOH em titulador automático, titrino 751, Metrohm.

3.3. Procedimentos

3.3.1. Tratamento preliminar das amostras

As amostras de batata e abóbora foram adquiridas nos mercados de Salvador em quantidades suficientes para a realização de todas as etapas do trabalho. Deste modo, para cada amostra, foram obtidos cerca de 3 kg, os quais compunham uma única amostra, a qual foi subdividida e submetida a diferentes processos de pré-tratamento, a fim de possibilitar as devidas comparações entre os resultados obtidos.

Uma vez adquiridas, as amostras foram previamente lavadas com água destilada, em seguida, descascadas e cortadas com uma faca de aço inoxidável e divididas em duas frações cada. A primeira fração foi conduzida à secagem em estufa a 60 °C com circulação de ar até massa fixa para posterior trituração (Procedimento A). A segunda foi previamente triturada em liquidificador, por 10 min, antes de ser submetida ao mesmo processo de secagem descrito acima (Procedimento B).

As amostras desidratadas foram então moídas em moinho de impacto por 1 min (em duas etapas de 30 s cada, com intervalo de 10 min entre elas) até a obtenção de um material finamente triturado. Depois de trituradas as

amostras foram submetidas à separação por tamanho de partículas em malhas de nylon com poros 500, 200 e 100 μm de diâmetro, fixadas em suporte de PVC, conforme ilustrado na Figura 3.1.

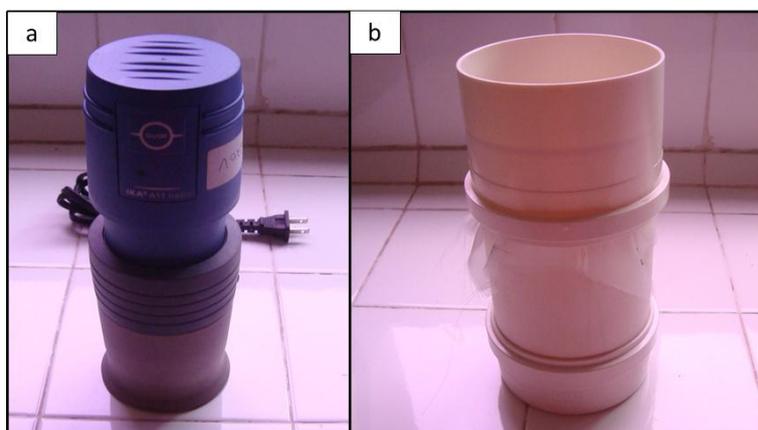


Figura 3.1. Equipamentos empregados no tratamento preliminar: a) Moinho de impacto; b) Suporte de PVC para malhas de nylon.

3.3.2. Determinação do teor de umidade das amostras

Para determinação do teor de umidade foram tomadas três alíquotas de aproximadamente 10 g de amostra cada, as quais foram submetidas ao mesmo processo de secagem descrito acima. A redução de massa foi monitorada em determinados intervalos de tempo, retirando-se as mesmas da estufa, resfriando-as em dessecador até temperatura ambiente e medindo sua massa. Esse procedimento foi repetido até que as massas permanecessem constantes para no mínimo três pesagens.

3.3.3. Separação granulométrica

A separação granulométrica foi efetuada passando cerca de 10 g de amostra por malhas de nylon com poros de 500, 200 e 100 μm de diâmetro, respectivamente. A partir da massa retida em cada uma das malhas foi

possível estimar a distribuição das partículas de acordo com seu tamanho e escolher a fração a ser empregada na execução das etapas posteriores de digestão e extração.

3.3.4. Digestão das amostras

As amostras foram digeridas em forno de microondas com cavidade, empregando 7 mL de HNO₃ P. A. (14 mol L⁻¹) e 1 mL H₂O₂ P. A. como reagente oxidante auxiliar. Nesses experimentos foi usada a fração da amostra com tamanho de partícula inferior a 100 µm. A massa de amostra utilizada nas digestões foi de aproximadamente 300 mg e todos os experimentos foram efetuados em quadruplicatas. Os brancos analíticos constituíram-se da mesma mistura, ácido nítrico e peróxido de hidrogênio, usada para decompor as amostras, submetida ao mesmo programa de aquecimento, sem a presença da amostra.

Para todas as digestões foram adotados a mesma mistura de reagentes e o mesmo programa de aquecimento no forno de microondas, descrito na Tabela 3.1.

Tabela 3.1. Programa de aquecimento para digestão das amostras de abóbora e batata em forno de microondas com cavidade.

Etapa	Temperatura (°C)	Rampa (min)	Patamar (min)	Potência (W)
1	120	5	3	750
2	180	10	15	750
3	-	0	10	0

Ao final das digestões os digeridos foram diluídos com água ultrapura até um volume final de 20 mL.

3.3.5. Determinação da acidez residual

A acidez residual dos digeridos foi determinada a partir da titulação de 100 µL destes com solução padronizada de NaOH de concentração aproximadamente igual a 0,1 mol L⁻¹ em titulador automático. Esse mesmo procedimento foi efetuado também para os brancos analíticos.

3.3.6. Procedimentos de extração

As extrações foram empregadas para novas amostras de abóbora e batata, seguindo o procedimento convencional de tratamento preliminar (Procedimento A), ou seja, amostra inicialmente seca, depois triturada. Assim como na digestão, a fração usada nas extrações foi a que apresentou tamanho de partículas inferior a 100 µm.

Para os procedimentos de extração foram usados cerca de 1 g de amostra e 100 mL de solução extratora. Como soluções extratoras foram utilizadas soluções de ácido nítrico de diferentes concentrações (0,7; 1,4; 2,1 mol L⁻¹). A agitação da mistura da amostra com a solução extratora foi efetuada empregando sonda ultrassônica ou agitador mecânico de hélice por períodos de tempo de 10, 20 e 30 min, como mostrado na Figura 3.2. No caso da agitação ultrassônica com tempos de 20 e 30 min, estas foram realizadas em ciclos de 10 min cada, com intervalos de cerca de 20 min entre os ciclos para resfriamento da mistura, evitando o aquecimento exacerbado do sistema.

A agitação mecânica foi efetuada sempre com a mesma rotação de 1000 rpm, enquanto a sonda ultrassônica operou em todos os experimentos com uma amplitude de 40%, não sendo utilizadas amplitudes maiores como medida de preservação da vida útil do equipamento. Na Tabela 3.2 são

apresentadas as diferentes condições utilizadas nos procedimentos de extração. Após a etapa de extração foi executada a filtração das misturas resultantes com papel de filtro quantitativo. Todos os experimentos foram realizados em triplicatas.

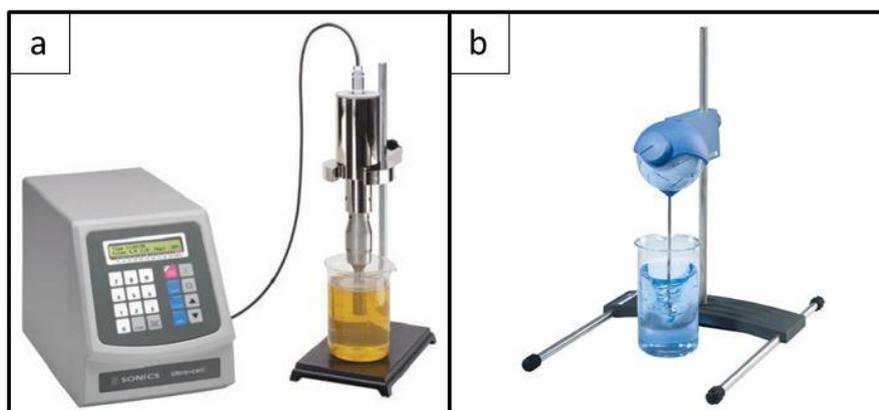


Figura 3.2. Equipamentos empregados nos procedimentos de extração. a) Sonda ultrassônica; b) agitador mecânico de hélice.

Tabela 3.2. Condições empregadas nos procedimentos de extração.

Procedimento	Forma de agitação	Concentração de HNO_3 (mol L^{-1})	Tempo (min)
P1	Ultrassom	0,7	10
P2	Ultrassom	0,7	20
P3	Ultrassom	0,7	30
P4	Ultrassom	1,4	10
P5	Ultrassom	1,4	20
P6	Ultrassom	1,4	30
P7	Ultrassom	2,1	10
P8	Ultrassom	2,1	20
P9	Ultrassom	2,1	30
P10	Mecânica	0,7	10
P11	Mecânica	0,7	20
P12	Mecânica	0,7	30
P13	Mecânica	1,4	10
P14	Mecânica	1,4	20
P15	Mecânica	1,4	30
P16	Mecânica	2,1	10
P17	Mecânica	2,1	20
P18	Mecânica	2,1	30

O procedimento P5, cujas condições são especificadas na Tabela 3.2, foi executado em diferentes frascos, a fim de verificar a influência destes sobre os resultados obtidos. Para tal, foram utilizados béqueres de três marcas distintas e frasco de perfluoralcoxi (PFA), geralmente empregado em digestões por microondas. Neste último, a massa de amostra foi de 0,5 g e o volume de solução extratora 50 mL, devido à capacidade máxima do referido frasco.

3.3.7. Avaliação da redução do tamanho de partículas de amostras irradiadas com ultrassom

Para verificar a ocorrência de quebra das partículas que compõem a amostra, quando esta é submetida à extração assistida por ultrassom, uma massa de aproximadamente 1 g de amostra, com tamanho de partículas entre 200 e 500 μm , foi sonicada por 10 min com 100 mL de HNO_3 0,7 mol L^{-1} em béquer de borossilicato. Depois desse processo, a amostra resultante foi peneirada em malha de nylon com poros de 200 μm . A fração que ficou retida foi pesada e comparada com a massa utilizada inicialmente. Esse mesmo procedimento foi realizado usando 1 g de vidro triturado, com partículas de mesmo diâmetro descrito acima, no lugar da amostra. Em outro experimento o béquer de borossilicato, usado como recipiente, foi substituído por um frasco de PFA, seguindo o mesmo procedimento descrito anteriormente.

3.3.8 Extração assistida por ultrassom utilizando vidro triturado no lugar da amostra

Um béquer previamente descontaminado foi envolvido numa flanela e triturado mecanicamente com o auxílio de um martelo. Depois de triturado, o

material resultante foi peneirado em malha de nylon com poros de 100 μm de diâmetro. Pesaram-se aproximadamente 1 g da fração menor que 100 μm em béquer de 100 mL, ao qual foram acrescentados 100 mL de solução de ácido nítrico 0,7 mol L⁻¹, e submetido à sonicação por 10 min, com amplitude de 40%. Esse procedimento foi realizado em triplicata.

3.3.9. Determinação dos analitos por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES)

A determinação das concentrações dos analitos nas amostras foi realizada por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) simultâneo com visão axial. O sistema óptico do ICP OES foi calibrado com solução multielementar de referência e o alinhamento da tocha foi realizado com uma solução de Mn 5 mg L⁻¹. As linhas espectrais foram selecionadas de acordo com a intensidade dos sinais, linearidade das curvas e ausência de interferências. Na Tabela 3.3 são apresentadas as características e os parâmetros operacionais usados no ICP OES.

A partir de uma solução estoque multielementar 50 mg L⁻¹ dos microelementos (Al, As, Ba, Cd, Cr, Cu, Fe, Li, Mn, Pb, Sb, Se, Sr, V e Zn) foram preparadas soluções de referência na faixa de concentração de 0 a 10 mg L⁻¹. No caso dos macroelementos (Na, K, Ca, Mg e P), foram realizadas diluições diretas dos padrões individuais destes elementos de concentração 1000 mg L⁻¹ para obtenção das soluções de referência com concentrações entre 0 e 100 mg L⁻¹. A curva de carbono de 0 a 1000 mg L⁻¹, usada para determinação do carbono residual, foi preparada pela diluição da solução

estoque 5000 mg L⁻¹ de carbono. Os volumes foram ajustados com solução de ácido nítrico em concentração similar à das amostras a serem analisadas.

Tabela 3.3. Parâmetros instrumentais para as medidas por ICP OES axial, Varian.

Potência RF (kW)	1,3
Vazão do gás de nebulização (L min ⁻¹)	0,70
Vazão do gás auxiliar (L min ⁻¹)	1,5
Vazão do gás do plasma (L min ⁻¹)	15
Tempo de integração (s)	2,0
Tempo de estabilização (min)	15
Tempo de leitura (min)	1
Replicatas	3
Nebulizador	V-Groove
Câmara de Nebulização	Sturman-Master

Elementos e respectivos comprimentos de onda

Elemento	Comprimentos de onda (nm)		
Al	237,312	396,152	167,019
As	188,980	193,696	197,198
Ba	252,840	416,600	489,993
C	193,027	175,122	247,856
Ca	393,366	396,847	422,673
Cd	214,439	226,502	228,802
Cr	205,560	206,158	267,716
Cu	213,598	324,754	327,395
Fe	234,350	238,204	259,940
K	404,721	766,491	769,897
Li	460,289	610,365	670,783
Na	568,821	588,995	589,592
Mg	279,553	280,270	285,213
Mn	257,610	259,372	260,568
P	177,434	178,222	213,618
Pb	182,143	217,000	220,353
Sb	206,834	217,582	231,146
Se	185,457	196,026	203,985
Sr	216,596	407,771	421,552
V	292,401	309,310	311,837
Zn	202,548	206,200	213,857

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Secagem e determinação do teor de umidade das amostras

A umidade corresponde à perda de massa observada quando o produto é aquecido sob condições específicas. Na verdade, a água não é a única substância a ser evaporada, mas outras substâncias voláteis podem ser perdidas durante o processo (ADOLFO LUTZ, 2004). Para minimizar a ocorrência de possíveis perdas por volatilização, durante a realização dos experimentos, a secagem das amostras foi efetuada à temperatura de 60°C, o que evita também a decomposição térmica das mesmas.

