



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

**GEOVANI CARDOSO BRANDÃO**

**ESTRATÉGIAS ALTERNATIVAS DE PREPARO DE  
AMOSTRAS PARA A DETERMINAÇÃO DE METAIS EM  
ALIMENTOS POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO  
ATÔMICA EM CHAMA**

Salvador  
2010

**GEOVANI CARDOSO BRANDÃO**

**ESTRATÉGIAS ALTERNATIVAS DE PREPARO DE  
AMOSTRAS PARA A DETERMINAÇÃO DE METAIS EM  
ALIMENTOS POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO  
ATÔMICA EM CHAMA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal da Bahia como parte dos requisitos para a obtenção do grau de mestre em ciências. Área de concentração: Química Analítica

**Orientador: Prof. Dr. Sérgio Luis Costa Ferreira**

Salvador

2010

Sistema de Bibliotecas – IQ/UFBA

Brandão, Geovani Cardoso

Estratégias alternativas de preparo de amostras para a determinação de metais em alimentos por espectrometria de absorção atômica em chama / Geovani Cardoso Brandão. - 2011.  
95 f. : il.

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Luis Costa Ferreira.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal da Bahia, Instituto de Química, Salvador, 2010.

1. Vinho vinificação - Análise. 2. Vinho e vinificação - Metais. 3. Iogurte - Análise. 4. Iogurte – Metais. 5. Análise espectral. I. Ferreira, Sérgio Luis Costa. II. Universidade Federal da Bahia. Instituto de Química. IV. Título.

CDD – 543

CDU – 543.62:612.39

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter colocado pessoas maravilhosas no meu caminho durante esta jornada.

Aos meus pais, Washington e Vicencia, por toda a dedicação e educação que me deram.

A todos os meus familiares.

Ao Prof. Sérgio Luis da Costa Ferreira pela confiança, amizade, paciência e por todos os ensinamentos e valorosa orientação.

Ao Prof. Walter Nei Lopes dos Santos pela amizade e fundamental contribuição no trabalho da foto-oxidação UV.

Aos amigos Erik e Raildo pela valiosa ajuda no trabalho da amostragem de suspensão.

Ao meu amigo Tiago pelos ótimos momentos de descontração e fundamental ajuda na operação do HR-CS FAAS.

Aos meus amigos Gabriel e Darlan pela amizade, companheirismo e ótimos momentos de descontração.

Aos Profs. Anderson Santos Sousa e Fábio Alan Carqueja Amorim pela amizade e ensinamentos durante a iniciação científica.

Aos companheiros de grupo (GRPQQ): Geraldo, Lindomar, Samuel, Cléber, João, Robson, Daniel, Valdinei, Pedro, Daniela, Laiana, Fernanda, Mariana, Giovani, Profa. Neyla e Profa. Ana.

Aos ex-companheiros de grupo: Elecy, Domingos, Sarah, Hadla, Marcos, Fábio, Marcelo, Ana Carolina, Márcio, Vitor e Ed.

À Profa. Maria das Graças Korn pela amizade e valiosos ensinamentos.

Às companheiras do grupo GPQA: Daniele, Elaine e Andréa.

Ao CNPq pela bolsa concedida durante o curso de mestrado.

Aos funcionários do Programa de Pós-Graduação, Cristóvão e Paulo.

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

Muito Obrigado!

## RESUMO

No presente trabalho, foram desenvolvidos métodos analíticos baseados em estratégias alternativas de preparo de amostras para a determinação de metais em alimentos por técnicas de espectrometria de absorção atômica com chama. No primeiro método, a amostragem de suspensão foi usada para o preparo de amostras de iogurte para a determinação de zinco por HR-CS FAAS. As condições experimentais estabelecidas para o preparo das suspensões foram: solução de HCl  $2,0 \text{ mol L}^{-1}$ , tempo de sonicação de 20 min e uma massa de amostra de 1,0 g. Nestas condições, os limites de detecção e quantificação obtidos foram de 0,10 e  $0,32 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$ , respectivamente. A precisão expressa como desvio padrão relativo (RSD) foi de 0,82 e 2,08% para amostras contendo concentrações de zinco de 4,85 e  $2,49 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$ , respectivamente. A exatidão do método foi confirmada pela análise de material de referência certificado (CRM) de leite em pó desnatado NIST SRM 1549. O método proposto foi aplicado para determinação de zinco em sete amostras de iogurte. O teor de zinco variou de 2,19 a  $4,85 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$ . No segundo método, a foto-oxidação com radiação UV e  $\text{H}_2\text{O}_2$  foi usada para o preparo de amostras de vinho para a determinação de ferro e manganês por FS-FAAS. As condições experimentais estabelecidas para a degradação das amostras de vinho foram: volume de 2,5 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$  30% (v/v), pH 10,0, concentração do tampão de  $0,14 \text{ mol L}^{-1}$  e um tempo de irradiação de 30 min. Nestas condições, foram obtidos limites de detecção e quantificação de 0,030 e  $0,099 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$  para ferro, e de 0,022 e  $0,073 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$  para manganês, respectivamente. A precisão expressa como RSD foi de 2,8 e 0,65% para ferro, e de 2,7 e 0,54% para manganês para concentrações de 0,5 e  $2,0 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ , respectivamente. Teste de adição e recuperação usado para avaliar a exatidão do método foi na faixa de 90 a 111% para ferro e na faixa de 95 a 107% para manganês. O método proposto foi aplicado para a determinação de ferro e manganês em seis amostras de vinho tinto. As concentrações obtidas variaram na faixa de 1,58 a  $4,45 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$  para ferro e na faixa de 1,30 a  $1,91 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$  para manganês.

Palavras-chave: preparo de amostras, amostragem de suspensão, foto-oxidação, FS-FAAS, HR-CS FAAS, determinação de metais, iogurte e vinho.

## ABSTRACT

In this work, analytical methods were developed based on alternative strategies for sample preparation for determination of metals in foods by techniques of flame atomic absorption spectrometry. In the first method, the slurry sampling was used to prepare samples of yoghurt for the determination of zinc by HR-CS FAAS. The experimental conditions established for the preparation of the suspensions were: 2.0 mol L<sup>-1</sup> hydrochloric acid, sonication time of 20 min and a sample mass of 1.0 g. In these conditions, the limits of detection and quantification obtained were of 0.10 and 0.32 µg g<sup>-1</sup>, respectively. The precision expressed as relative standard deviation (RSD) was of 0.82 and 2.08% for yogurt samples containing zinc concentrations of 4.85 and 2.49 µg g<sup>-1</sup>, respectively. The accuracy of the method was confirmed by the analysis of a certified reference material of non-fat milk powder NIST SRM 1549. The proposed method was applied for the determination of zinc in seven yogurt samples. The zinc content was varied from 2.19 to 4.85 µg g<sup>-1</sup>. In the second method, the photo-oxidation with UV radiation and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> was used as an alternative procedure for preparation of samples for the determination of iron and manganese in wine by FS-FAAS. The experimental conditions established for the degradation of the wine samples were: addition of a volume of 2.5 mL of 30% (v/v) hydrogen peroxide, pH 10.0, buffer concentration of 0.14 mol L<sup>-1</sup> and an irradiation time of 30 min for a sample volume of 5.0 mL. In these conditions, the limits of detection and quantification obtained were of 0.030 and 0.099 µg mL<sup>-1</sup> for iron and of 0.022 and 0.073 µg mL<sup>-1</sup> for manganese, respectively. The precision expressed as RSD was of 2.8 and 0.65% for iron and of 2.7 e 0.54% for manganese for concentrations of 0.5 e 2.0 µg mL<sup>-1</sup>, respectively. Addition and recovery test for evaluation of the accuracy of the method was in the range of 90 to 111% for iron and in the range of 95 to 107% for manganese. The proposed method was applied for the determination of iron and manganese in six red wine samples. The concentrations obtained varied in the range of 1.58 to 2.77 µg mL<sup>-1</sup> for iron and in the range of 1.30 to 1.91 µg mL<sup>-1</sup> for manganese.