A redução de massa das amostras durante a secagem foi monitorada conforme mostrado na Figura 4.1. Observou-se que, a partir de determinado período de tempo, a massa das amostras permaneceu constante, momento no qual, considerou-se que a amostra encontrava-se devidamente seca. Deste modo, analisando a Figura 4.1, constatou-se que o tempo necessário para a secagem da amostra de abóbora (~48h) é maior que o da amostra de batata (~24h).

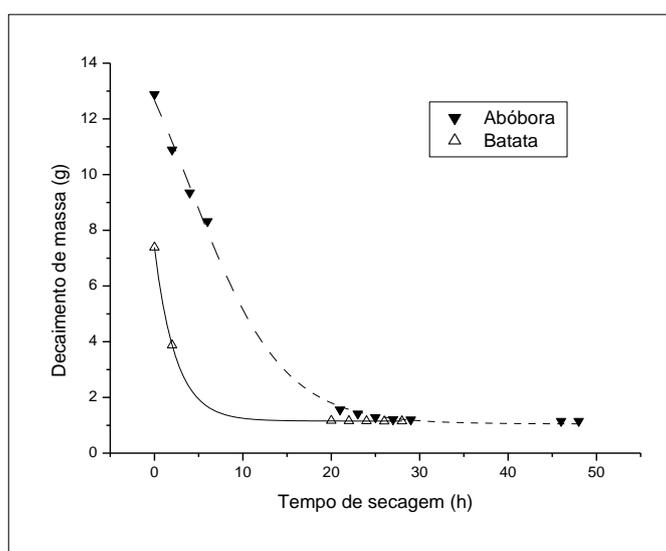


Figura 4.1. Monitoramento da redução de massa das amostras em função do tempo de secagem.

A diferença nos tempos de secagem para diferentes amostras vegetais é algo esperado, visto que, podem conter diferentes teores de umidade. Além disso, a velocidade com que a água é evaporada pode ser afetada pela temperatura de secagem, tamanho das partículas, formação de crosta na superfície, área superficial da amostra, e da forma como a água está presente, como umidade de superfície ou umidade adsorvida, sendo a primeira removida com maior facilidade (KING e CURREN, 2002; ADOLFO LUTZ, 2004).

Esse procedimento de secagem permitiu também a determinação do teor de umidade das amostras, que é um parâmetro importante no caso de alimentos, pois além de influenciar no grau de heterogeneidade, pode ser necessário para calcular o seu valor nutritivo e pode afetar a frescura e resistência à deterioração e, conseqüentemente, a qualidade do mesmo (KING e CURREN, 2002).

A partir dos valores de massa úmida e massa seca obtidos nesses experimentos, pôde-se calcular o teor de umidade (%(m/m)) das amostras de abóbora ($90,2 \pm 0,5\%$) e batata ($83,5 \pm 0,2\%$). Nota-se que, a abóbora apresenta maior teor de umidade que a batata, sendo os valores obtidos comparáveis aos descritos na tabela TACO de 2006 (95,7 e 82,9%, para abóbora e batata, respectivamente).

4.2. Seleção do tamanho de partículas

As amostras de abóbora e batata foram submetidas a dois processos distintos de tratamento preliminar, sendo o primeiro (Procedimento A) comumente empregado no preparo de amostras sólidas, onde a amostra é previamente seca e depois triturada. No segundo (Procedimento B), a amostra

foi triturada ainda úmida, obtendo-se um material pastoso, posteriormente levado à secagem e finalmente triturado.

Depois de trituradas as amostras foram peneiradas em malhas de nylon com poros de 500, 200, e 100 μm , respectivamente. A massa de amostra que passou por cada uma das malhas foi medida a fim de avaliar a distribuição do tamanho de partículas. Deste modo, foram separadas quatro frações de acordo com a sua granulometria (F1: $>500 \mu\text{m}$; F2: $500\text{-}200 \mu\text{m}$; F3: $200\text{-}100 \mu\text{m}$ e F4: $<100 \mu\text{m}$) conforme apresentado na Tabela 4.1 para amostras de abóbora e batata que passaram pelo Procedimento A.

Tabela 4.1. Separação granulométrica de amostras de abóbora e batata

Fração	Abóbora		Batata	
	Média % (m/m)	SD % (m/m)	Média % (m/m)	SD % (m/m)
F1	31	1	25	2
F2	22	1	22,0	0,3
F3	17	1	10,8	0,3
F4	30	1	42	2

A distribuição do tamanho das partículas em amostras de abóbora e batata submetidas ao Procedimento A é mostrada na Figura 4.2, onde foi possível notar que, para ambas as amostras a fração 4 é bastante significativa, sendo que, no caso da amostra de batata é a fração que apresenta o maior percentual em massa, $42\pm 2\%$, se comparada com as demais. No caso da amostra de abóbora, essa fração apresenta percentual em massa um pouco menor, $30\pm 1\%$, que na amostra de batata, demonstrando que o processo de

trituração promoveu maior redução do tamanho de partículas para esta última. Isto indica que a batata seca forma um material mais suscetível à fragmentação por impacto que a abóbora na mesma condição.

Ao se comparar o percentual em massa das diferentes frações separadas da amostra de abóbora, percebe-se que, os resultados são semelhantes aos obtidos para amostra de batata. Contudo, foram observadas algumas diferenças, pois, enquanto na amostra de batata o maior percentual em massa foi obtido para a fração 4, na amostra de abóbora, essa fração, apresenta um percentual praticamente igual ao da fração 1, $30\pm 1\%$ e $31\pm 1\%$, respectivamente. Essa observação é mais um indício de que a abóbora seca constitui-se em um material menos quebradiço que a batata sob condições idênticas.

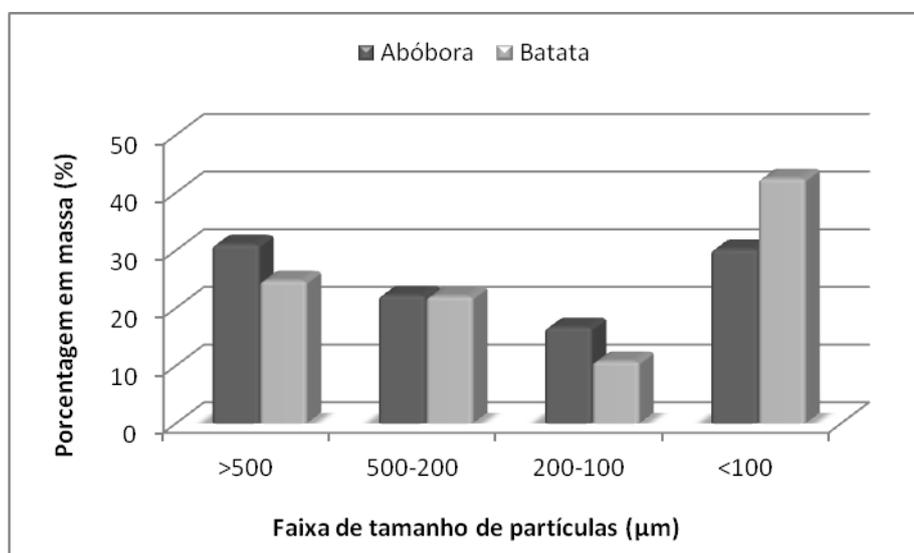


Figura 4.2. Distribuição do tamanho das partículas em amostras de abóbora e batata.

O percentual em massa, de partículas com diâmetro menor que 100 µm, mantêm um valor expressivo para as amostras submetidas ao Procedimento B, conforme mostrado na Figura 4.3. Pode-se perceber que, a

fração 4 apresenta percentual em massa levemente superior para amostras que passaram pelo Procedimento B, indicando que a trituração da amostra antes da secagem torna a amostra mais suscetível à ruptura quando moída por impacto.

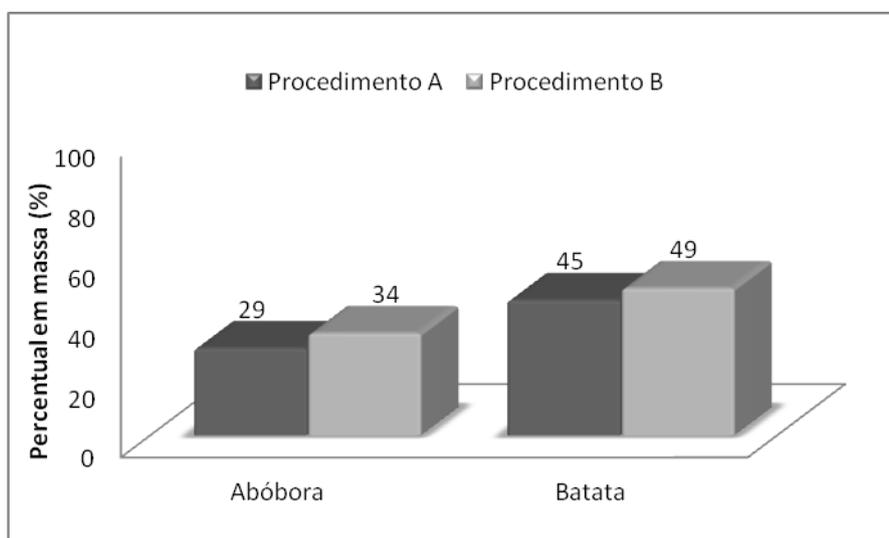


Figura 4.3. Percentual em massa de partículas menores que 100 µm nas amostras de abóbora e batata submetidas aos diferentes procedimentos de tratamento preliminar.

Diante disso, para a realização das etapas posteriores, foi selecionada a fração 4, composta de partículas menores que 100 µm, uma vez que, além de possuir um percentual em massa bastante significativo para ambas as amostras e procedimentos, o fato de ser constituída por partículas de menor diâmetro, pressupõe que, para uma mesma massa, haverá um número de partículas muito maior, corroborando para sua maior representatividade face às demais. Somado a isso, vale ressaltar que, o material constituído de partículas menores é mais homogêneo e os processos de extração e decomposição são favorecidos devido à maior área superficial (KING e CURREN, 2002; KRUG, 2008). A fração 4, escolhida para a realização das etapas subsequentes pode ser observada na Figura 4.4, onde é possível perceber que o material apresenta-se visualmente bastante homogêneo.



Figura 4.4. Amostras de abóbora e batata depois de submetidas aos diferentes procedimentos de tratamento preliminar (Fração <math> <100\mu\text{m}</math>).

4.3. Digestão das amostras de abóbora e batata assistida por radiação micro-ondas

A digestão da amostra é uma etapa frequentemente utilizada para a conversão da mesma numa mistura líquida passível de ser analisada pela maioria das técnicas analíticas, tais como a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES). Para este fim, foi empregada a digestão assistida por micro-ondas, apontada como uma alternativa aos procedimentos convencionais por diminuir o tempo de preparo, os riscos de perdas de espécies voláteis e de contaminação (ARRUDA e SANTELLI, 1997; KRUG, 2008).

Ao final do processo de digestão foi possível observar que os digeridos, resultantes das duas amostras submetidas aos diferentes procedimentos de tratamento preliminar, apresentaram-se transparentes e incolores sem a presença de resíduos sólidos. Essas observações preliminares são indícios de que o procedimento de digestão foi eficiente para as amostras em estudo. A eficiência do processo de digestão também foi avaliada com base na

determinação do teor de carbono residual, cujos dados são apresentados na Tabela 4.2.

Tabela 4.2. Teor de carbono residual (n = 4)

Amostra	Procedimento	Carbono Residual (%)
Abóbora	A	1,7 ± 0,2
	B	2,6 ± 0,3
Batata	A	5,4 ± 0,5
	B	8 ± 2

Os teores de carbono residual determinados por ICP OES nas amostras de abóbora e batata submetidas aos diferentes procedimentos de tratamento preliminar foram relativamente baixos, o que sugere uma boa eficiência do processo de decomposição das amostras. O maior teor de carbono residual foi obtido para amostra de batata submetida ao Procedimento B (8%). Contudo, admitiu-se que esse valor é aceitável, pois de acordo com Nogueira (2002) teores de carbono residual de até 13% não causaram interferência na determinação de Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, P e Zn por ICP OES, em amostras de plantas.

Os teores de carbono residual na amostra de batata, para ambos os procedimentos, são superiores aos valores observados para a amostra de abóbora. Uma hipótese para justificar esses resultados é que, de acordo com a tabela TACO de 2006, cujos dados são mostrados na Tabela 1.2, as concentrações de proteínas e carboidratos na amostra de batata são significativamente maiores que na abóbora (Proteína: 0,6 e 1,8 g/100g; Carboidratos: 3,3 e 14,7 g/100g; para abóbora e batata, respectivamente).

Esses dados sugerem que a amostra de batata apresenta inicialmente um maior teor de carbono que a abóbora.

Foi observado que o teor de carbono residual nas amostras trituradas antes da secagem (Procedimento B) é, aproximadamente, 1,5 vezes superior ao determinado para as amostras submetidas ao procedimento A, tanto para abóbora quanto para batata. Esta observação pode estar relacionada ao fato de que a trituração das amostras antes da secagem, pode conduzir a uma maior perda de água durante a desidratação. Segundo CECCHI (2003) a água pode estar no alimento em três formas diferentes: *água livre*, presente nos espaços intergranulares; *água absorvida*, presente na superfície de macromoléculas como amido, pectina, celulose e proteínas, unidas por forças de Van der Waals e ligações de hidrogênio; *água de hidratação ou ligada*, quimicamente ligada a outras substâncias, não sendo eliminada na maioria dos métodos de determinação de umidade. Essa característica é similar ao que ocorre com sólidos puros, no quais a água pode se encontrar como água de: adsorção, absorção, oclusão, constituição ou de hidratação (BACCAN et al., 1979).

Deste modo, a trituração pré-secagem gera um aumento da superfície do material, e pode provocar o rompimento das paredes celulares alterando a estrutura da amostra, liberando a água contida no interior dos compartimentos desta, levando a uma desidratação mais eficiente. Assim, ao se tomar uma massa de amostra que passou pelo procedimento B, esta contém uma menor quantidade de água, e conseqüentemente uma maior massa de amostra propriamente dita e de matéria orgânica. Outra observação que corrobora com esta hipótese é o fato da amostra submetida à trituração pré-secagem

apresentar uma maior fração de partículas menores que 100 μm (Figura 4.3), evidenciando que o material é mais físsil, provavelmente devido à menor quantidade de água.

A acidez residual dos digeridos, apresentada na Tabela 4.3, é praticamente a mesma, o que indica que o consumo ácido durante o processo de digestão é similar. Com base nisso, e presumindo que a amostra de batata, submetida à trituração pré-secagem, possui maior teor inicial de matéria orgânica, como mencionado anteriormente, é de se esperar que o resíduo de carbono após a digestão seja maior para essa amostra, concordando com os valores constantes na Tabela 4.2.

Tabela 4.3. Acidez residual dos digeridos (n = 4)

Amostra	Procedimento	Acidez Residual (mol L^{-1})
Abóbora	A	$11,2 \pm 0,2$
	B	$11,3 \pm 0,1$
Batata	A	$11,7 \pm 0,1$
	B	$11,6 \pm 0,5$

4.4. Comparação dos teores de metais em amostras de abóbora e batata submetidas a diferentes procedimentos de tratamento preliminar

A determinação do teor de metais em amostras de alimentos é fundamental para a obtenção de informações que permitam avaliar a qualidade, valor nutricional e segurança dos mesmos. As análises elementares, geralmente, são realizadas empregando técnicas instrumentais, entre as quais se destaca a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES), pois permite a realização de determinações simultâneas,

é pouco suscetível a interferências devido às altas temperaturas atingidas no plasma de argônio e é bastante sensível.

A confiabilidade dos resultados está condicionada à escolha adequada da metodologia analítica, sendo que entre as etapas que a compõem, o preparo da amostra é, reconhecidamente, a responsável pela maior quantidade de erros (OLIVEIRA, 2003; ARRUDA et al., 1997). Incluem-se aí as operações destinadas ao tratamento preliminar da amostra, tais como lavagem, secagem, moagem e peneiramento.

Idealmente, um método analítico deveria estar livre de erros sistemáticos, e fornecer resultados iguais ao valor real. Contudo, mesmo na ausência de erros sistemáticos, o valor obtido a partir de determinado método analítico dificilmente será igual ao valor verdadeiro devido à ocorrência de erros aleatórios. Para verificar se as diferenças entre o valor medido e o verdadeiro podem ser atribuídas a erros aleatórios, devem-se aplicar os testes de significância, que permitem avaliar se as diferenças entre os resultados são significativas ou não (MILLER e MILLER 2005). Os testes de significância também podem ser aplicados para avaliar o efeito de variações no procedimento sobre resultados obtidos.

Deste modo, o teste t foi aplicado para verificar a influência da alteração no procedimento de tratamento preliminar das amostras de abóbora e batata sobre os teores de metais determinados por ICP OES. As concentrações de metais obtidas a partir dos diferentes procedimentos para amostras de abóbora e batata são apresentadas nas Tabelas 4.4 e 4.5, respectivamente.

Tabela 4.4. Concentração de metais em amostra de abóbora (n = 4)

Elemento	Procedimento A		Procedimento B	
	Média ($\mu\text{g g}^{-1}$)	SD ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Média ($\mu\text{g g}^{-1}$)	SD ($\mu\text{g g}^{-1}$)
Ca ^a	0,98	0,01	1,01	0,04
K ^a	11,2	0,4	11,7	0,2
Mg ^a	0,651	0,005	0,74	0,01
Mn ^b	0,7	0,1	1,0	0,1
P ^a	1,91	0,03	2,07	0,03
Zn ^b	12	1	11,9	0,3

^a Concentrações em mg/g; ^b Concentrações em $\mu\text{g/g}$.

Tabela 4.5. Concentração de metais em amostra de batata (n = 4)

Elemento	Procedimento A		Procedimento B	
	Média ($\mu\text{g g}^{-1}$)	SD ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Média ($\mu\text{g g}^{-1}$)	SD ($\mu\text{g g}^{-1}$)
Ca ^b	85	11	75	8
K ^a	13,6	0,4	12,2	0,3
Mg ^a	1,03	0,01	0,78	0,01
Mn ^b	5,7	0,2	2,6	0,2
P ^a	1,95	0,04	1,62	0,03
Zn ^b	15	2	11,4	0,5

^a Concentrações em mg/g; ^b Concentrações em $\mu\text{g/g}$.

A forma de calcular o valor de t varia de acordo com o fato das variâncias amostrais serem iguais ou não, sendo necessário calculá-las previamente e compará-las por meio da realização do teste F. A partir daí, os valores de t podem ser calculados e comparados com os valores críticos para

verificar se as médias diferem significativamente para um determinado nível de confiança, adotado aqui o nível de 5% ($P=0,05$). Os valores de t encontrados são apresentados nas Tabelas 4.6 e 4.7.

Tabela 4.6. Comparação dos teores de metais em amostra de abóbora ($n = 4$; F: falsa; V: verdadeira)

Elemento	x_A	s_A^2	x_B	s_B^2	t_{calc}	$t_{crítico}$	$H_0(x_A=x_B)$
Ca	978	144	1007	2025	1,24537	1,94318	V
K	11171	177241	11664	39601	2,11741	1,94318	F
Mg	651	25	740	64	18,86796	1,94318	F
Mn	0,7	0,01	1,01	0,0036	5,31646	1,94318	F
P	1914	729	2069	729	8,11863	1,94318	F
Zn	11,8	1,84	11,9	0,09	0,13336	2,35336	V

x_A e x_b = concentrações médias ($\mu\text{g/g}$); s_A^2 e s_B^2 = variâncias; H_0 = hipótese nula; ($P = 0,05$)

Tabela 4.7. Comparação dos teores de metais em amostra de batata ($n = 4$; F: falsa; V: verdadeira)

Elemento	x_A	s_A^2	x_B	s_B^2	t_{calc}	$t_{crítico}$	$H_0(x_A=x_B)$
Ca	85	121	75,1	68,89	3,519571	1,94318	F
K	13589	139876	12232	96100	13,685213	1,94318	F
Mg	1028	121	782	81	84,793984	1,94318	F
Mn	5,7	0,04	2,6	0,04	53,693575	1,94318	F
P	1952	1600	1617	961	32,429902	1,94318	F
Zn	15	4	11,4	0,25	3,492513	2,35336	F

x_A e x_b = concentrações médias ($\mu\text{g/g}$); s_A^2 e s_B^2 = variâncias; H_0 = hipótese nula; ($P = 0,05$)

Observando os valores de t na Tabela 4.7, referente à amostra de batata, pode-se perceber que, para todos os elementos avaliados o t calculado (t_{calc}) é maior que o $t_{\text{crítico}}$ para ($P=0,05$). Nesse caso, a hipótese nula de que “*não há diferenças significativas entre os teores de metais obtidos para os diferentes procedimentos de tratamento preliminar*”, é rejeitada. Ou seja, para a amostra de batata, os teores de todos os metais quantificados foram significativamente afetados pela alteração do procedimento de tratamento preliminar, indicando que a trituração prévia da amostra ainda úmida, utilizada no procedimento B, influencia significativamente na determinação do teor de metais por ICP OES nesta amostra.

Na amostra de abóbora, embora quatro dos metais determinados tenham exibido comportamento similar ao observado para batata, as concentrações de dois metais, Ca e Zn, não sofreram influência dessa alteração. Nesses casos, as diferenças observadas podem ser decorrentes apenas de erros aleatórios.

As diferenças significativas verificadas para os teores de metais numa mesma amostra submetida a procedimentos distintos de tratamento preliminar podem estar relacionadas à compartimentalização (distribuição não uniforme entre os diferentes compartimentos, intra ou extracelular, componente estrutural, etc.) dos analitos na amostra e aos fenômenos que ocorrem durante a etapa de secagem.

De acordo com AGUILERA et al. (2011), o processo de secagem é afetado pela forma como a água se distribui na amostra, sendo que os principais mecanismos de perda de umidade são difusão, fluxo capilar e fluxo hidrodinâmico. O autor afirma também que, etapas de pré-secagem como,

branqueamento, compressão uniaxial, congelamento/descongelamento, impregnação a vácuo, osmose, podem induzir alterações estruturais, como separação de células e rompimento das paredes celulares, as quais influenciam na cinética de secagem e nos fenômenos de transporte de massa durante o processo.

Segundo PAWLAK e LEWICKI (2005), o branqueamento promove alterações químicas nos tecidos de batata, favorecendo a difusão de espécies solúveis, com consequentes perdas de magnésio, potássio, cálcio e fósforo. Alterações na cinética de secagem para amostras de abóbora submetidas a processos de pré-secagem também foram registradas por MURR e PINEDO (2006).

Normalmente, a secagem é caracterizada por um período inicial onde o principal mecanismo de transferência de massa é o fluxo capilar e períodos subsequentes onde prevalece o transporte de massa por difusão (AGUILERA et al., 2011). Diante do exposto, é possível sugerir que a trituração da amostra antes da secagem, promova o rompimento das paredes celulares, acarretando um aumento na perda de umidade por difusão, desde o início do processo de secagem. Isso pode favorecer a liberação de espécies solúveis originalmente presentes no meio intracelular, promovendo diferenças nas determinações elementares. No caso das amostras de batata, por exemplo, a maior parte do cálcio está presente nos grânulos de amido, no interior das células (PAWLAK e LEWICKI, 2005), e o rompimento das paredes celulares com consequente aumento da taxa de difusão, propiciará a liberação deste metal para a fase aquosa.

Os diferentes comportamentos apresentados por um mesmo analito em amostras diferentes, como observado para Ca e Zn nas amostras de abóbora e batata, devem estar relacionados à forma como estes estão presentes em cada uma das amostras, bem como as diferentes características destas. Retomando o exemplo do cálcio, que não sofreu influência da alteração no procedimento de tratamento preliminar na amostra de abóbora, mas foi afetado no caso da amostra de batata, pode-se imaginar que, a forma como ele está ligado a ambas é diferente. Pois, como mencionado anteriormente, na amostra de batata o cálcio predomina nos grânulos de amido, principal carboidrato dessa amostra. Na abóbora, essa ocorrência é pouco provável, pois o seu teor de carboidratos é de apenas 3,3 g/100g, menos de um quarto da concentração de carboidrato em batata (14,7g/100g), segundo TACO (2006). Adicionalmente, as modificações estruturais decorrentes do processamento das amostras, as quais foram apontadas aqui como possíveis causas para as diferenças obtidas nas determinações dos teores de metais, dependem de características como tamanho e formato das células e resistência da parede celular. Estas características geralmente variam de um vegetal pra outro como foi demonstrado por PAWLAK e LEWICKI (2005), ao comparar as modificações estruturais e variações na cinética de secagem em amostras de maçã e batata, submetidas a diferentes processamentos antes da secagem.

Esses resultados indicam que alterações no tratamento preliminar de amostra influenciam significativamente nos teores de metais determinados por ICP OES. É possível inferir também que, o efeito dessas alterações dependerá tanto da espécie a ser quantificada, quanto das características da amostra.

4.5. Avaliação da eficiência de diferentes procedimentos de extração na determinação das concentrações de metais em amostras de abóbora e batata

Procedimentos de extração têm sido amplamente utilizados como uma alternativa aos processos de decomposição da amostra. Entre estes, aqueles que exploram o emprego de irradiação ultrassônica têm ganhado especial atenção e muitos trabalhos têm demonstrado sua eficiência para o preparo de diversos tipos de amostras visando à determinação de metais, principalmente por espectrometria atômica.

A eficiência dos processos assistidos por ultrassons depende de uma série de variáveis, as quais devem ser devidamente estudadas e controladas para a obtenção de resultados confiáveis. Neste trabalho, foi investigada a influência das variáveis: concentração de HNO_3 na solução extratora (0,7; 1,4 e 2,1 mol L^{-1}), tempo de extração (10, 20 e 30 min) e da forma de agitação (ultrassom e agitação mecânica) sobre a avaliação dos teores de diferentes elementos em duas amostras distintas, abóbora e batata. São apresentados a seguir os resultados obtidos a partir dos diferentes procedimentos de extração adotados para amostras de abóbora (Tabelas 4.8 e 4.9) e batata (Tabelas 4.10 e 4.11).

Tabela 4.8. Concentração de metais em amostra de abóbora submetida a diferentes procedimentos de extração assistida por ultrassom (média \pm SD, n = 3).