Keywords: sample preparation, slurry sampling, photo-oxidation, FS-FAAS, HR-CS FAAS, metals determination, yoghurt and wine.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Fluxograma da seqüência de etapas envolvida num típico processo analítico.....	<b>13</b>
<b>Figura 2.</b> Banho ultrassônico.....	<b>20</b>
<b>Figura 3.</b> Digestor UV comercialmente disponível pela Metrohm: (a) digestor UV modelo 705 e (b) suporte com os tubos para as amostras. ....	<b>36</b>
<b>Figura 4.</b> Diagrama esquemático da configuração óptica de um equipamento de FS-FAAS (Adaptado de: DA SILVA, 2006). ....	<b>47</b>
<b>Figura 5.</b> Representação esquemática de um HR-CS AAS. (1) lâmpada de arco curto de xenônio; (2) lâmpada de neônio; (3) espelhos elipsoidais; (4) atomizador; (5) fenda de entrada do monocromador; (6) espelhos parabólicos; (7) prisma em arranjo Littrow; (8) espelhos de deflexão e fenda intermediária; (9) rede echelle; (10) detector CCD (Fonte: WELZ, 2005). ....	<b>49</b>
<b>Figura 6.</b> Espectrômetro de absorção atômica com chama de fonte contínua e alta resolução (HR-CS FAAS).....	<b>53</b>
<b>Figura 7.</b> Correção da interferência espectral causada por bandas de absorção molecular de NO por algoritmo dos mínimos quadrados. Espectros bidimensionais (1): (a) sem correção e (b) após correção. Espectros tridimensionais (2): (a) sem correção e (b) após correção. ....	<b>56</b>
<b>Figura 8.</b> Estudo do tipo e concentração do ácido.....	<b>57</b>
<b>Figura 9.</b> Efeito do tempo de sonicação no sinal analítico.....	<b>58</b>
<b>Figura 10.</b> Relação entre a massa da amostra e o sinal analítico. ....	<b>59</b>
<b>Figura 11.</b> Foto-digestor UV utilizado para a fotodegradação das amostras de vinho. ....	<b>64</b>
<b>Figura 12.</b> Espectrômetro de absorção atômica com chama sequencial (FS-FAAS). ....	<b>65</b>
<b>Figura 13.</b> Espectro obtido de uma solução de vinho tinto diluído com água ultrapura (1:1).....	<b>68</b>
<b>Figura 14.</b> Efeito do volume de peróxido de hidrogênio na degradação do vinho. ....	<b>69</b>
<b>Figura 15.</b> Efeito do pH na degradação do vinho. ....	<b>70</b>
<b>Figura 16.</b> Efeito da concentração de tampão na degradação do vinho.....	<b>71</b>
<b>Figura 17.</b> Efeito do tempo de irradiação na degradação do vinho. ....	<b>71</b>

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> <i>Condições operacionais do HR-CS FAAS.</i> .....	<b>54</b>
<b>Tabela 2.</b> <i>Variáveis estudadas e seus respectivos intervalos.</i> .....	<b>57</b>
<b>Tabela 3.</b> <i>Equações de regressão linear das curvas analíticas.</i> .....	<b>60</b>
<b>Tabela 4.</b> <i>Determinação de zinco usando amostragem de suspensão e digestão ácida.</i> .....	<b>62</b>
<b>Tabela 5.</b> <i>Valores de extração obtidos para Zn em amostras de iogurte.</i> .....	<b>63</b>
<b>Tabela 6.</b> <i>Parâmetros operacionais do FAAS.</i> .....	<b>65</b>
<b>Tabela 7.</b> <i>Variáveis estudadas e seus respectivos intervalos.</i> .....	<b>69</b>
<b>Tabela 8.</b> <i>Valores de recuperação obtidos para ferro e manganês aplicando o método proposto.</i> .....	<b>73</b>
<b>Tabela 9.</b> <i>Determinação de ferro e manganês em amostras de vinho (n = 3).</i> .....	<b>74</b>



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>AAS</b>	Espectrometria de absorção atômica ( <i>atomic absorption spectrometry</i> )
<b>CCD</b>	Dispositivo de carga acoplada ( <i>charge coupled device</i> )
<b>CRM</b>	Material de referência certificado ( <i>certified reference material</i> )
<b>CV-AFS</b>	Espectrometria de fluorescência atômica com vapor frio ( <i>cold vapor atomic fluorescence spectrometry</i> )
<b>DEMON</b>	Monocromador duplo <i>echelle</i> ( <i>Double echelle monochromator</i> )
<b>DPASV</b>	Voltametria de redissolução anódica de pulso diferencial ( <i>differential pulse anodic stripping voltammetry</i> )
<b>DPCSV</b>	Voltametria de redissolução catódica de pulso diferencial ( <i>differential pulse cathodic stripping voltammetry</i> )
<b>ET AAS</b>	Espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica ( <i>electrothermal atomic absorption spectrometry</i> )
<b>FAAS</b>	Espectrometria de absorção atômica com chama ( <i>flame atomic absorption spectrometry</i> )
<b>HR-CS AAS</b>	Espectrometria de absorção atômica com chama de fonte contínua e alta resolução ( <i>high-resolution continuum source atomic absorption spectrometry</i> )
<b>ICP MS</b>	Espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado ( <i>inductively coupled plasma mass spectrometry</i> )
<b>IUPAC</b>	União Internacional de Química Pura e Aplicada ( <i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i> )
<b>LD</b>	Limite de detecção ( <i>limit of detection</i> )
<b>LQ</b>	Limite de quantificação ( <i>limit of quantification</i> )
<b>LS AAS</b>	Espectrometria de absorção atômica com fonte de linha ( <i>line source atomic absorption spectrometry</i> )
<b>NAA</b>	Análise de ativação de nêutrons ( <i>neutron activation analysis</i> )
<b>OES</b>	Espectrometria de emissão óptica ( <i>optical emission spectrometry</i> )
<b>RSD</b>	Desvio padrão relativo ( <i>relative standard deviation</i> )
<b>VG</b>	Geração química de vapor ( <i>chemical vapor generation</i> )

## SUMÁRIO

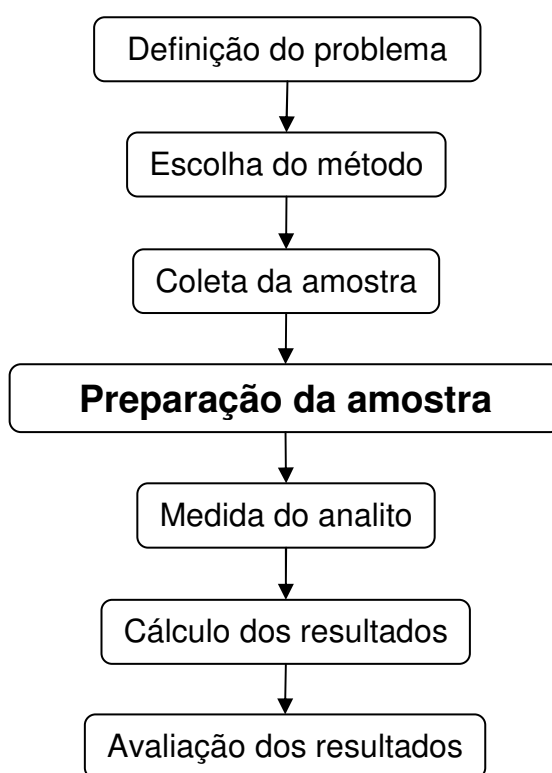
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>13</b>
<b>CAPÍTULO 1 - AMOSTRAGEM DE SUSPENSÃO</b> .....	<b>15</b>
<b>2.1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>15</b>
<b>2.2 PRINCIPAIS FATORES NO PREPARO DAS SUSPENSÕES</b> .....	<b>16</b>
2.2.1 Meio líquido/diluente .....	16
2.2.2 Tamanho da partícula .....	17
2.2.3 Concentração da suspensão.....	17
2.2.4 Partição do analito .....	18
2.2.5 Homogeneização/Estabilização da suspensão .....	18
<b>2.3 TÉCNICAS DE CALIBRAÇÃO</b> .....	<b>21</b>
<b>2.4 APLICAÇÃO DA AMOSTRAGEM DE SUSPENSÃO NA ANÁLISE DE ALIMENTOS</b> .....	<b>22</b>
<b>CAPÍTULO 2 - FOTO-OXIDAÇÃO UV</b> .....	<b>25</b>
<b>3.1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>25</b>
<b>3.2 MECANISMOS DA FOTO-OXIDAÇÃO UV</b> .....	<b>26</b>
3.2.1 Espécies oxidantes formadas sob a influência da radiação UV e agentes oxidantes empregados.....	26
<b>3.3 FONTES DE RADIAÇÃO UV</b> .....	<b>31</b>
3.3.1 Lâmpadas de baixa pressão .....	32
3.3.2 Lâmpadas de média e alta pressão .....	33
3.3.3 Outras abordagens .....	33
<b>3.4 DIGESTORES UV</b> .....	<b>34</b>
3.4.1 Equipamentos em batelada.....	35
3.4.2 Equipamentos em fluxo.....	36
<b>3.5 APLICAÇÃO DA FOTO-OXIDAÇÃO UV NA ANÁLISE DE ALIMENTOS</b> .....	<b>37</b>
<b>CAPÍTULO 3 - A IMPORTÂNCIA DA DETERMINAÇÃO DE METAIS EM ALIMENTOS</b> .....	<b>40</b>
<b>4.1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>40</b>
<b>4.2 O IOGURTE</b> .....	<b>40</b>
4.2.1 Generalidades.....	40
4.2.2 A importância da determinação de metais em iogurte .....	41