AGITAÇÃO	ULTRASSOM								
	0,7			1,4			2,1		
	10	20	30	10	20	30	10	20	30
Ca^a	1,32 \pm 0,03	1,35 \pm 0,05	1,279 \pm 0,005	1,35 \pm 0,01	1,30 \pm 0,04	1,29 \pm 0,03	0,92 \pm 0,05	0,886 \pm 0,003	0,88 \pm 0,01
Cu^b	13 \pm 1	12 \pm 3	12 \pm 3	12 \pm 1	13 \pm 1	13,0 \pm 0,3	10 \pm 3	10 \pm 3	9 \pm 2
Fe^b	50 \pm 3	52 \pm 15	48 \pm 14	45 \pm 5	50 \pm 4	48 \pm 2	42 \pm 19	43 \pm 17	41 \pm 14
K^a	35,6 \pm 0,3	36 \pm 1	36 \pm 1	33,5 \pm 0,4	34 \pm 1	34,2 \pm 0,4	31 \pm 1	31 \pm 2	32 \pm 2
Mg^a	1,47 \pm 0,02	1,48 \pm 0,01	1,45 \pm 0,01	1,40 \pm 0,02	1,43 \pm 0,01	1,42 \pm 0,02	1,32 \pm 0,02	1,33 \pm 0,01	1,337 \pm 0,005
Mn^b	14,6 \pm 0,4	14,0 \pm 0,1	13,47 \pm 0,03	13,1 \pm 0,2	13,3 \pm 0,2	13,2 \pm 0,2	12,0 \pm 0,2	12,0 \pm 0,1	12,0 \pm 0,1
P^a	2,9 \pm 0,1	2,9 \pm 0,1	2,95 \pm 0,03	2,8 \pm 0,1	2,96 \pm 0,05	2,98 \pm 0,04	2,51 \pm 0,04	2,58 \pm 0,04	2,633 \pm 0,005
Zn^b	32 \pm 1	32 \pm 4	28 \pm 1	34,7 \pm 0,2	29 \pm 2	28 \pm 1	27 \pm 3	27 \pm 1	25 \pm 1

^a Concentrações em mg/g; ^b Concentrações em μ g/g.

Tabela 4.9. Concentração de metais em amostra de abóbora submetida a diferentes procedimentos de extração com agitação mecânica (média ± SD, n=3).

AGITAÇÃO	MECÂNICA								
	0,7			1,4			2,1		
	10	20	30	10	20	30	10	20	30
Ca^a	1,26 ± 0,02	1,249±0,005	1,26 ± 0,03	1,19 ± 0,04	1,22 ± 0,03	1,3 ± 0,2	1,0 ± 0,2	1,0 ± 0,1	1,0 ± 0,1
Cu^b	8 ± 2	8 ± 1	8 ± 1	8 ± 2	8 ± 2	9,6 ± 2	8 ± 2	8 ± 1	9 ± 2
Fe^b	35 ± 6	33 ± 3	34 ± 5	36 ± 12	36 ± 9	41 ± 9	36 ± 9	41 ± 9	37 ± 10
K^a	35 ± 1	36 ± 1	36,4 ± 0,3	34 ± 1	34 ± 1	35 ± 2	31,6 ± 0,4	32 ± 1	32 ± 1
Mg^a	1,43 ± 0,01	1,437±0,003	1,452±0,003	1,365±0,004	1,40 ± 0,02	1,5 ± 0,2	1,29 ± 0,01	1,30 ± 0,01	1,32 ± 0,02
Mn^b	13,0 ± 0,1	13,10 ± 0,04	13,18 ± 0,05	12,5 ± 0,1	12,8 ± 0,1	14 ± 2	11,7 ± 0,2	11,90 ± 0,05	12,0 ± 0,1
P^a	2,47 ± 0,03	2,51 ± 0,03	2,56 ± 0,03	2,46 ± 0,03	2,6 ± 0,1	2,9 ± 0,5	2,2 ± 0,1	2,28 ± 0,03	2,31 ± 0,05
Zn^b	29 ± 1	27 ± 1	27 ± 2	27 ± 2	29 ± 2	29 ± 4	26 ± 3	27 ± 2	27 ± 2

^a Concentrações em mg/g; ^b Concentrações em µg/g.

Tabela 4.10. Concentração de metais em amostra de batata submetida a diferentes procedimentos de extração assistida por ultrassom (média \pm SD, n = 3).

AGITAÇÃO	ULTRASSOM								
	0,7			1,4			2,1		
	10	20	30	10	20	30	10	20	30
Ca^b	201 \pm 5	300 \pm 59	329 \pm 18	208 \pm 30	234 \pm 33	230 \pm 10	209 \pm 55	144 \pm 3	169 \pm 11
Cu^b	9,1 \pm 0,1	7 \pm 1	6,8 \pm 0,5	10 \pm 1	7 \pm 1	8,3 \pm 0,5	8 \pm 2	7 \pm 3	8 \pm 2
Fe^b	42 \pm 4	36 \pm 2	37 \pm 2	48 \pm 2	43 \pm 2	44 \pm 1	50 \pm 14	40 \pm 17	41 \pm 14
K^a	18 \pm 1	16,4 \pm 0,4	17 \pm 1	15,8 \pm 0,5	15,55 \pm 0,02	16 \pm 1	14,8 \pm 0,2	14 \pm 2	15 \pm 2
Mg^a	1,2 \pm 0,1	1,10 \pm 0,02	1,13 \pm 0,02	1,072 \pm 0,003	1,07 \pm 0,01	1,090 \pm 0,004	1,02 \pm 0,02	0,98 \pm 0,01	1,028 \pm 0,005
Mn^b	6,5 \pm 1	5,7 \pm 0,1	5,8 \pm 0,1	5,5 \pm 0,2	5,5 \pm 0,1	5,54 \pm 0,05	7,4 \pm 0,3	6,8 \pm 0,1	6,6 \pm 0,1
P^a	2,1 \pm 0,1	1,94 \pm 0,03	2,2 \pm 0,1	2,2 \pm 0,1	2,3 \pm 0,05	2,32 \pm 0,05	2,08 \pm 0,05	2,02 \pm 0,01	2,12 \pm 0,05
Zn^b	26 \pm 1	23 \pm 1	22 \pm 1	18 \pm 2	18 \pm 1	23 \pm 1	21 \pm 4	16 \pm 1	18 \pm 1

^a Concentrações em mg/g; ^b Concentrações em μ g/g.

Tabela 4.11. Concentração de metais em amostra de batata submetida a diferentes procedimentos de extração com agitação mecânica (média \pm SD, n=3).

AGITAÇÃO	MECÂNICA								
	0,7			1,4			2,1		
	10	20	30	10	20	30	10	20	30
Ca^b	460 \pm 181	153 \pm 55	124 \pm 25	93 \pm 22	104 \pm 23	108 \pm 16	178 \pm 20	215 \pm 50	168 \pm 18
Cu^b	7 \pm 1	8 \pm 2	5 \pm 1	6 \pm 3	6 \pm 3	6 \pm 2	7 \pm 1	6,34 \pm 0,02	5 \pm 1
Fe^b	33 \pm 5	37 \pm 6	26 \pm 3	33 \pm 14	31 \pm 11	34 \pm 10	40 \pm 4	45 \pm 12	31 \pm 3
K^a	16,3 \pm 0,1	16,5 \pm 0,3	16,4 \pm 0,1	15,6 \pm 0,2	15,9 \pm 0,2	15,8 \pm 0,1	15,0 \pm 0,3	15,0 \pm 0,2	15,1 \pm 0,2
Mg^a	1,09 \pm 0,01	1,10 \pm 0,02	1,096 \pm 0,004	1,030 \pm 0,002	1,07 \pm 0,01	1,049 \pm 0,002	1,00 \pm 0,01	1,010 \pm 0,005	1,00 \pm 0,02
Mn^b	6,60 \pm 0,02	6,6 \pm 0,1	6,54 \pm 0,03	6,22 \pm 0,02	6,44 \pm 0,03	6,36 \pm 0,02	6,3 \pm 0,1	6,4 \pm 0,2	6,2 \pm 0,1
P^a	1,86 \pm 0,02	1,89 \pm 0,02	1,89 \pm 0,01	1,81 \pm 0,01	1,84 \pm 0,02	1,84 \pm 0,01	1,52 \pm 0,02	1,53 \pm 0,04	1,54 \pm 0,02
Zn^b	23 \pm 3	17 \pm 2	15 \pm 1	14 \pm 1	15 \pm 2	15 \pm 1	16 \pm 1	17 \pm 1	14,9 \pm 0,5

^a Concentrações em mg/g; ^b Concentrações em μ g/g.

A comparação dos resultados obtidos a partir dos diferentes procedimentos de extração foi realizada, inicialmente, a partir da análise de variância (ANOVA). Esta técnica estatística permite avaliar se as diferenças observadas entre as médias podem ser atribuídas somente a erros aleatórios ou não. As análises de variância das concentrações de Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, P e Zn, nas amostras de abóbora e batata, cujos valores são mostrados nas Tabelas 4.8 a 4.11, apresentaram resultados significativos para a maioria dos elementos, excetuando-se apenas Cu e Zn na amostra de abóbora e Cu e Fe na amostra de batata. Isto indica que, para os demais elementos, as diferentes condições de extração promoveram diferenças significativas entre os resultados obtidos.

Um resultado significativo numa ANOVA não quer dizer necessariamente que todas as médias sejam diferentes. Esse resultado pode se dar, por exemplo, pelo fato de uma média diferir das demais, ou das médias se agruparem em conjuntos distintos, ou pelo fato de todas elas serem diferentes entre si. Uma maneira simples de entender um resultado significativo é colocar as médias em ordem crescente e comparar a diferença entre valores adjacentes com a *mínima diferença significativa* (MILLER e MILLER, 2005). Deste modo, para avaliar a influência das variáveis estudadas sobre os resultados obtidos é preciso analisar como os dados se subdividem, formando grupos ou não e quais fatores induzem à formação desses subgrupos.

Para fazer esse tipo de avaliação, verificou-se também a existência de semelhanças nas distribuições dos diferentes elementos empregando Coeficiente de Correlação Linear de Pearson (r), a fim de obter informações mais generalizadas. Este parâmetro mensura a associação linear entre duas

variáveis, permitindo avaliar o nível de relação entre elas. O coeficiente de correlação linear de Pearson varia de -1 a 1, e o sinal indica se a relação estabelecida é positiva ou negativa. Quanto mais próximo da unidade, maior a correlação entre as variáveis, sendo que um coeficiente igual a 1 indica correlação perfeita e zero indica não haver correlação linear (LIRA, 2004).

Como valores extremos (0 ou 1) são raros na prática, alguns autores sugerem a interpretação da magnitude do coeficiente de correlação de acordo com intervalos preestabelecidos, os quais podem variar de autor pra autor. Segundo CALLEGARI-JACQUES (2003, apud LIRA 2004) para coeficiente de correlação nos intervalos [0,00; 0,30) existe fraca correlação linear; [0,30; 0,60) moderada correlação linear; [0,60; 0,90) forte correlação linear e [0,90 a 1,00) correlação linear muito forte.

As concentrações dos elementos possuem magnitudes muito diferentes, por isso, antes de calcular o coeficiente de correlação, os valores foram padronizados levando todos à mesma ordem de grandeza, possibilitando assim as devidas comparações. Para este fim, os dados foram normalizados a partir do z-escore, para posteriormente efetuar os cálculos de coeficiente de correlação linear de Pearson (r).

A partir desses cálculos foram obtidos os coeficientes de correlação linear de Pearson para os diferentes metais nas amostras de abóbora e batata, cujos resultados são apresentados nas Tabelas 4.12 e 4.13. De acordo com o critério descrito anteriormente, os coeficientes de correlação que indicam forte correlação linear [0,60; 0,90) aparecem sublinhados, enquanto os que demonstram uma correlação linear muito forte [0,90 a 1,00) foram negritados.

Tabela 4.12. Coeficientes de correlação linear (r) para os diferentes metais em amostra de abóbora.

r	Ca	Cu	Fe	K	Mg	Mn	P	Zn
Ca	1,00							
Cu	0,43	1,00						
Fe	0,30	0,94	1,00					
K	<u>0,88</u>	0,24	0,13	1,00				
Mg	<u>0,87</u>	0,40	0,32	0,91	1,00			
Mn	<u>0,87</u>	0,56	0,50	<u>0,86</u>	0,95	1,00		
P	<u>0,67</u>	<u>0,83</u>	<u>0,76</u>	0,53	<u>0,74</u>	<u>0,78</u>	1,00	
Zn	<u>0,68</u>	0,59	0,53	0,43	0,52	<u>0,66</u>	0,56	1,00

Tabela 4.13. Coeficientes de correlação linear (r) para os diferentes metais em amostra de batata.

r	Ca	Cu	Fe	K	Mg	Mn	P	Zn
Ca	1,00							
Cu	0,26	1,00						
Fe	0,15	<u>0,77</u>	1,00					
K	0,33	0,20	-0,27	1,00				
Mg	0,37	0,34	-0,12	0,97	1,00			
Mn	0,33	-0,13	-0,05	-0,33	-0,32	1,00		
P	0,22	0,58	0,40	0,31	0,47	-0,32	1,00	
Zn	<u>0,72</u>	<u>0,61</u>	0,38	0,56	<u>0,66</u>	-0,14	0,52	1,00

Observa-se que há um maior número de correlações fortes e muito fortes na amostra de abóbora quando comparada com batata. Isto indica que esses metais se comportam de maneira mais independente na amostra de batata que na abóbora. Entre os elementos muito fortemente correlacionados, somente K/Mg mantêm essa relação para ambas as amostras, o que sugere

que esta seja uma relação intrínseca para esses metais independente da amostra, pelo menos para os casos em estudo.

A correlação entre duas variáveis também pode ser expressa graficamente conforme ilustrado na Figura 4.5. Como pode ser visto na Figura 4.5.a, referente à distribuição de potássio e magnésio em amostra de batata, quando a concentração de K aumenta a de Mg também se eleva, de modo que, para valores de K maiores que a média, obtém-se valores de Mg também superiores à média. A única exceção é a condição (5) entre as dezoito estudadas, na qual o teor de Mg é levemente maior que a média enquanto o de K é um pouco menor. Isto demonstra a correlação positiva muito forte existente entre esses metais na amostra de batata, em acordo com o que foi previsto por meio do coeficiente de correlação de Pearson, cujo valor foi de 0,97. Esse tipo de relação permite prever o comportamento de uma variável a partir do conhecimento da outra.

Por outro lado, a distribuição de ferro e manganês na amostra de batata, apresentada na Figura 4.5.b, demonstra um comportamento oposto ao que foi evidenciado para K e Mg. Isto sugere que ferro e manganês, tomados como exemplos, se distribuem de maneira independente nessa amostra, não sendo possível fazer inferências sobre o comportamento de um a partir da resposta do outro. Essa fraca correlação linear condiz com o predito a partir do coeficiente de correlação de Pearson, o qual apresentou valor muito próximo de zero (-0,05).

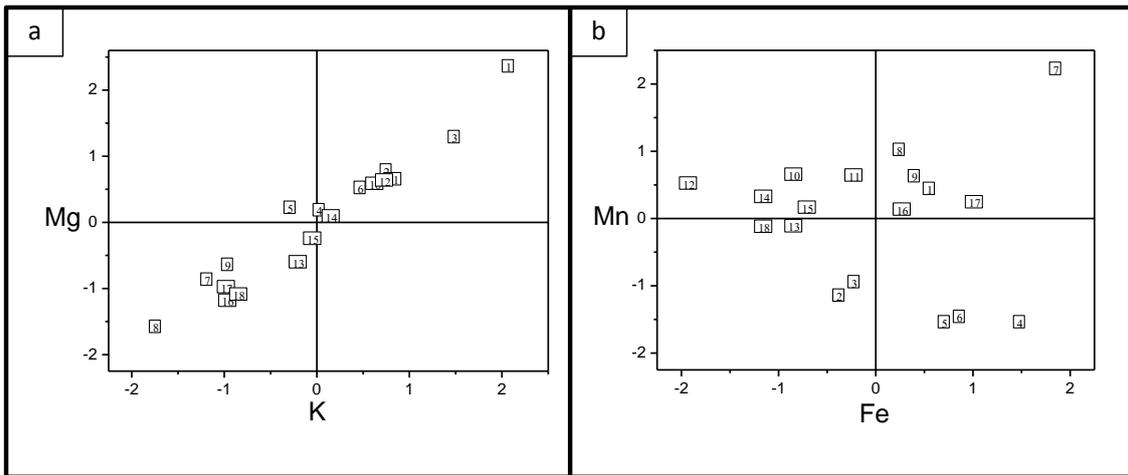


Figura 4.5. Correlação ente metais em amostra de batata a partir dos dados padronizados.

As concentrações médias de metais em amostras de abóbora e batata, obtidas a partir dos diferentes procedimentos de extração aqui relatados, foram comparadas com os teores destes mesmos metais nas amostras submetidas à digestão assistida por microondas. As comparações foram feitas mediante a realização do teste t e dos valores de recuperação, assumindo como valor verdadeiro aqueles obtidos através da decomposição das amostras. Os resultados obtidos para as amostras de abóbora e batata são apresentados nas Tabelas 4.14 e 4.15, respectivamente.

Tabela 4.14. Comparação dos teores de metais obtidos por diferentes procedimentos de extração e digestão em amostra de abóbora (média \pm SD, n=3).

Metal	Digestão MW	P1	Rec. (%)	H ₀ (x=x ₁)	P2	Rec. (%)	H ₀ (x=x ₂)	P3	Rec. (%)	H ₀ (x=x ₃)	P4	Rec. (%)	H ₀ (x=x ₄)
Ca ^a	1,26 \pm 0,05	1,32 \pm 0,03	104,5	V	1,35 \pm 0,05	107,6	F	1,279 \pm 0,005	101,7	V	1,35 \pm 0,01	107,5	F
Cu ^b	8,2 \pm 0,4	13 \pm 1	153,7	F	12 \pm 3	146,3	V	12 \pm 3	146,3	V	12 \pm 1	146,3	F
Fe ^b	39 \pm 3	50 \pm 3	128,2	F	52 \pm 15	133,3	V	48 \pm 14	123,1	V	45 \pm 5	115,4	F
K ^a	36 \pm 2	35,6 \pm 0,3	98,7	V	36 \pm 1	100,1	V	36 \pm 1	99,0	V	33,5 \pm 0,4	92,8	V
Mg ^a	1,4 \pm 0,1	1,47 \pm 0,02	102,4	V	1,48 \pm 0,01	102,6	V	1,45 \pm 0,01	100,7	V	1,40 \pm 0,02	97,1	V
Mn ^b	13,5 \pm 0,5	14,6 \pm 0,4	108,1	F	14,0 \pm 0,1	103,7	V	13,47 \pm 0,03	99,8	V	13,1 \pm 0,2	97,0	V
P ^a	3,3 \pm 0,1	2,9 \pm 0,1	86,4	F	2,9 \pm 0,1	86,9	F	2,95 \pm 0,03	88,7	F	2,8 \pm 0,1	85,0	F
Zn ^b	27 \pm 1	32 \pm 1	118,5	F	32 \pm 4	118,5	V	28 \pm 1	103,7	V	34,7 \pm 0,2	128,5	F

^a Concentrações em mg/g; ^b Concentrações em μ g/g.

Tabela 4.15. Comparação dos teores de metais obtidos por diferentes procedimentos de extração e digestão em amostra de batata (média \pm SD, n=3).

Metal	Digestão MW	P1	Rec. (%)	H ₀ (x=x ₁)	P2	Rec. (%)	H ₀ (x=x ₂)	P3	Rec. (%)	H ₀ (x=x ₃)	P4	Rec. (%)	H ₀ (x=x ₄)
Ca ^b	193 \pm 11	201 \pm 5	104,1	V	300 \pm 59	155,4	F	329 \pm 18	170,5	F	208 \pm 30	107,8	V
Cu ^b	2,2 \pm 0,2	9,1 \pm 0,1	413,6	F	7 \pm 1	336,4	F	6,8 \pm 0,5	309,1	F	10 \pm 1	450,0	F
Fe ^b	54 \pm 4	42 \pm 4	77,8	F	36 \pm 2	66,7	F	37 \pm 2	68,5	F	48 \pm 2	88,9	F
K ^a	13,8 \pm 0,4	18 \pm 1	127,1	F	16,4 \pm 0,4	119,0	F	17 \pm 1	123,5	F	15,8 \pm 0,5	114,6	F
Mg ^a	1,08 \pm 0,01	1,2 \pm 0,1	110,2	V	1,10 \pm 0,02	102,4	F	1,13 \pm 0,02	104,9	F	1,072 \pm 0,003	99,4	V
Mn ^b	4,2 \pm 0,1	6,5 \pm 1	154,8	F	5,7 \pm 0,1	135,7	F	5,8 \pm 0,1	138,1	F	5,5 \pm 0,2	131,0	F
P ^a	2,34 \pm 0,01	2,1 \pm 0,1	89,1	F	1,94 \pm 0,03	83,2	F	2,2 \pm 0,1	93,4	F	2,2 \pm 0,1	92,5	V
Zn ^b	14,4 \pm 0,3	26 \pm 1	180,6	F	23 \pm 1	161,1	F	22 \pm 1	152,8	F	18 \pm 2	125,0	F

^a Concentrações em mg/g; ^b Concentrações em μ g/g.

Tabela 4.14. Comparação dos teores de metais obtidos por diferentes procedimentos de extração e digestão em amostra de abóbora (média \pm SD, n=3).

P5	Rec. (%)	H ₀ (x=x ₅)	P6	Rec. (%)	H ₀ (x=x ₆)	P7	Rec. (%)	H ₀ (x=x ₇)	P8	Rec. (%)	H ₀ (x=x ₈)	P9	Rec. (%)	H ₀ (x=x ₉)
1,30 \pm 0,04	103,0	V	1,29 \pm 0,03	102,4	V	0,92 \pm 0,05	72,9	F	0,886 \pm 0,003	70,4	F	0,88 \pm 0,01	69,6	F
13 \pm 1	158,5	F	13,0 \pm 0,3	158,5	F	10 \pm 3	122,0	V	10 \pm 3	118,3	V	9 \pm 2	109,8	V
50 \pm 4	128,2	F	48 \pm 2	123,1	F	42 \pm 19	107,7	V	43 \pm 17	110,3	V	41 \pm 14	105,1	V
34 \pm 1	94,1	V	34,2 \pm 0,4	94,9	V	31 \pm 1	86,6	F	31 \pm 2	84,8	F	32 \pm 2	87,3	F
1,43 \pm 0,01	99,7	V	1,42 \pm 0,02	98,5	V	1,32 \pm 0,02	92,0	F	1,33 \pm 0,01	92,5	V	1,337 \pm 0,005	93,0	V
13,3 \pm 0,2	98,5	V	13,2 \pm 0,2	97,8	V	12,0 \pm 0,2	88,9	F	12,0 \pm 0,1	88,8	F	12,0 \pm 0,1	88,9	F
2,96 \pm 0,05	89,0	F	2,98 \pm 0,04	89,6	F	2,51 \pm 0,04	75,6	F	2,58 \pm 0,04	77,5	F	2,633 \pm 0,005	79,2	F
29 \pm 2	107,4	V	28 \pm 1	103,7	V	27 \pm 3	101,5	V	27 \pm 1	99,6	V	25 \pm 1	92,6	F

^a Concentrações em mg/g; ^b Concentrações em μ g/g.

Tabela 4.15. Comparação dos teores de metais obtidos por diferentes procedimentos de extração e digestão em amostra de batata (média \pm SD, n=3).

P5	Rec. (%)	H ₀ (x=x ₅)	P6	Rec. (%)	H ₀ (x=x ₆)	P7	Rec. (%)	H ₀ (x=x ₇)	P8	Rec. (%)	H ₀ (x=x ₈)	P9	Rec. (%)	H ₀ (x=x ₉)
234 \pm 33	121,2	F	230 \pm 10	119,2	F	209 \pm 55	108,3	V	144 \pm 3	74,6	F	169 \pm 11	87,6	F
7 \pm 1	318,2	F	8,3 \pm 0,5	377,3	F	8 \pm 2	381,8	F	7 \pm 3	322,7	F	8 \pm 2	340,9	F
43 \pm 2	79,6	F	44 \pm 1	81,5	F	50 \pm 14	93,3	V	40 \pm 17	74,1	V	41 \pm 14	75,9	V
15,55 \pm 0,02	112,6	F	16 \pm 1	117,3	F	14,8 \pm 0,2	107,2	F	14 \pm 2	103,8	V	15 \pm 2	108,5	V
1,07 \pm 0,01	99,6	V	1,090 \pm 0,004	101,1	F	1,02 \pm 0,02	94,2	F	0,98 \pm 0,01	90,7	F	1,028 \pm 0,005	95,4	F
5,5 \pm 0,1	131,0	F	5,54 \pm 0,05	131,9	F	7,4 \pm 0,3	176,2	F	6,8 \pm 0,1	161,7	F	6,6 \pm 0,1	157,0	F
2,3 \pm 0,05	97,2	F	2,32 \pm 0,05	99,4	V	2,08 \pm 0,05	89,0	F	2,02 \pm 0,01	86,3	F	2,12 \pm 0,05	91,0	F
18 \pm 1	125,0	F	23 \pm 1	159,7	F	21 \pm 4	145,8	V	16 \pm 1	112,5	V	18 \pm 1	125,0	F

^a Concentrações em mg/g; ^b Concentrações em μ g/g.

Tabela 4.14. Comparação dos teores de metais obtidos por diferentes procedimentos de extração e digestão em amostra de abóbora (média \pm SD, n=3).

P10	Rec. (%)	H ₀ (x=x ₁₀)	P11	Rec. (%)	H ₀ (x=x ₁₁)	P12	Rec. (%)	H ₀ (x=x ₁₂)	P13	Rec. (%)	H ₀ (x=x ₁₃)
1,26 \pm 0,02	99,8	V	1,249 \pm 0,005	99,3	V	1,26 \pm 0,03	100,3	V	1,19 \pm 004	94,9	F
8 \pm 2	95,1	V	8 \pm 1	97,6	V	8 \pm 1	97,6	V	8 \pm 2	97,6	V
35 \pm 6	89,7	V	33 \pm 3	84,6	F	34 \pm 5	87,2	V	36 \pm 12	92,3	V
35 \pm 1	96,8	V	36 \pm 1	98,9	V	36,4 \pm 0,3	101,1	V	34 \pm 1	93,0	F
1,43 \pm 0,01	99,5	V	1,437 \pm 0,003	99,9	V	1,452 \pm 0,003	101,0	V	1,365 \pm 0,004	94,9	F
13,0 \pm 0,1	96,3	V	13,10 \pm 0,04	97,0	V	13,18 \pm 0,05	97,6	V	12,5 \pm 0,1	92,6	F
2,47 \pm 0,03	74,3	F	2,51 \pm 0,03	75,5	F	2,56 \pm 0,03	77,2	F	2,46 \pm 0,03	74,1	F
29 \pm 1	107,4	F	27 \pm 1	100,0	V	27 \pm 2	100,0	V	27 \pm 2	100,0	V

^a Concentrações em mg/g; ^b Concentrações em μ g/g.

Tabela 4.15. Comparação dos teores de metais obtidos por diferentes procedimentos de extração e digestão em amostra de batata (média \pm SD, n=3).

P10	Rec. (%)	H ₀ (x=x ₁₀)	P11	Rec. (%)	H ₀ (x=x ₁₁)	P12	Rec. (%)	H ₀ (x=x ₁₂)	P13	Rec. (%)	H ₀ (x=x ₁₃)
460 \pm 181	238,3	V	153 \pm 55	79,3	V	124 \pm 25	64,2	F	93 \pm 22	48,2	F
7 \pm 1	318,2	F	8 \pm 2	363,6	F	5 \pm 1	227,3	F	6 \pm 3	272,7	V
33 \pm 5	61,1	F	37 \pm 6	68,5	F	26 \pm 3	48,1	F	33 \pm 14	61,1	F
16,3 \pm 0,1	118,2	F	16,5 \pm 0,3	119,4	F	16,4 \pm 0,1	118,9	F	15,6 \pm 0,2	113,2	F
1,09 \pm 0,01	101,4	F	1,10 \pm 0,02	101,8	F	1,096 \pm 0,004	101,7	F	1,030 \pm 0,002	95,5	F
6,60 \pm 0,02	157,3	F	6,6 \pm 0,1	157,1	F	6,54 \pm 0,03	155,7	F	6,22 \pm 0,02	148,1	F
1,86 \pm 0,02	79,6	F	1,89 \pm 0,02	80,8	F	1,89 \pm 0,01	81,0	F	1,81 \pm 0,01	77,4	F
23 \pm 3	159,7	F	17 \pm 2	118,1	V	15 \pm 1	104,2	V	14 \pm 1	97,2	V

^a Concentrações em mg/g; ^b Concentrações em μ g/g.