<b>4.3 O VINHO.....</b>	<b>42</b>
4.3.1 Generalidades.....	42
4.3.2 A importância da determinação de metais em vinho.....	44
<b>CAPÍTULO 4 - A ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA EM CHAMA</b>	<b>46</b>
<b>5.1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>46</b>
<b>5.2 ABSORÇÃO ATÔMICA EM CHAMA SEQUÊNCIAL .....</b>	<b>47</b>
<b>5.3 ABSORÇÃO ATÔMICA EM CHAMA DE FONTE CONTÍNUA E ALTA</b>	
<b>RESOLUÇÃO .....</b>	<b>49</b>
<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>52</b>
<b>OBJETIVO GERAL .....</b>	<b>52</b>
<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....</b>	<b>52</b>
<b>CAPÍTULO 5 - USO DA AMOSTRAGEM DE SUSPENSÃO PARA</b>	
<b>DETERMINAÇÃO DE ZINCO EM IOGURTE POR HR-CS FAAS.....</b>	<b>53</b>
<b>6.1 PARTE EXPERIMENTAL.....</b>	<b>53</b>
6.1.1 Instrumentação .....	53
6.1.2 Amostras, reagentes e soluções .....	54
6.1.3 Preparo das amostras .....	55
6.1.4 Curvas analíticas.....	55
6.1.5 Otimização .....	55
6.1.6 Correção de fundo por mínimos quadrados.....	56
<b>6.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>57</b>
6.2.1 Otimização das condições experimentais .....	57
6.2.2 Calibração .....	59
6.2.3 Validação do método.....	60
6.2.4 Eficiência de extração do método .....	63
<b>CAPÍTULO 6 - APLICAÇÃO DA FOTO-OXIDAÇÃO UV NA DECOMPOSIÇÃO DE</b>	
<b>AMOSTRAS DE VINHO PARA A DETERMINAÇÃO DE FERRO E MANGANÊS</b>	
<b>POR FS-FAAS .....</b>	<b>64</b>
<b>7.1 PARTE EXPERIMENTAL.....</b>	<b>64</b>
7.1.1 Instrumentação .....	64
7.1.2 Amostras, reagentes e soluções .....	65
7.1.3 Preparo das amostras .....	66
7.1.4 Curva analítica .....	67

7.1.5 Otimização .....	67
<b>7.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>69</b>
7.2.1 Determinação das condições experimentais para a foto-oxidação das amostras de vinho.....	69
7.2.2 Calibração .....	72
7.2.3 Validação do método.....	72
<b>CONCLUSÕES .....</b>	<b>75</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>76</b>

## INTRODUÇÃO

Dentro do protocolo analítico, existe uma seqüência de etapas que deve ser seguida, como mostrado no fluxograma da Figura 1. Dentre todas as etapas, a de preparo de amostras é a mais crítica. Em geral, é nesta etapa que se consome mais tempo, representando 61% do tempo total da análise; que se cometem mais erros, contribuindo para 30% do erro total da análise; além de ser a etapa de maior custo [1- 5].



**Figura 1.** Fluxograma da seqüência de etapas envolvida num típico processo analítico.

A etapa de preparo de amostras constitui o conjunto dos procedimentos necessários para converter física e quimicamente uma amostra em uma forma que permita efetuar, dentre as limitações impostas pela natureza e a morfologia da mesma, a determinação do(s) analito(s) e realizar sua quantificação o quanto mais precisa e exata [6]. Os procedimentos empregados para tal propósito dependem da natureza da amostra, dos analitos a serem determinados, bem como de suas concentrações, da técnica empregada para a determinação e, por fim, da precisão e exatidão desejadas [4,5].

Considerando o amplo espectro de atuação da Química Analítica, a etapa de preparação da amostra pode incluir os mais diversos tipos de procedimentos, em vista da diversidade de tipos de amostras, da ampla gama de técnicas de detecção e, sem contar, dos inúmeros possíveis analitos. Além disso, estes procedimentos podem ser empregados em seqüência para algumas situações, resultando em procedimentos integrais bastante demorados e complexos. No entanto, os procedimentos para o preparo de amostra podem ser restritos, na quase totalidade, a poucas classes de operações: solubilização/decomposição, extração, pré-concentração, purificação e derivatização [6].

A análise elementar da maioria das matrizes complexas, como o caso de alimentos, freqüentemente requer uma etapa de solubilização/decomposição total ou parcial da amostra antes da análise instrumental [7]. O processo de solubilização/decomposição de amostras pode muitas vezes representar a principal, quando não a única e mais complexa etapa preliminar da análise, especialmente quando são empregadas as técnicas de espectrometria atômica para a detecção [6]. Para este propósito, a amostra é convencionalmente tratada por meio de técnicas de digestão ácida em placas de aquecimento, ou por meio de técnicas de redução a cinzas [7]. Tais técnicas de decomposição de amostras apresentam uma série de inconvenientes, como elevado tempo gasto para o tratamento da amostra, necessidade de grandes volumes de reagentes, grande risco de contaminação e perdas de analitos voláteis, além de serem complicadas e tediosas em sua maioria, exigindo prática e experiência do analista [4-9].

Neste sentido, existe uma constante busca pelo desenvolvimento de metodologias de preparação de amostra que apresentem simplicidade, rapidez, utilizem pequenos volumes de reagentes, permitam o tratamento de grande número de amostras, além de proporcionarem resultados precisos e exatos [4,5]. De fato, outras abordagens para preparação de amostras, tais como a amostragem de suspensão e a foto-oxidação usando radiação ultravioleta, vêm recebendo crescente interesse por parte da comunidade científica, como alternativas às metodologias convencionais que podem vir a ser pouco viáveis [6].