Tabela 4.14. Comparação dos teores de metais obtidos por diferentes procedimentos de extração e digestão em amostra de abóbora (média ± SD, n=3).

P14	Rec. (%)	H ₀ (x=x ₁₄)	P15	Rec. (%)	H ₀ (x=x ₁₅)	P16	Rec. (%)	H ₀ (x=x ₁₆)	P17	Rec. (%)	H ₀ (x=x ₈)	P18	Rec. (%)	H ₀ (x=x ₉)
1,22 ± 0,03	97,2	V	1,3 ± 0,2	106,4	V	1,0 ± 0,2	81,0	V	1,0 ± 0,1	76,6	F	1,0 ± 0,1	76,2	F
8 ± 2	100,0	V	9,6 ± 2	117,1	V	8 ± 2	96,3	V	8 ± 1	102,4	V	9 ± 2	109,8	V
36 ± 9	92,3	V	41 ± 9	105,1	V	36 ± 9	92,3	V	41 ± 9	105,1	V	37 ± 10	94,9	V
34 ± 1	94,7	V	35 ± 2	97,4	V	31,6 ± 0,4	87,6	F	32 ± 1	87,5	F	32 ± 1	89,2	F
1,40 ± 0,02	97,0	V	1,5 ± 0,2	105,4	V	1,29 ± 0,01	89,8	F	1,30 ± 0,01	90,5	F	1,32 ± 0,02	91,5	F
12,8 ± 0,1	94,8	F	14 ± 2	103,7	V	11,7 ± 0,2	86,3	F	11,90 ± 0,05	88,2	F	12,0 ± 0,1	88,9	F
2,6 ± 0,1	79,2	F	2,9 ± 0,5	87,4	V	2,2 ± 0,1	67,5	F	2,28 ± 0,03	68,7	F	2,31 ± 0,05	69,4	F
29 ± 2	107,4	V	29 ± 4	107,4	V	26 ± 3	96,3	V	27 ± 2	100,0	V	27 ± 2	100,0	V

^aConcentrações em mg/g; ^bConcentrações em µg/g.

Tabela 4.15. Comparação dos teores de metais obtidos por diferentes procedimentos de extração e digestão em amostra de batata (média ± SD, n=3).

P14	Rec. (%)	H ₀ (x=x ₁₄)	P15	Rec. (%)	H ₀ (x=x ₁₅)	P16	Rec. (%)	H ₀ (x=x ₁₆)	P17	Rec. (%)	H ₀ (x=x ₈)	P18	Rec. (%)	H ₀ (x=x ₉)
104 ± 23	53,9	F	108 ± 16	56,0	F	178 ± 20	92,2	V	215 ± 50	111,4	V	168 ± 18	87,0	V
6 ± 3	272,7	V	6 ± 2	272,7	F	7 ± 1	318,2	F	6,34 ± 0,02	288,2	F	5 ± 1	227,3	F
31 ± 11	57,4	F	34 ± 10	62,8	F	40 ± 4	74,4	F	45 ± 12	83,3	V	31 ± 3	57,4	F
15,9 ± 0,2	115,4	F	15,8 ± 0,1	114,1	F	15,0 ± 0,3	108,5	F	15,0 ± 0,2	108,4	F	15,1 ± 0,2	109,3	F
1,07 ± 0,01	99,0	V	1,049±0,002	97,3	F	1,00 ± 0,01	92,7	F	1,010±0,005	93,7	F	1,00 ± 0,02	93,1	F
6,44 ± 0,03	153,3	F	6,36 ± 0,02	151,4	F	6,3 ± 0,1	151,1	F	6,4 ± 0,2	152,4	F	6,2 ± 0,1	148,0	F
1,84 ± 0,02	79,0	F	1,84 ± 0,01	78,7	F	1,52 ± 0,02	65,1	F	1,53 ± 0,04	65,4	F	1,54 ± 0,02	66,1	F
15 ± 2	104,2	V	15 ± 1	104,2	V	16 ± 1	111,1	F	17 ± 1	118,1	F	14,9 ± 0,5	103,5	V

^aConcentrações em mg/g; ^bConcentrações em µg/g.

Como discutido anteriormente, as análises de variância demonstraram que os diferentes procedimentos de extração levaram a diferenças significativas na determinação dos teores dos diferentes elementos nas amostras. Essas variações nas concentrações destes elementos indicam que as variáveis estudadas influenciam significativamente na quantificação dos mesmos. A comparação das médias de cada procedimento mediante a realização do teste t ($P = 0,05$) e das recuperações percentuais, admitindo o valor obtido a partir da digestão como verdadeiro, permite avaliar quais destes procedimentos fornecem resultados que não diferem significativamente do valor “real”.

A forte correlação linear existente entre alguns elementos, evidenciada nas Tabelas 4.12 e 4.13 permite inferir que os elementos fortemente correlacionados respondem de maneira similar às alterações no procedimento de preparo, possibilitando avaliações mais gerais. Por exemplo, para os elementos Ca, K, Mg e Mn, que apresentam altos coeficientes de correlação linear na amostra de abóbora, conforme ilustrado na Tabela 4.12, foi possível perceber que a médias desses quatro metais, obtidas pelos procedimentos (P3, P5, P6, P11, P12 e P15) não são significativamente diferentes quando comparadas, a partir do teste t ($P = 0,05$), com os resultados da digestão assistida por microondas, apresentando recuperações que variaram de 94 a 106%.

Entre esses procedimentos, P3, P5 e P6 foram realizados empregando sonda ultrassônica, enquanto P11 a P12 e P15 utilizando agitador mecânico de hélice. Isso demonstra que a forma de agitação (ultrassom ou agitação mecânica) não é um fator determinante para eficiência de extração destes metais, pois procedimentos semelhantes, que diferem pela forma de agitação conduziram a

resultados similares. Outra observação importante é que quatro desses seis procedimentos (P3, P6, P12 e P15) foram efetuados com os maiores tempos de extração (30 min), os outros dois (P5 e P11) com o segundo maior tempo (20 min) e nenhum deles com o menor tempo (10 min). Isso leva a crer que o tempo de contato entre amostra e solução extratora é uma variável que influencia significativamente as extrações destes metais.

A concentração de HNO_3 na solução extratora também apresentou efeito significativo sobre o processo de extração desses elementos em abóbora, pois à medida que esta aumenta, a eficiência das extrações tende a diminuir, sendo que para os experimentos (P7 a P9 e P16 a P18), os quais empregaram soluções mais concentradas ($2,1 \text{ mol L}^{-1}$), essa redução foi ainda mais pronunciada, como é possível observar na Figura 4.6, para os elementos Ca e Mg em amostra de abóbora. Esse comportamento também foi observado na amostra de batata para os mesmos elementos, permitindo inferir que esse efeito deve estar relacionado às características destes elementos e não das matrizes das amostras em estudo.

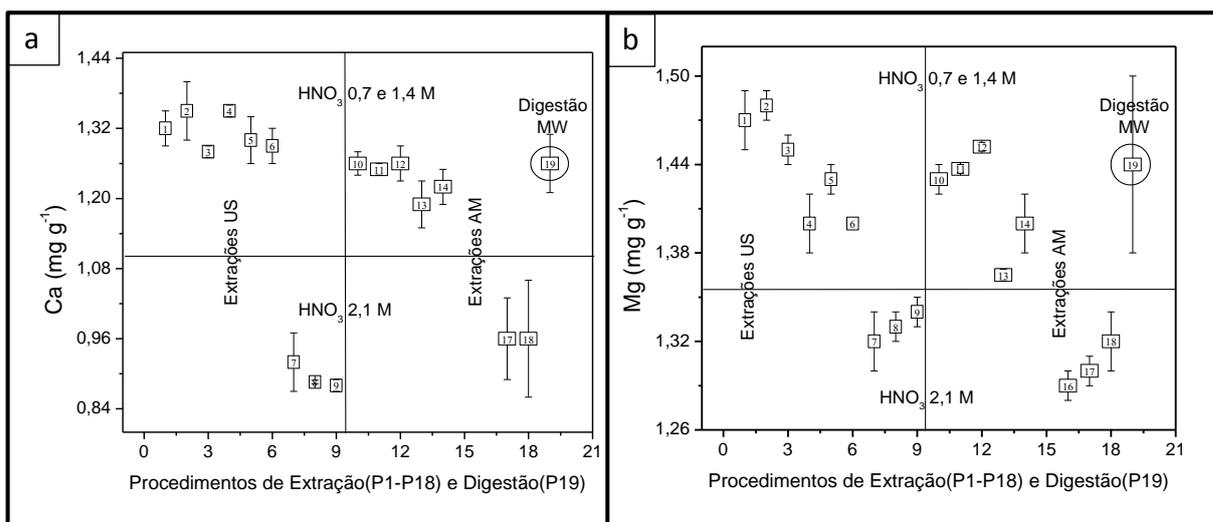
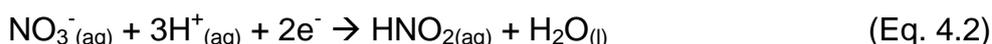
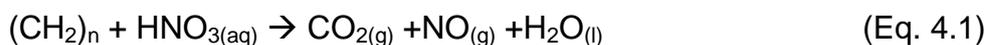


Figura 4.6. Concentrações de Ca e Mg em amostra de abóbora submetida a diferentes procedimentos de extração e à digestão. (US: ultrassom; AM: agitação mecânica; MW: microondas).

A diminuição da eficiência de extração de Ca e Mg em função do aumento da concentração de ácido nítrico, principalmente quando foi utilizada solução 2,1 mol L⁻¹ desse ácido, pode estar relacionada ao fato do mesmo possuir caráter oxidante em soluções com concentrações maiores que 2 mol L⁻¹. Caso HNO₃ esteja oxidando a matéria orgânica presente no meio, um dos produtos dessa reação é dióxido de carbono (Eq. 4.1), que pode reagir com esses metais produzindo carbonatos ou óxidos de cálcio e magnésio na forma de sólidos amorfos na superfície do material residual. A formação dessas espécies é favorecida pela elevação pontual do pH decorrente da redução do íon nitrato (Eq. 4.2), que ocorre com alto consumo de H⁺. Ao invés de se dissolver na solução na forma de íons, estas espécies podem formar uma película protetora na superfície evitando ataque subsequente do ácido, tornando-a passivada, de modo similar ao que ocorre com os sólidos metálicos (KRUG, 2008).



Foi possível notar também, uma forte correlação linear entre Cu, Fe e P, e uma correlação linear moderada com Zn na amostra de abóbora, cujos coeficientes de correlação são mostrados na Tabela 4.12. Embora P esteja bem correlacionado com estes metais, para efeito de considerações gerais serão discutidos inicialmente apenas os resultados obtidos para Cu, Fe e Zn, os quais apresentam forte correlação também na amostra de batata. Para P que só foi satisfatoriamente

extraído em uma das dezoito condições experimentais, e será feita uma avaliação a parte.

Embora as análises de variância de Cu e Zn na amostra de abóbora e Cu e Fe na amostra de batata tenham demonstrado não haver diferença significativa nas concentrações destes metais para os diferentes procedimentos de extração, pode-se notar que os teores dos mesmos não são tão similares assim (Cu em abóbora de $7,8 \pm 1,5$ a $13 \pm 1 \mu\text{g g}^{-1}$ e em batata 5 ± 1 a $10 \pm 1 \mu\text{g g}^{-1}$); (Fe em batata de 26 ± 3 a $50 \pm 14 \mu\text{g g}^{-1}$) e (Zn em abóbora de 25 ± 1 a $34,7 \pm 0,2 \mu\text{g g}^{-1}$). O fato de terem passado pela ANOVA pode ser decorrente dos altos desvios apresentados para as concentrações destes elementos, como mostram as Tabelas 4.8 a 4.11. Como a análise de variância permite predizer se as diferenças entre as médias podem ou não serem atribuídas a erros aleatórios, quanto maiores os desvios, maiores serão as diferenças que podem ser explicadas pelos erros indeterminados, devido à imprecisão das medidas.

Extrações de Cu, Fe e Zn quantitativamente comparáveis aos valores resultantes da digestão, quando comparados pela realização do teste t, foram obtidas para doze dos dezoito procedimentos de extração adotados na amostra de abóbora (P2, P3, P7, P8, P10 e P12 a P18). Contudo, em alguns casos, mesmo tendo passado pelo teste t, as recuperações percentuais destes elementos distam muito de 100%, que seria o ideal. Essa aparente contradição entre as comparações feitas mediante o teste estatístico ou pelos valores de recuperação, pode advir, novamente, do alto desvio padrão das medidas desses elementos.

Tomando como exemplo a extração de Cu em amostra de abóbora, usando solução de ácido nítrico $0,7 \text{ mol L}^{-1}$ e tempo de sonicação de 20 min (P2), a Tabela

4.14 mostra que a recuperação foi de 146,3%, um valor elevado, mas que de acordo com o teste t ($P = 0,05$) não difere significativamente do teor encontrado na digestão. O desvio padrão relativo (RSD) dessa medida ($12 \pm 3 \mu\text{g g}^{-1}$) foi de 25%. Como os testes de significância avaliam se a diferença entre as médias podem ou não serem atribuídas a erros aleatórios, a ocorrência de altos erros indeterminados, permite que grandes diferenças entre as médias sejam atribuídas a esses erros, levando a conclusão equivocada que os resultados são iguais.

Percebeu-se também que, no caso das extrações assistidas por ultrassom, principalmente com soluções mais diluídas de HNO_3 , as concentrações de Cu, Fe e Zn tendem a ser geralmente superiores ao valor obtido a partir da digestão da amostra e das extrações empregando agitação mecânica, como ilustrado na Figura 4.7, para o caso do Cu na abóbora.

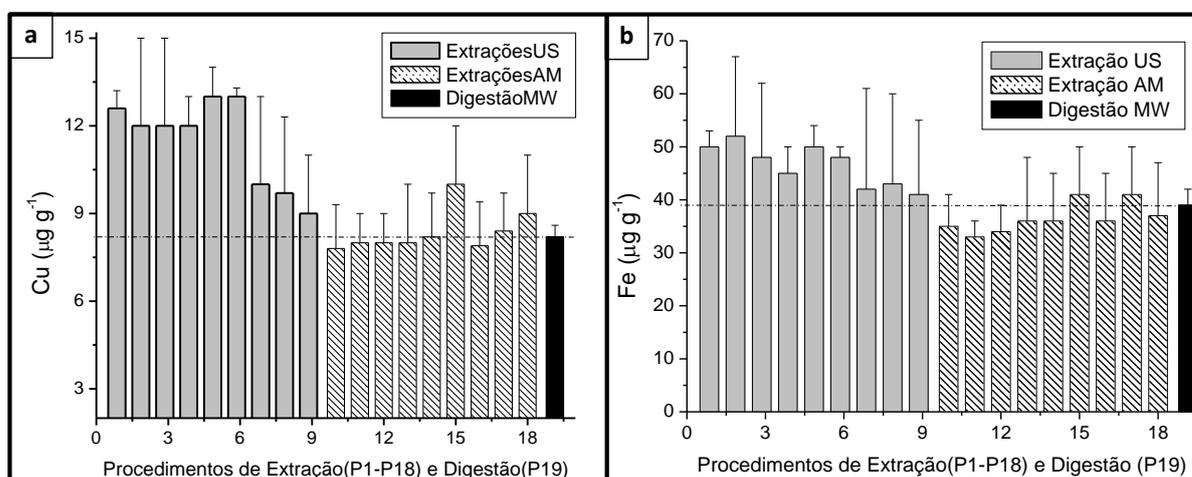


Figura 4.7. Concentrações de Cu (a) e Fe (b) em amostra de abóbora submetida a diferentes procedimentos de extração e à digestão. (US: ultrassom; AM: agitação mecânica; MW: microondas).

Esta observação indica que esses elementos podem estar sendo inseridos no meio, oriundos de alguma fonte externa e não da amostra, conduzindo a teores mais elevados dos mesmos nestes procedimentos. Esse erro positivo deveria ser percebido e corrigido pela realização dos ensaios em branco. Contudo, mesmo com a execução destes, para todas as condições experimentais, essa ocorrência não foi detectada.

Como os brancos analíticos devem ser realizados sem a amostra, a ausência de sólidos durante o processo pode ter ocultado a observação dos efeitos que conduziram a esse comportamento anômalo. Como mencionado anteriormente, a presença de sólidos no sistema irradiado resulta no colapso assimétrico das bolhas de cavitação, produzindo microjatos de alta velocidade, provocando erosão e ruptura dessas partículas (BENDICHO et al., 2009; SANTOS JÚNIOR et al., 2006). Deste modo, partículas sólidas impulsionadas por esses microjatos podem colidir entre si e com a superfície de componentes do sistema. Esses choques podem resultar: i) na redução do tamanho de partículas, o que pode ser benéfico para o processo de extração; ii) na erosão das superfícies atingidas e disponibilização de componentes destes materiais para o meio irradiado, podendo constituir-se como uma fonte de contaminação.

Para verificar se os altos teores desses metais, obtidos nas extrações assistidas por ultrassom, podem estar relacionados à erosão da superfície dos componentes do sistema, a amostra de batata foi submetida ao procedimento P5 (agitação ultrassônica por 20 min com solução de HNO_3 1,4 mol L^{-1}) em quatro frascos distintos. Sendo três béqueres de vidro borossilicato novos de marcas diferentes e um frasco de PFA. Os resultados obtidos são mostrados na Tabela 4.16,

juntamente com os resultados do mesmo experimento e da digestão apresentados na Tabela 4.15.

Tabela 4.16. Concentração de metais em amostra de batata submetida à extração assistida por ultrassom com HNO_3 $1,4 \text{ mol L}^{-1}$ por 20 min em diferentes frascos (média \pm SD, n = 3).

Metal	Digestão MW	Extrações empregando diferentes frascos				
		A	B	C	D	E
Ca^b	193 \pm 11	234 \pm 33	163 \pm 74	343 \pm 227	367 \pm 153	228 \pm 39
Cu^b	2,2 \pm 0,2	7 \pm 1	7,17 \pm 0,01	8 \pm 1	4 \pm 1	4 \pm 1
Fe^b	54 \pm 4	43 \pm 2	49 \pm 1	49,4 \pm 0,3	38 \pm 3	37,9 \pm 0,4
K^a	13,8 \pm 0,4	15,55 \pm 0,03	13,7 \pm 0,1	13,7 \pm 0,1	13,8 \pm 0,2	14 \pm 0,2
Mg^a	1,08 \pm 0,01	1,07 \pm 0,01	1,07 \pm 0,01	1,065 \pm 0,003	1,07 \pm 0,01	1,087 \pm 0,002
Mn^b	4,2 \pm 0,1	5,5 \pm 0,1	2 \pm 1	1,0 \pm 0,2	0,5 \pm 0,1	0,6 \pm 0,1
P^a	2,34 \pm 0,01	2,27 \pm 0,05	2,23 \pm 0,03	2,20 \pm 0,04	2,29 \pm 0,04	2,33 \pm 0,05
Zn^b	14,4 \pm 0,3	18 \pm 1	14 \pm 2	17 \pm 2	17 \pm 3	14 \pm 1

^a Concentrações em mg/g; ^b Concentrações em $\mu\text{g/g}$. A: Béquer usado; B, C, D: Béqueres novos de marcas diferentes; E: Frascos de PFA.

Além destes experimentos, outro ensaio foi realizado na tentativa de verificar a possibilidade de contaminação por metais provenientes dos frascos de reação. Para tal, um béquer de borossilicato foi lavado, descontaminado, triturado e peneirado. Da fração menor que $100 \mu\text{m}$, foi tomada 1 g, a qual foi submetida à extração assistida por ultrassom por 10 min com 100 mL HNO_3 de concentração $0,7 \text{ mol L}^{-1}$. As massas de alguns metais quantificados na solução resultante são apresentadas Tabela 4.17.

Tabela 4.17. Teor de metais determinado a partir da extração assistida por ultrassom usando vidro triturado no lugar da amostra (media \pm SD, n = 3).

	Cu	Fe	K	Na	Zn
Massa / μg	4 \pm 2	27 \pm 10	115 \pm 27	1118 \pm 138	5 \pm 4

Os resultados mostrados nas Tabelas 4.16 mostram que as concentrações de metais, determinadas a partir das extrações assistidas por ultrassom, variam significativamente de acordo com o tipo de frasco empregado na realização dos experimentos. Na extração assistida por ultrassom usando vidro triturado no lugar da amostra, não se pode garantir se os metais determinados (Tabela 4.17) são provenientes do béquer que contem a solução ou do vidro contido nesta. Contudo, é uma evidência clara da presença de impurezas nesses materiais como mostrado na Tabela 1.1, adaptada de KRUG (2008).

Foi possível notar também que, quando as extrações foram realizadas em frascos de PFA, os teores médios desses elementos se tornam mais próximos daqueles determinados a partir da digestão, como pode ser observado na Figura 4.8 para o caso do Zn em amostra de batata. Essas evidências explicam também o alto desvio registrado nas medidas desses metais, uma vez que a quantidade de metal retirada dos recipientes não é controlável, podendo variar a cada experimento realizado.

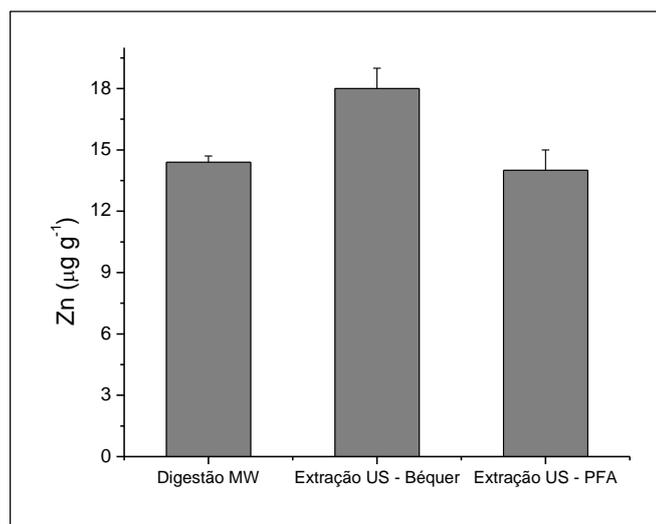
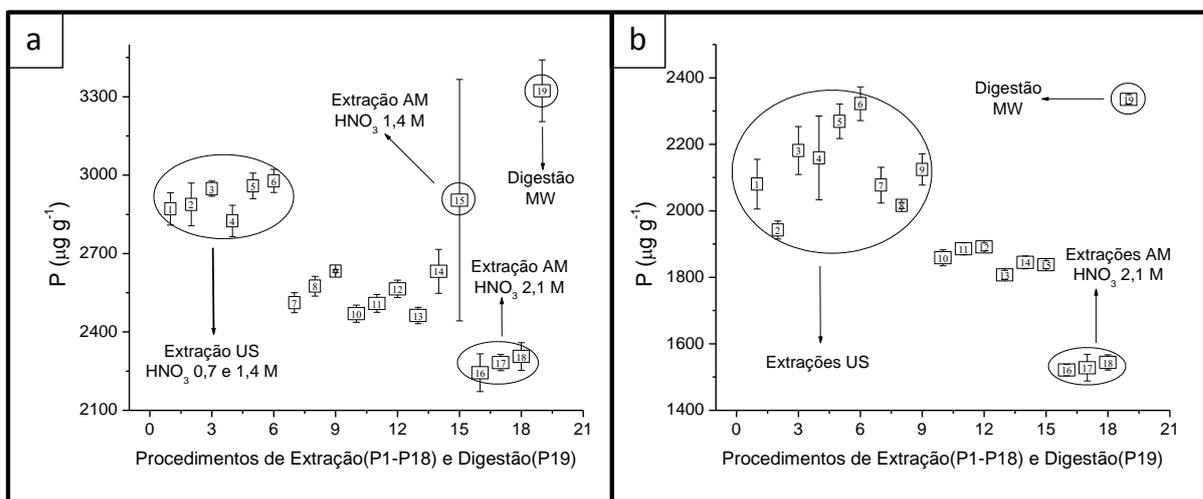


Figura 4.8. Concentração de Zn em amostra e batata submetida à digestão e à extração assistida por ultrassom em diferentes frascos.

Os dados de extração de P mostraram que a combinação da irradiação ultrassônica com soluções diluídas de ácido nítrico (0,7 e 1,4 mol L⁻¹) leva a maiores percentuais de recuperação (85 a 89,6% para abóbora; 83,2 a 99,4% para batata), quando comparado com procedimentos empregando agitação mecânica e mesma concentração ácida (74 a 87% em abóbora; 77 a 81% em batata) ou mesmo as extrações assistidas por ultrassom com solução de HNO₃ 2,1 mol L⁻¹ (76 a 79% em abóbora e 65 a 66% em batata).

A comparação desses resultados, pelo teste t para 95% de confiança, mostra que apenas P15 na amostra de abóbora e P4 e P6 na amostra de batata, não são significativamente diferentes dos valores obtidos na digestão. Entre todos os procedimentos de extração, em se tratando da quantificação de fósforo em abóbora, o único que passou pelo teste t foi o procedimento P15, mesmo apresentando recuperação menor que alguns dos procedimentos assistidos por ultrassom (87,4%), provavelmente em função do alto desvio padrão apresentado neste experimento, o qual é destacado na Figura 4.9.a. Esse dado corrobora com

discutido anteriormente, em relação à influência dos desvios das medidas sobre a avaliação dos resultados.



Excetuando-se o resultado obtido no procedimento P15 em amostra de abóbora, a utilização da agitação mecânica promove extrações de P perceptivelmente menores para ambas as amostras, principalmente quando esta é associada com a solução de HNO_3 mais concentrada ($2,1 \text{ mol L}^{-1}$), como pode ser visto na Figura 4.9. A maior eficiência de extração de P nos procedimentos empregando ultrassom pode ser decorrente da redução do tamanho das partículas que compõem a amostra (WIBETOE et al., 1999), resultante dos microjatos gerados no sistema irradiado, e consequentes colisões destas entre si e com as paredes do recipiente, podendo provocar a alteração da estrutura da mesma.

De acordo com CASTRO (2009), o P faz parte da composição da estrutura de compostos vitais das células vegetais como fosfato-açúcares, intermediários da respiração e fotossíntese, constituindo também nucleotídeos e ácidos nucleicos, o que indica que esse elemento está fortemente ligado à estrutura destes, dificultando

assim a sua extração. A exposição da amostra à irradiação ultrassônica pode levar ao rompimento das células vegetais, como descrito por HOFF, 1969, para amostra de batata. Isso favorece a liberação do P, aumentando a eficiência de extração deste elemento.