# CAPÍTULO 1

## AMOSTRAGEM DE SUSPENSÃO

### 2.1 INTRODUÇÃO

Diversos procedimentos têm sido estabelecidos com o intuito de minimizar, ou até mesmo, evitar o processo de preparação de amostra, tendo em vista as dificuldades que são encontradas durante esta etapa do processo analítico [10]. Neste sentido, a técnica de amostragem de suspensão apresenta-se como uma alternativa que tem sido usada com sucesso para a análise de diversas matrizes, tais como, matrizes biológicas, ambientais, geológicas e de alimentos. Originalmente empregada por Brady *et al.* na determinação de zinco e chumbo em folhas e sedimentos marinhos [11,12], a amostragem de suspensão oferece algumas vantagens quando comparada aos procedimentos convencionais de solubilização de amostras. Dentre as quais, podemos citar: a simplificação da etapa de pré-tratamento da amostra, diminuindo o tempo de análise e o trabalho operacional; minimização do risco de contaminação da amostra; eliminação ou redução de perdas de analitos que podem eventualmente se volatilizar durante a etapa de pré-tratamento; minimização do custo de análise; redução do consumo de reagentes perigosos e corrosivos; pode ser aplicada para a análise de amostras orgânicas e inorgânicas; pode ser aplicada na determinação de elementos voláteis seguida da técnica de geração de hidretos; possibilita análise de especiação, desde que uma apropriada reação de derivatização ou procedimento de separação seja usado; possibilita ainda o uso de padrões aquosos para a calibração [7,10,13]. Além disso, vale ressaltar que existe a possibilidade de sua mecanização ou automação com o intuito de se facilitar a introdução da amostra, bem como a adição de reagentes e/ou modificadores químicos por meio da utilização de sistemas em fluxo [7,10]. Todavia, apresenta algumas desvantagens, como problemas relacionados à homogeneidade da suspensão preparada e, conseqüentemente, a sua manutenção no momento da detecção, o que pode comprometer a exatidão do método analítico [10].

Diante de tudo que foi exposto, a amostragem de suspensão vem sendo aplicada em inúmeros trabalhos e diferentes técnicas analíticas de detecção têm sido empregadas para a quantificação dos analitos, bem como espectrometria óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) [14,15,16], espectrometria de

absorção atômica com atomização eletrotérmica (ET AAS) [13] e espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP MS) [17,18]. Dentre estas, a ET AAS tem sido empregada com mais frequência nos trabalhos envolvendo a amostragem de suspensão, tendo em vista uma maior facilidade de introdução da suspensão no equipamento. Embora a espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS) apresente algumas vantagens, como relativo baixo custo operacional e instrumental, são poucos os trabalhos encontrados na literatura que associam esta técnica com a amostragem de suspensão [19-22]. Isto se deve em parte a limitada sensibilidade que esta técnica apresenta, mas principalmente as dificuldades encontradas na introdução de suspensões no sistema de nebulização do equipamento.

## **2.2 PRINCIPAIS FATORES NO PREPARO DAS SUSPENSÕES**

Um conjunto de fatores químicos e físicos devem ser avaliados na etapa de otimização de métodos que empregam a amostragem de suspensão, tais como: o meio líquido utilizado para o preparo da suspensão, o tamanho das partículas, concentração da suspensão (razão entre a massa da amostra e o volume da suspensão), partição do analito, homogeneização da suspensão e agentes estabilizantes [10,13].

### **2.2.1 Meio líquido/diluyente**

O diluyente constitui um componente importante no preparo das suspensões, uma vez que atua não somente como meio, mas também como um extrator do analito para a fase líquida. Deste modo, é um fator que contribui diretamente para uma melhor precisão e exatidão do método analítico. A seleção do diluyente é feita com base na natureza da matriz e no analito de interesse. Diferentes tipos de diluentes têm sido reportados para a preparação das suspensões, sendo o  $\text{HNO}_3$  diluído o mais utilizado para diversas matrizes, tanto orgânicas como inorgânicas. Uma série de outras substâncias também têm sido utilizadas, bem como  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{HCl}$ ,  $\text{HF}$ , de forma isolada ou combinações destas com  $\text{HNO}_3$  [10,13,23]. Soluções alcalinas não são usualmente utilizadas como diluentes, mas alguns trabalhos têm reportado o uso de hidróxidos de alquil amônio como solubilizadores de matrizes



biológicas [24,25]. Em alguns casos, o uso somente de H<sub>2</sub>O tem sido reportado como sendo o suficiente para se obter resultados satisfatórios [26-28].

### **2.2.2 Tamanho da partícula**

O tamanho da partícula é um dos fatores mais críticos no preparo de suspensões e que tem sido amplamente estudado devido a sua grande influência na estabilidade e homogeneidade da suspensão, bem como nas eficiências de transporte e atomização do analito. Como consequência, parâmetros analíticos do método, como exatidão e precisão, podem ser drasticamente afetados [7,10,13,23]. No entanto, não é um fator tão importante para análises de suspensões realizadas por ETAAS devido à forma de introdução da amostra, mas é particularmente crítico quando são empregadas as técnicas de ICP e FAAS por causa do risco de bloqueio no sistema de nebulização [10,13,23].

Algumas variáveis devem ser consideradas quanto à investigação do tamanho da partícula, tais como sistema de homogeneização, natureza da amostra, homogeneidade da amostra (com relação ao analito), densidade da amostra, tempo de preparação da suspensão e técnica analítica empregada [10].

### **2.2.3 Concentração da suspensão**

Trata-se de mais um importante fator a ser considerado no preparo de suspensões. A terminologia mais adequada para se referir a este fator é denotando a massa de amostra e o volume de diluente empregados, ao invés da sua relação (porcentagem), para se ter uma definição exata do preparo da suspensão, uma vez que diferentes resultados podem ser obtidos para suspensões de mesma concentração [10,13,23,29].

Para a seleção da massa e volume do diluente, devem ser levadas em conta a homogeneidade da amostra e a concentração do analito na amostra. Quando a amostra apresenta altas concentrações de elementos, suspensões mais diluídas podem ser preparadas, mas até um determinado limite, pois, perdas na precisão podem ocorrer para suspensões muito diluídas devido ao menor número de partículas presentes na suspensão [7,10,13,23].

Para amostras contendo baixas concentrações de elementos, suspensões mais concentradas devem ser preparadas com o intuito de se obter parâmetros analíticos mais adequados, como menores limites de detecção e quantificação. No entanto, deve-se considerar uma série de problemas que se pode advir do uso de suspensões mais concentradas, tais como, maior risco de efeito de matriz, comprometimento da eficiência de transporte e dificuldades de manutenção da estabilidade de suspensões para amostras de alta densidade [7,10,13,23].

#### **2.2.4 Partição do analito**

Representa a porcentagem de analito extraído para a fase líquida durante o tempo de preparação da suspensão, cuja eficiência influencia a precisão e a exatidão do método. A porcentagem de extração para um dado analito depende de um conjunto de parâmetros, como matriz da amostra, natureza do analito, força da ligação entre elemento e matriz, tamanho da partícula, tipo e concentração do diluente, eficiência de homogeneização e tempo de exposição ao diluente [10,13,23,30]. É um fator crítico para avaliação da calibração nos métodos baseados em amostragem de suspensão que empregam técnicas de espectrometria atômica [10].

#### **2.2.5 Homogeneização/Estabilização da suspensão**

Antes do início da análise, a suspensão deve ser homogeneizada e/ou estabilizada visando uma distribuição homogênea das partículas no meio líquido para garantir a representatividade da amostra e, assim, evitar erros em termos de precisão e exatidão [7]. Provavelmente, este seja o fator mais crítico no preparo das suspensões, não sendo em vão, que a maioria dos progressos alcançados na técnica de amostragem de suspensão esteja no desenvolvimento de equipamentos efetivos de homogeneização e sua automação [13].

A homogeneização das suspensões pode ser obtida por agitação, para a qual cinco diferentes modos têm sido usados com sucesso: agitação manual, agitação magnética, misturador por efeito vortex, borbulhamento de gás e agitação ultrassônica [7,10,13,23]. A homogeneização pode ser ainda obtida pela estabilização das partículas mediante o uso de agentes estabilizantes, conhecidos

também como agentes tixotrópicos, surfactantes, espessantes ou dispersantes [7,13].

### **2.2.5.1 Sistemas de homogeneização**

Diversos dispositivos homogeneizadores têm sido empregados e a eficiência destes depende, essencialmente, da taxa de sedimentação do material suspenso [7]. A abordagem mais simples e de baixo custo é a agitação manual. No entanto, é apenas efetivo para materiais de baixa densidade na presença de um agente estabilizante [10,13,23,31]. Consiste em agitar manualmente, por poucos segundos, o recipiente contendo a suspensão, seguida imediatamente por sua introdução no nebulizador ou da pipetagem no amostrador automático [13,23]. A agitação manual pode também ser usada antes de outros sistemas de homogeneização mais vigorosos, bem como agitação ultrassônica [32] ou magnética [33].