Com o intuito de verificar a redução do tamanho das partículas durante o processo de extração com ultrassom, cerca de 1 g de amostra com partículas entre 200 e 500 μm foi sonicada por 10 min com solução de HNO_3 0,7 mol L^{-1} , e posteriormente filtrada em malha de nylon de 200 μm , para determinar o percentual em massa de amostra que teve suas partículas reduzidas a um diâmetro inferior a 200 μm . Esse procedimento também foi realizado usando vidro triturado no lugar da amostra, e substituindo o béquer por um frasco de PFA, sendo os resultados apresentados na Tabela 4.18.

Tabela 4.18. Percentual de fragmentação em massa das amostras e do vidro expostos à irradiação ultrassônica em diferentes recipientes.

Recipiente	Fragmentação (%)		
	Abóbora	Batata	Vidro
Béquer	66 \pm 5	72 \pm 1	5 \pm 3
Frasco de PFA	81 \pm 3	92 \pm 1	-

Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 4.18, e permitem concluir que há uma diminuição significativa do tamanho das partículas que compõem as amostras. Esse rompimento de partículas favorece os processos de extração, uma vez que provoca um aumento da superfície de contato do material com a solução extratora, justificando assim a maior eficiência nas extrações de P nesses casos. É possível perceber também que o percentual de fragmentação varia de acordo com o

tipo de material que constitui tanto a amostra, quanto o frasco de reação, e dependerá, entre outras coisas, da quantidade e intensidade das colisões das partículas com as paredes do recipiente, bem como do tipo de choque, se perfeitamente elástico, parcialmente elástico ou inelástico.

Foi possível notar que há uma maior redução do tamanho de partículas na amostra de batata que na abóbora, indicando que a batata é mais suscetível à quebra, fato este que já havia sido evidenciado nos experimentos iniciais de alteração do tratamento preliminar. Esta observação explica o fato das extrações assistidas por ultrassom para P na amostra de batata levar a maiores percentuais de recuperação que na amostra de abóbora.

5. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos nos diversos ensaios que compuseram esse estudo demonstraram a magnitude e a diversidade dos efeitos que podem ser produzidos por alterações na ordem ou na forma de execução de uma operação, mesmo que esta seja executada antes da análise propriamente dita.

A avaliação de dois procedimentos distintos de tratamento preliminar, o primeiro caracterizado pela secagem da amostra para posterior trituração, e o segundo pela trituração da amostra antes da secagem, mostrou que na amostra de batata as concentrações de Ca, K, Mg, Mn, P e Zn foram significativamente diferentes para 95% de confiança.

Entretanto, na amostra de abóbora, embora os teores de K, Mg, Mn, P tenham sido significativamente diferentes para ambos os procedimentos, as concentrações de Ca e Zn não apresentaram diferenças significativas. Estes resultados evidenciaram que a alteração da ordem de execução das etapas de tratamento preliminar pode resultar em diferenças significativas no teor de alguns analitos. Contudo, essas diferenças dependem tanto do elemento a ser determinado, quanto das características da amostra analisada.

Os resultados obtidos a partir dos diferentes procedimentos de extração indicaram que a elevação da concentração de ácido nítrico, leva a uma diminuição da eficiência de extração de Ca, K, Mg e Mn, em ambas as amostras, independente da forma e do tempo de agitação, sendo esta perda mais pronunciada quando a concentração ácida foi igual a $2,1 \text{ mol L}^{-1}$.

Os resultados das extrações assistidas por ultrassom, em diferentes frascos, evidenciaram que alguns elementos como Ca, Cu, K, Mn, e Zn podem estar

presentes nos materiais que constituem os recipientes levando à contaminação da amostra, devido à erosão da superfície dos mesmos durante a sonicação. Este fato foi verificado, considerando que as concentrações de Cu, Fe e Zn em amostras de abóbora, e de Ca, Cu, K, Mn e Zn na amostra de batata, apresentaram-se significativamente maiores que os teores determinados a partir da digestão da amostra. Somado a isso, concentrações relativamente altas de Cu, Fe, K, Na e Zn foram encontradas quando extrações assistidas por ultrassom foram realizadas usando vidro triturado no lugar da amostra, corroborando com a hipótese levantada acima.

As taxas de recuperação de P foram maiores para as extrações realizadas com irradiação ultrassônica e soluções de ácido nítrico mais diluído ($0,7$ e $1,4 \text{ mol L}^{-1}$), quando comparadas com a agitação mecânica. Essa maior eficiência está relacionada à fragmentação das partículas que compõem a amostra, com consequente alteração da estrutura do material e aumento da superfície de contato, favorecendo a extração deste elemento. As extrações de P foram mais eficientes na amostra de batata que na abóbora, provavelmente, devido à maior redução de tamanho de partículas que ocorre com a batata.

A variabilidade e intensidade dos efeitos, observados nesse trabalho, indicam a necessidade de estudos complementares, a fim de reunir mais informações que permitam entender melhor as influências decorrentes de modificações nas etapas de tratamento preliminar e de preparo de amostras sobre os resultados analíticos. Além disso, evidenciam a dificuldade de se estabelecer um protocolo analítico para determinações multielementares aplicável a vários tipos de amostras.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUILERA, J. M. et al. Microstructure analysis on pre-treated apple slices and its effect on water release during air drying. *Journal of Food Engineering*, 106, 253-261, 2011.

ARRUDA, M. A. Z. e SANTELLI, R. E. Mecanização no preparo de amostras por microondas: o estado da arte. *Quím. Nova*, 20, 1997.

ARRUDA, M. A. Z. et al. A fast ultrasound-assisted extraction of Ca, Mg, Mn and Zn from vegetables, *Microchemical Journal*, 69, 638-643, 2001.

BACCAN, N. et al. *Química Analítica Quantitativa Elementar*, 2 ed. Revisada e ampliada, Campinas: Edgard Blücher LTDA., 1979.

BENDICHO, C. et al. Analytical evaluation of a cup-horn sonoreactor used for ultrasound-assisted extraction of trace metals from troublesome matrices. *Spectrochimica Acta Part B*, 64, 874-883, 2009.

BENDICHO, C. et al. Comparison of ultrasound-assisted extraction and microwave-assisted digestion for determination of magnesium, manganese and zinc in plant samples by flame atomic absorption spectrometry. *Talanta*, 53, 433-441, 2000.

BENDICHO, C. et al. Fast determination of arsenic, selenium, nickel and vanadium in fish and shellfish by electrothermal atomic absorption spectrometry following ultrasound-assisted extraction, *Food Chemistry*, 106, 403-409, 2008.

BENDICHO, C. Ultrasound-assisted extraction of gold and silver from environmental samples using different extractants followed by electrothermal-atomic absorption spectrometry. *Microchemical Journal*, 97, 93-100, 2011.

BUGALLO, R. A. Comparison of slurry sampling and microwave-assisted digestion for calcium, magnesium, iron, copper and zinc determination in fish tissue samples by flame atomic absorption spectrometry. *Talanta*, 72, 60-65, 2007.

CALLEGARI-JACQUES, S. M. Bioestatística: princípios e aplicações. 2003. In: LIRA, S. A. Análise de correlação: abordagem teórica e de construção dos coeficientes com aplicações, Dissertação de Mestrado, UFPA, Curitiba, 2004.

CAPELO, J. L. et al. Discussion of parameters associated with the ultrasonic solid-liquid extraction for elemental analysis (total content) by electrothermal atomic absorption spectrometry. An overview. *Ultrasonics Sonochemistry*, 12, 225-232, 2005.

CASTRO, G. Y. Eficiência de absorção e utilização de fósforo em batata cultivada in vitro, Dissertação de Mestrado, UFSM, Santa Maria, 2009.

CECCHI, H. M. *Fundamentos Teórico e Práticos em Análise de Alimentos*, 2 ed. Revisada, Campinas: Editora UNICAMP, 2003.

HAGE, D. S. e CARR, J. D. *Química Analítica e Análise Quantitativa*, 1 ed. Pearson, São Paulo, 2012.

HARRIS, D. C. *Análise Química Quantitativa*, 6 ed., Rio de Janeiro: LTC, 2005.

HASSAN, N. M. et al. Analysis of Environmental Samples Using Microwave-Assisted Acid Digestion and Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry: Maximizing Total Element Recoveries. *Water Air Soil Pollut*, 178, 323-334, 2007.

HOENIG, M. Preparation steps in environmental trace element analysis: facts and traps – Review. *Talanta*, 54, 1021-1038, 2001.

HOFF, J. E. e CASTRO, M. D. Chemical Composition of Potato Cell Wall. *J. Agr. Food. Chem*, 17, 1328-1331, 1969.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ, *Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos*, 4 ed. São Paulo, 2004.

KALLUF, V. H. Desidratação da polpa de abóbora (*Cucurbita moschata*) e seus teores em beta-caroteno, Dissertação de Mestrado, UFPA, Curitiba, 2006.

KAZI, T. G. et al. Speciation of heavy metals in sediment by conventional, ultrasound and microwave assisted single extraction methods: A comparison with modified sequential extraction procedure. *Journal of Hazardous Materials*, 154, 998-1006, 2008.

KING, J. W. and CURREN, M. S. S. Sampling and sample preparation for food analysis, *Comprehensive Analytical Chemistry XXXVII*, 2002.

KORN, M. G. A. et al. A critical evaluation of digestion procedures for coffee samples using diluted nitric acid in closed vessels for inductively coupled plasma optical emission spectrometry. *Talanta*, 78, 1378-1382, 2009.

KREJCOVÁ, A. et al. The cryogenic grinding as the important homogenization step in analysis of inconsistent food samples, *Food Chemistry*, 109, 848 - 854, 2008.

KRUG, F. J. *Métodos de preparo de amostras. Fundamentos sobre o preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar*. 1 ed. Piracicaba: CENA/USP, 2008.

LIRA, S. A. Análise de correlação: abordagem teórica e de construção dos coeficientes com aplicações, Dissertação de Mestrado, UFPA, Curitiba, 2004.

MARKET, B. Sample preparation (cleaning, drying, homogenization) for trace element analysis in plant matrices, *The Science of the Total Environment*, 176, 45-61, 1995.

MIERZWA, J. et al. Ultrasound Accelerated Solid-Liquid Extraction for the Determination of Selenium in Biological Samples by Electrothermal Atomization Atomic Absorption Spectrometry, *Analytical Sciences*, 13, 189-193, 1997.

MILLER, J. N. and MILLER, J. C. *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*, 5 ed. England: Pearson Education Limited, 2005.

MURR, F. E. X. and PINEDO, A. A. Kinetics of vacuum drying of pumpkin (*Cucurbita maxima*): Modeling with shrinkage. *Journal of Food Engineering*, 76, 562-567, 2006.

NOGUEIRA, A. R. A. et al. Effect of acid concentration on closed-vessel microwave-assisted digestion of plant materials. *Spectrochimica Acta Part B*, 57, 2002.

NOGUEIRA, A. R. A. et al. Microwave-assisted digestion procedures for biological samples with diluted nitric acid: Identification of reaction products. *Talanta*, 79, 396-401, 2009.

OLIVEIRA, E. Sample Preparation for Atomic Spectroscopy: Evolution and Future Trends. *J. Braz. Chem. Soc.*, 14, 2003.

PADILHA, P. M. et al. FAAS determination of metal nutrients in fish feed after ultrasound extraction. *Food Chemistry*, 113, 679-683, 2009.

PAWLAK, G. and LEWICKI, P. P. Effect of Mode of Drying on Microstructure of Potato. *Drying Technology*, 23, 847-869, 2005.

PEREIRA, S. et al. Comparative study between probe focussed sonication and conventional stirring in the evaluation of cadmium and copper in plants. *Anal. Bioanal. Chem.*, 398, 2315-2324, 2010.

QUADROS, D. A. et al. Composição química de tubérculos de batata para processamento, cultivados sob diferentes doses e fontes de potássio. *Ciênc. Tecnol. Aliment. Campinas*, 29, 316-323, 2009.

ROJE, V. Fast Method of Multi-Elemental Analysis of Stream Sediment Samples by Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry (ICP-MS) with prior Single-Step Microwave-Assisted Digestion. *J. Braz. Chem. Soc.*, 22, 532-539, 2011.

SANTOS JÚNIOR, D. et al. Currents on Ultrasound-Assisted Extraction for Sample Preparation and Spectroscopic Analytes Determination. *Applied Spectroscopy Reviews*, 41, 305-321, 2006.

SASTRE, J. et al. Determination of Cd, Cu, Pb and Zn in environmental samples: microwave-assisted total digestion versus aqua regia and nitric acid extraction. *Analytica Chimica Acta*, 462, 59-72, 2002.

SHOGAOLU, O. T. and FALADE, K. O. Effect of pretreatments on air-drying pattern and color of dried pumpkin (*Cucurbita maxima*) slices. *Journal of Food Process Engineering*, 33, 1129-1147, 2010.

SKOOG, D. A. et al. *Fundamentos de Química Analítica*, 8 ed., São Paulo: Thomson, 2006.

SNEDDON, J. et al. Sample Preparation of Solid Samples for Metal Determination by Atomic Spectroscopy – An Overview and Selected Recent Applications. *Applied Spectroscopy Reviews*, 41, 1-14, 2006.

TACO - Tabela brasileira de composição de alimentos / NEPA - UNICAMP. Versão II, 2 ed. Campinas, SP: NEPA-UNICAMP, 2006.

TADEO, J. L. et al. Application of ultrasound-assisted extraction to the determination of contaminants in food and soil samples. *Journal of Chromatography A*, 1217, 2415-2440, 2010.

TORRES, D. P. et al. Simple mercury fractionation in biological samples by CV AAS following microwave-assisted acid digestion or TMAH pre-treatment. *Microchemical Journal*, 93, 206-210, 2009.

WIBETOE, G. et al. Coulter particle analysis used for studying the effect of sample treatment in slurry sampling electrothermal atomic absorption spectrometry. *Fresenius J. Anal. Chem.*, 363, 46-54, 1999.