Agitação mecânica empregando agitador magnético ou misturador por efeito vortex é outra opção. São sistemas amplamente aplicados na obtenção de suspensões homogêneas devido a sua simplicidade operacional, ampla disponibilidade e baixo custo quando comparados a sistemas análogos. São ainda sistemas adequados para o preparo de grandes volumes de suspensão. Embora sejam sistemas altamente eficientes, são de difícil automação e na maioria das vezes ainda é necessária à agitação manual antes da injeção da amostra [10,13,23]. Agitação magnética é, no entanto, inadequada para agitação de matrizes ferrosas, sendo mais adequado o sistema de mistura por efeito vortex [34].

A abordagem por borbulhamento de gás é uma simples e econômica alternativa que pode ser aplicada na análise por ET AAS. Consiste na passagem de um fluxo de argônio aplicado diretamente no vial do amostrador automático para a contínua homogeneização da suspensão a ser analisada. O fluxo é interrompido imediatamente antes da pipetagem [10,13,23]. Um problema que pode advir do uso deste sistema é a formação de espuma gerada pelas bolhas de gás em amostras contendo altas concentrações de compostos orgânicos. Com isso, o uso de agentes estabilizantes torna-se inapropriado, sendo outra limitação deste sistema [13,23].

Dentre todos os sistemas, os agitadores ultrassônicos são os que mais têm ganhado popularidade para a homogeneização de suspensões nos últimos anos [35]. O mecanismo de ação das ondas ultrassônicas em um meio líquido se dá

através do fenômeno chamado de cavitação acústica: quando uma onda ultrassônica passa através de um líquido, a pressão oscilante da onda pode causar o fenômeno de cavitação, o qual envolve a formação, crescimento, oscilação e colapso de diminutas bolhas de gás. Como resultados deste processo, o analito presente na amostra pode ser extraído para o meio líquido e uma diminuição do tamanho da partícula ou desagregação de aglomerados pode também ocorrer devido à erosão mecânica, levando a sua ruptura [35,36]. Vários tipos de instrumentação estão disponíveis para a manipulação da energia ultrassônica, mas duas alternativas são mais freqüentemente encontradas: o banho ultrassônico e a sonda ultrassônica. Banhos ultrassônicos (Figura 2) são fontes de irradiação ultrassônica amplamente disponíveis e de menor custo, sendo, então, largamente utilizados. No entanto, são fontes menos eficientes em comparação com as sondas ultrassônicas. Estas são projetadas para serem introduzidas diretamente no recipiente contendo a suspensão, melhorando a dissipação da energia ultrassônica. Além disso, sondas ultrassônicas podem ser usadas para manipular ambos os materiais de alta e baixa densidade [10,13,35,36].



**Figura 2.** *Banho ultrassônico.*

#### **2.2.5.2 Agentes estabilizantes**

O uso de agentes estabilizantes é outra maneira de se obter a homogeneidade da suspensão. São usados com o objetivo de dispersar aglomerados e/ou prevenir a sedimentação de partículas pelo aumento da viscosidade do meio, simplificando a etapa de preparação de suspensões homogêneas [7,10,13,23,37]. Para suspensões de materiais de alta densidade, o

uso de agentes estabilizantes torna-se primordial. Vários compostos que atuam como agentes estabilizantes são encontrados na literatura. Dentre estes, o surfactante não-iônico Triton X-100, KO300G, etanol e glicerol são os mais freqüentemente empregados. Para minimizar a formação de espuma decorrente do uso destas substâncias, como é o caso do Triton X-100, a adição de algumas gotas de um agente antiespumante é recomendável, como, por exemplo, etanol [7,10]. A capacidade de estabilização é extremamente dependente das características da amostra, concentração do agente estabilizante e tamanho das partículas. No entanto, o uso destes agentes deve ser feito de forma bastante criteriosa, uma vez que existe a possibilidade de contaminação pela introdução destes na suspensão [23,37].

### **2.3 TÉCNICAS DE CALIBRAÇÃO**

Trata-se de um importante item a ser investigado para a apropriada validação do método e, assim, garantir sucesso na análise de suspensões. Diversas estratégias têm sido empregadas para a determinação da concentração do analito na suspensão: calibração usando padrões aquosos, método de adição de analito, método de calibração de adição, técnica do elemento de referência, calibração usando materiais de referência certificados ou uma matriz próxima à amostra analisada [10,13].

Em muitos casos, é possível o uso de padrões aquosos para a obtenção da curva analítica e posterior quantificação do analito quando se emprega a técnica de amostragem de suspensão [7,10,13]. Este tipo de calibração apresenta importantes vantagens como simplicidade, baixo custo, redução do tempo de análise e o emprego de uma única curva analítica para a análise de muitas amostras [13]. No entanto, é somente aplicada quando nenhuma diferença estatística é encontrada entre a inclinação da curva de calibração usando soluções de padrões aquosos e aquela obtida com adição de analito nas amostras de suspensão. Quando diferenças significativas são encontradas entre as inclinações das curvas, a calibração usando padrões aquosos não pode ser aplicada. Neste caso, deve ser empregada a técnica de adição de analito, desde que o efeito de matriz seja constante para um dado conjunto de amostras. Assim, uma inclinação média pode ser obtida e usada para amostras de matriz similar. Entretanto, se o efeito de matriz

divergir entre amostras individuais, este método não é aplicável. Então, a técnica de adição de analito deverá ser aplicada para todas as amostras, sendo esta considerada como a mais tediosa e morosa dentre as estratégias de calibração [10,13].

Algumas pesquisas têm empregado materiais de referência certificados para a construção da curva analítica na análise de suspensões [38-40]. Essa estratégia de calibração tem sido aplicada de dois diferentes modos: uso de diversos CRMs de natureza similar com diferentes concentrações do analito e uso de diferentes massas de um único CRM [10]. Em ambos os casos, é recomendável que o CRM tenha natureza similar ao da amostra. No entanto, a seleção e a disponibilidade desses materiais são limitadas [7,13]. Quando nenhum CRM está disponível, existe ainda uma outra alternativa utilizada para a construção da curva de calibração, que consiste na preparação de suspensões padrões em uma matriz sintética de composição físico-química tão próxima quanto possível da amostra real a ser analisada [7,10].

Por último, para superar problemas relacionados ao decréscimo da eficiência de transporte e incompleta atomização do analito quando se utiliza suspensões, a técnica do elemento de referência tem sido empregada [41]. Consiste na adição de um elemento de referência à suspensão da amostra, o qual deve apresentar comportamento similar ao analito de interesse [42].

## **2.4 APLICAÇÃO DA AMOSTRAGEM DE SUSPENSÃO NA ANÁLISE DE ALIMENTOS**

Diversos são os trabalhos que podem ser encontrados na literatura que descrevem o desenvolvimento de métodos baseados na aplicação da amostragem de suspensão como etapa de preparo de amostra para a determinação de metais em alimentos.

Araújo et al. [43] desenvolveram um método para a determinação de Mn em amostras de farinha de trigo por amostragem de suspensão e FAAS. As suspensões foram preparadas usando uma massa de 0,5 g de amostra e uma solução de  $\text{HNO}_3$  2,0 mol  $\text{L}^{-1}$  como meio diluente para um volume de 50 mL. A homogeneização das suspensões foi realizada por agitação em banho ultrassônico durante o tempo de 15 min. A curva analítica usando padrões aquosos foi estabelecida para a calibração do

método. Os resultados analíticos foram comparados com aqueles obtidos após procedimento de digestão ácida e determinação por FAAS. A comparação estatística pelo teste *t* não exibiu diferença significativa entre esses resultados.

Lopez-Garcia et al. [44] descreveram um procedimento para determinação de fósforo em mel, leite e fórmulas infantis por GF AAS usando amostragem de suspensão. Suspensões preparadas em um meio contendo 50% (v/v) de peróxido de hidrogênio concentrado, 1% (v/v) de ácido nítrico concentrado, 10% (m/v) de glicose, 5% (m/v) sacarose e 100 mg L<sup>-1</sup> de potássio foram introduzidas diretamente no tubo de grafite. A calibração foi realizada com padrões aquosos preparados no mesmo meio que as suspensão e a curva analítica foi linear entre 5 e 80 mg L<sup>-1</sup> de P. A exatidão do procedimento foi verificada por comparação dos resultados obtidos pelo método proposto com aqueles obtidos pelo método espectrofotométrico de referência após a mineralização e também pela análise de diversos CRM.

Cava-Montesinos et al [45] desenvolveram um método altamente sensível para a determinação de Hg em amostras de leite por espectrometria de fluorescência atômica de vapor frio (CV-AFS). As amostras foram sonicadas por 10 min em um banho ultrassônico na presença de água régia a 8% (v/v), antiespumante a 2% (v/v) e cloridrato de hidroxilamina a 1% (v/v). Em seguida, as amostras foram tratadas com KBr 8 mmol L<sup>-1</sup> e KBrO<sub>3</sub> 1,6 mmol L<sup>-1</sup> em meio de HCl. Medidas por AFS foram realizadas por multicomutação, o qual proporciona uma maior frequência analítica e menor geração de resíduos. O limite de detecção encontrado foi de 0,011 ng g<sup>-1</sup> de Hg na amostra original. O método foi validado mediante análise de CRM de leite em pó desnatado NIST-1459. Os resultados obtidos pelo procedimento desenvolvido foram comparados com aqueles obtidos por digestão assistida por microondas e medidas contínuas de AFS evidenciando uma boa concordância entre as duas estratégias.

Viñas et al [46] desenvolveram um procedimento para determinar As em diferentes tipos de alimentos infantis por ET AAS usando amostragem de suspensão. Suspensões preparadas em um meio contendo Triton X-100 0,1% (m/v), peróxido de hidrogênio concentrado 20% (v/v), ácido nítrico concentrado 1% (v/v) e nitrato de níquel 0,3% m/v foram diretamente introduzidas no tubo de grafite. Temperaturas de pirólise e atomização foram de 1400 e 2400 °C, respectivamente. A calibração foi estabelecida pelo método de adição padrão. A exatidão do procedimento foi avaliada pela comparação dos resultados obtidos com outros

baseados na digestão da amostra em forno de microondas e pela análise de três CRMs.

Um método baseado na análise de suspensões foi desenvolvido por Chen e Jiang [47] para a determinação de As, Cd e Hg por ICP-MS usando geração química de vapor (VG) por injeção em fluxo como sistema de introdução de amostra. Uma suspensão contendo 6% (m/v) de farinha, 0,7% (m/v) de tiouréia,  $0,4 \mu\text{g mL}^{-1}$  de Co (II) e 2,5% (v/v) de HCl foi injetada no sistema VG-ICP-MS para a determinação de As, Cd e Hg sem dissolução ou mineralização. Método de adição padrão e diluição isotópica foram usados para a quantificação dos analitos. O método foi aplicado na análise de dois CRMs e amostras de cereais. Os resultados da análise dos materiais de referência concordaram com os valores certificados.

A amostragem de suspensão foi utilizada por Černohorský et al. [48] para a determinação de Na, K, Ca, Mg, S, P, Fe, Mn, Cu e Zn em suspensões de farinha de trigo e alimentos pré-forno a base de farinha por ICP OES. As suspensões foram preparadas com 0,1% m/v de farinha em 0,1% m/v de Triton X-100 e 6% (v/v) de  $\text{HNO}_3$ . Banho ultrassônico foi usado para o tratamento das suspensões por um tempo de 15 min. Técnica de calibração usando padrões aquosos foi adotada para a quantificação dos elementos. A exatidão foi confirmada pela análise de materiais de referência de farinha de trigo e de arroz. O método proposto foi aplicado para análise de duas amostras de farinha de trigo e quatro amostras de misturas pré-forno a base de farinha. Nenhuma diferença estatística foi encontrada quando os resultados foram comparados com aqueles obtidos após digestão por microondas das amostras analisadas.



## CAPÍTULO 2

### FOTO-OXIDAÇÃO UV

#### 3.1 INTRODUÇÃO

A necessidade da decomposição de amostras se impõe muitas vezes com o intuito da eliminação de interferentes que, na maioria das vezes, deve-se particularmente ao tipo de técnica de detecção empregada [6]. A irradiação da amostra por ondas eletromagnéticas da região do ultravioleta pode ser útil na decomposição de interferentes, como a matéria orgânica. A mineralização usando irradiação UV pode representar uma alternativa efetiva em muitas situações, oferecendo algumas vantagens quando comparada aos procedimentos convencionais de decomposição de amostras, tais como: menor risco de contaminação da amostra; eliminação ou redução de perdas de analitos voláteis; requer o uso de menores quantidades de reagentes; elimina em muitos casos a necessidade do uso de reagentes altamente corrosivos; as condições para a mineralização da amostra são mais brandas, possibilitando, por exemplo, que o processo seja conduzido a baixas temperaturas; condições de pH em meio neutro ou básico podem ser empregadas, o que pode ser útil quando a etapa de digestão é seguida por procedimentos de extração e/ou pré-concentração; possibilita a análise de especiação, sendo que o próprio processo de irradiação UV pode ser usado para a reação de derivatização do analito; pode ser aplicada na determinação de elementos voláteis seguida da técnica de geração de hidretos ou vapor frio; possibilita ainda o uso de padrões aquosos para a calibração. Além disso, também existe a possibilidade do desenvolvimento de sistemas de irradiação em fluxo mecanizados ou automatizados. A facilidade de sua integração em sistemas de fluxo tem impulsionado o desenvolvimento de sistemas integrados para a análise de amostras reais, parcial ou completamente automatizados, disponíveis comercialmente. Outra possibilidade que tem despertado bastante interesse neste campo é o acoplamento de sistemas de irradiação em fluxo com etapas de separação que empregam técnicas cromatográficas [6,49- 52].

No entanto, a aplicação da irradiação UV como etapa de mineralização da matéria orgânica é limitada para alguns tipos de matrizes. Sua aplicação torna-se inviável para amostras com elevado teor de compostos orgânicos, para as quais são

requeridos grandes quantidades de agentes oxidantes e longos períodos de irradiação [6,49]. No caso de amostras sólidas, a mineralização UV pode ser usada como uma etapa complementar após a aplicação de métodos de digestão mais vigorosos, como a digestão em microondas [53,54].

O primeiro uso da foto-oxidação UV como um processo de digestão foi realizado por Armstrong *et al.* em 1966 para a determinação de carbono, nitrogênio e fósforo em amostras de água [55]. A primeira aplicação desse método como uma etapa de pré-tratamento para a determinação de metais foi realizada por Frimmel e Winkler em 1975 [56]. Desde então, diversos metais têm sido determinados em vários tipos de matrizes, sendo a voltametria e a espectrometria de absorção atômica as principais técnicas usadas para a determinação. As condições estabelecidas para o processo de digestão UV são as mais diversas e dependem do elemento a ser determinado, da técnica de determinação empregada e da matriz da amostra [49].

## **3.2 MECANISMOS DA FOTO-OXIDAÇÃO UV**

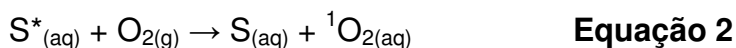
A ação da radiação UV sobre compostos orgânicos e inorgânicos dissolvidos resulta na formação de muitas espécies intermediárias: oxigênio singlete, peróxido de hidrogênio, íons superóxidos, radicais organoperóxil, radicais hidroxilas, entre outros. A mineralização pode também envolver a adição de substâncias, as quais facilitam o processo de oxidação, tais como:  $H_2O_2$ ,  $O_3$  e  $K_2S_2O_8$  [49,50].

### **3.2.1 Espécies oxidantes formadas sob a influência da radiação UV e agentes oxidantes empregados**

#### **3.2.1.1 Oxigênio singlete**

Trata-se de uma espécie altamente reativa que resulta da interação entre a radiação UV e a molécula de oxigênio, a qual passa do estado fundamental de energia para o estado excitado, sendo provavelmente gerado em  $\lambda = 366$  nm. Esse processo ocorre na presença de sensibilizadores, como os ácidos húmicos presentes em águas naturais. O mecanismo mais provável consiste na absorção da energia radiante pelo sensibilizador que transfere a energia para moléculas de  $O_2$  e

estas mudam seu estado de energia para o estado excitado (Equações 1 e 2). Além da ocorrência natural dos sensibilizadores, algumas substâncias podem ser introduzidas no meio, por exemplo, corantes, os quais podem atuar como os sensibilizadores naturais [49].

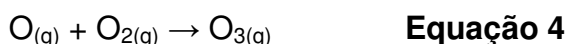


### 3.2.1.2 Radicais superóxido e alquilperoxi

O radical superóxido é o primeiro produto obtido da redução de uma molécula de  $O_2$ . É instável em soluções aquosas e rapidamente desproporcionado a  $H_2O_2$  e  $O_2$ . O possível mecanismo de formação deste íon consiste na absorção da radiação por sensibilizadores, como, por exemplo, ácidos húmicos contendo estruturas quinonas e semi-quinonas presentes em águas naturais, os quais se tornam excitados. Estes reagem com moléculas de  $O_2$  para formar os íons superóxidos. O radical alquilperoxi representa outro tipo de radical formado em soluções aquosas contendo matéria orgânica dissolvida durante a irradiação UV [49].

### 3.2.1.3 Ozônio

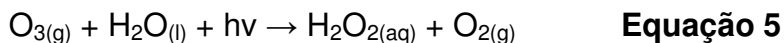
O ozônio é formado quando moléculas de  $O_2$  são submetidas à radiação UV de comprimentos de ondas mais curtos ( $\lambda < 240 \text{ nm}$ ):



Numa lâmpada de mercúrio, a linha 185 nm é a principal responsável pela formação do ozônio. O ozônio é moderadamente estável no escuro e na temperatura ambiente. No entanto, sofre rápida decomposição quando submetido à radiação ultravioleta de 200-300 nm. A presença de gases, como  $O_2$ ,  $CO_2$ ,  $N_2$  e Ar, inibem esta decomposição.

O ozônio tem fortes propriedades oxidantes, sendo seu potencial redox em meio ácido e alcalino de 2,075 e 1,246 V, respectivamente. Pode ser então

adicionado ao meio reacional como agente oxidante. Quando irradiado com UV forma radicais hidroxilas:



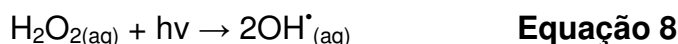
Ozônio é um eficiente agente oxidante para compostos orgânicos. Diversos estudos têm sido realizados para avaliar a eficiência de processos oxidativos fazendo uso de  $\text{O}_3$  e irradiação UV na decomposição de vários compostos orgânicos. Os resultados demonstram que a taxa de oxidação aumenta sempre em sistema usando  $\text{O}_3/\text{UV}$  comparado ao sistema usando somente oxidante [49,50].

### 3.2.1.4 Radical hidroxila e peróxido de hidrogênio

O radical hidroxila ( $\text{HO}^*$ ) é uma espécie oxidante altamente reativa capaz de romper ligações de caráter covalente e induzir a mineralização completa dos compostos orgânicos presentes na amostra [52]. Devido ao seu elevado potencial de redução padrão de 2,8 V em meio ácido, é uma espécie capaz de oxidar a maioria dos compostos orgânicos a  $\text{CO}_2$  [57]. O radical hidroxila pode ser gerado a partir da fotólise da água pela ação da radiação UV [52, 58]:

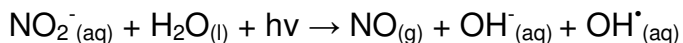


Pode também ser gerado a partir de peróxido de hidrogênio adicionado à solução da amostra. Quando exposto à ação da radiação UV,  $\text{H}_2\text{O}_2$  sofre decomposição formando os radicais hidroxilas [49,52,58]:

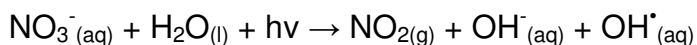


Diversos estudos têm investigado a influência da adição de  $\text{H}_2\text{O}_2$  na eficiência da digestão UV de muitos compostos orgânicos em soluções aquosas. É demonstrado que a eficiência da mineralização é maior para os sistemas usando  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$  em relação aos sistemas usando somente oxidante ou radiação UV [49].

A presença de nitritos e nitratos em solução pode também ser fonte de radicais hidroxilas [49]:



**Equação 9**

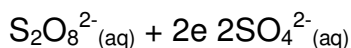


**Equação 10**

O radical hidroxila pode reagir através de três mecanismos distintos: abstração de hidrogênio, transferência de elétrons e adição radicalar. Os radicais secundários formados durante estas reações podem novamente reagir com outros compostos [52]. Acredita-se que os radicais hidroxilas sejam os mais importantes agentes envolvidos no processo de oxidação da matéria orgânica [6,49].

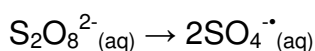
### 3.2.1.5 Íon persulfato

É um dos mais fortes agentes oxidantes em meio aquoso, cujo potencial de redução padrão é de 2,01 V:



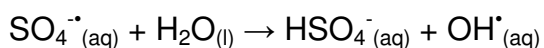
**Equação 11**

A primeira etapa de decomposição desse íon é de caráter radicalar, que pode ser iniciada por substâncias presentes em solução, bem como pela interação com a radiação UV:



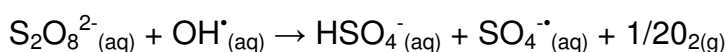
**Equação 12**

Na segunda etapa de reação, o radical sulfato reage com água para formar radicais hidroxilas:

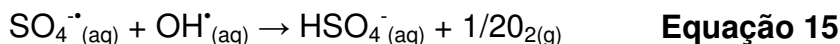


**Equação 13**

A próxima etapa de reação em cadeia da decomposição do íon persulfato é a seguinte:



**Equação 14**



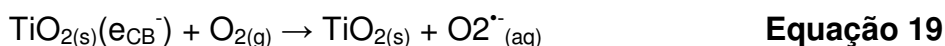
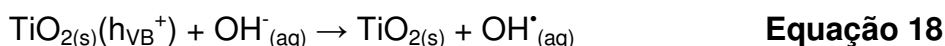
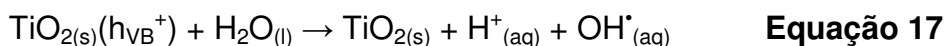
Por causa de suas fortes propriedades oxidantes, devido à formação de  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{O}_2$  e  $\text{OH}^{\cdot}$  como produtos da reação de sua decomposição, o íon persulfato é um agente oxidante comumente usado na mineralização por radiação UV [49].

### 3.2.1.6 Dióxido de titânio

Muitos compostos orgânicos podem ser foto-oxidados a  $\text{CO}_2$  usando o dióxido de titânio ( $\text{TiO}_2$ ) como catalisador. O mecanismo deste processo envolve a formação de lacunas carregadas positivamente e de elétrons na superfície do  $\text{TiO}_2$  excitado. Quando um semicondutor é irradiado com radiação ultravioleta, a uma energia maior que sua energia de “bandgap”, elétrons são excitados e passam da banda de valência (CV) para a banda de condução (CB). Dessa forma, são gerados elétrons ( $e_{\text{CB}}^-$ ) na banda de condução e lacunas ( $h_{\text{VB}}^+$ ) na banda de valência [49,59- 62].



Os elétrons fotogerados na banda de condução podem interagir tanto com a matéria orgânica quanto com moléculas de oxigênio adsorvidas na superfície do semicondutor ou dissolvidas na água, gerando radicais superóxidos  $\text{O}_2^{\cdot-}$ . As lacunas fotogeradas podem oxidar a molécula orgânica formando  $\text{R}^+$ , ou reagir com  $\text{OH}^-$  ou  $\text{H}_2\text{O}$  oxidando estas espécies a  $\text{OH}^{\cdot}$ . Outras espécies altamente oxidantes como, por exemplo, radicais de água oxigenada  $\text{HO}_2^{\cdot}$ , podem também ser gerados neste processo. Estes radicais formados são responsáveis pela fotodecomposição heterogênea dos substratos orgânicos pelos semicondutores [49,60,61].



O dióxido de titânio pode ser usado na forma de suspensão em meio aquoso ou imobilizado como fase estacionária em vidro ou nas paredes internas de um tubo

de politetrafluoretileno bobinada ao redor de uma lâmpada UV, freqüentemente uma lâmpada de luz negra [49].

### **3.2.1.7 Outros agentes oxidantes e catalisadores empregados**

Agentes oxidantes como  $\text{KMnO}_4$  e  $\text{K}_2\text{CrO}_7$  também têm sido aplicados para acelerar processos de mineralização baseados na foto-oxidação UV. O uso de mercúrio metálico ou compostos de mercúrio (II) como sensibilizadores na mineralização UV também tem sido realizado. Alguns catalisadores como  $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ ,  $\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{OsO}_4$ , Pt, também foram aplicados na foto-oxidação UV, mas estes são raramente usados [49].

## **3.3 FONTES DE RADIAÇÃO UV**

A radiação ultravioleta corresponde à região do espectro eletromagnético entre os comprimentos de onda ( $\lambda$ ) de 400 e 100 nm. A Comissão Internacional da Iluminação (Commission Internationale de l'Éclairage) recomenda a classificação em UV-A (400-315), UV-B (315-280) e UV-C (280-100), sendo que a primeira faixa é denominada como ultravioleta próximo e à última, como ultravioleta extremo ou de vácuo. A denominação de ultravioleta de vácuo deve-se à necessidade da remoção, ao se operar em baixos comprimentos de onda, do oxigênio atmosférico, que absorve radiação em  $\lambda$  abaixo de 200 nm [6,49].

Na prática, o aproveitamento do espectro ultravioleta é limitado pelos três tipos de fontes disponíveis comercialmente: lâmpadas de deutério, xenônio e vapor de mercúrio. Dentre estas, as lâmpadas de vapor de mercúrio são as mais freqüentemente usadas em aplicações industriais e de laboratório, quando não é exigida muita estabilidade (no que as lâmpadas de deutério são mais favoráveis) ou ampla faixa de emissão, cobrindo também o visível e infravermelho próximo (propiciado pelas lâmpadas de xenônio). Isto se deve ao fato das lâmpadas de mercúrio apresentarem baixo custo relativo e facilidade de operação, além de altas eficiências energética (proporção de potência elétrica convertida em radiação) e espectral (proporção de radiação emitida no UV) [6].

Nas lâmpadas de mercúrio por descarga em arco, a irradiação decorre do relaxamento luminescente de átomos de mercúrio excitados pelas colisões

resultantes da corrente de elétrons e íons no arco formado entre os eletrodos montados no interior de um bulbo de quartzo. A transição de energia de átomos de Hg do estado excitado de mais baixa energia para o estado fundamental corresponde ao  $\lambda = 253,7$  nm. Além do vapor de mercúrio, as lâmpadas contêm um gás nobre, geralmente argônio, que apesar de não participar diretamente do processo de irradiação, contribui para o aumento da corrente de elétrons e íons [6,49]. O espectro de emissão depende fortemente da pressão de vapor de Hg no interior do bulbo havendo, por este motivo, a distinção entre lâmpadas de baixa (0,1-1 Pa), média ( $\sim 0.1$  MPa) e alta pressão ( $\sim 10$  MPa) [6,49,50].

### 3.3.1 Lâmpadas de baixa pressão

As lâmpadas de baixa pressão são essencialmente monocromáticas e seu espectro consiste de uma linha com  $\lambda = 253,7$  nm. Uma linha gerada em 189 nm é, em lâmpadas convencionais, filtrada pelas paredes do bulbo e pelo  $O_2$  atmosférico. Sua eficiência de conversão da potência em radiação UV é de cerca de 40%, sendo melhor do que as lâmpadas de média e alta pressão. No entanto, apresentam uma menor potência, que é no máximo de 60 W. Para compensar a baixa intensidade luminosa das lâmpadas de baixa pressão, estas são construídas em forma de bulbos compridos, com dimensões de 1 m de comprimento e 15-40 mm de diâmetro, às vezes enrolados em forma de espiral, de maneira a se obter um maior fluxo luminoso total. O tempo de vida destas lâmpadas é relativamente longo, entre 5000-10000 h. Ademais, as lâmpadas de baixa pressão operam em baixas temperaturas, tipicamente, entre 40 e 60°C, sendo que o metal no seu interior pode estar parcialmente condensado durante sua operação. Neste caso, a quantidade de mercúrio no estado de vapor é determinada pela sua pressão parcial, isto é, pela sua temperatura de operação [6,49]. Um tipo especial de lâmpada de baixa pressão são as chamadas lâmpadas fluorescentes de luz negra. A parte interna da lâmpada é revestida com uma substância fluorescente, a qual absorve a radiação em 254 nm e emite em 365 nm, sendo essa chamada de luz negra. Esse tipo de lâmpada é freqüentemente usado para oxidação fotocatalítica de substâncias orgânicas com dióxido de titânio como catalisador [49].



### **3.3.2 Lâmpadas de média e alta pressão**

As fontes de média e alta pressão apresentam um espectro de emissão caracterizado por linhas mais alargadas e um fundo contínuo que cobre toda a região UV. Apesar de apresentarem potência nominal aproximadamente uma ordem de grandeza maior que as de baixa pressão, estas lâmpadas convertem em luz UV somente cerca de 30% da potência elétrica consumida. O tempo de vida destas lâmpadas é inferior ao das de baixa pressão, aproximadamente de 2000 h. A temperatura de operação das lâmpadas de média e alta pressão alcança valores entre 600-900 °C, em que todo o mercúrio está completamente vaporizado. Por esta razão, a quantidade de mercúrio no estado de vapor é determinada pela quantidade de metal inserido no bulbo durante a manufatura que, portanto, deve ser cuidadosamente estabelecida. Devido à alta temperatura de operação, estas lâmpadas emitem também uma grande quantidade de calor que pode ser utilizado para aquecer as amostras tratadas. Entretanto, é importante estabelecer um apropriado sistema de resfriamento. Lâmpadas de média pressão são resfriadas com ar e as de alta pressão são resfriadas com água [6,49].

### **3.3.3 Outras abordagens**

Na literatura podem ser encontrados trabalhos que empregam outras diferentes abordagens quanto às fontes de irradiação UV. A possibilidade do uso de lâmpadas de mercúrio do tipo usado em iluminação pública é um exemplo. São lâmpadas facilmente disponíveis no mercado e de custo relativamente baixo. Para tanto, é necessária a remoção do invólucro externo de vidro, o qual é revestido internamente por um material fluorescente. Desse modo, o núcleo interno da lâmpada fica exposto, sendo este constituído por uma lâmpada de mercúrio de média/alta pressão num invólucro de quartzo [63].

Outra possibilidade é a utilização de um novo modelo de lâmpada disponível no mercado, sendo está de baixa pressão, mas de elevada potência. Foi demonstrado que sua eficiência é maior do que as lâmpadas de baixa pressão/baixa potência e média pressão/igual potência na foto-decomposição de várias substâncias orgânicas [64].

Uma interessante proposta é a realização da abertura de amostra por irradiação simultânea de ultravioleta e microondas. Uma ampola de quartzo contendo cádmio, cujo vapor produz emissão monocromática em  $\lambda = 228 \text{ nm}$ , é posicionada no fundo de um tubo de ensaio de quartzo contendo a solução ou suspensão a ser tratada e o conjunto é inserido na cavidade de um forno de microondas. A fonte de radiação UV é desprovida de eletrodo, pois as próprias microondas desempenham o duplo papel de fornecer energia à amostra e de iniciar e manter o processo de excitação dos átomos de Cd, responsável pela emissão no UV. Esta nova abordagem foi testada com sucesso em uma amostra de material certificado de leite desnatado, possibilitando 99% de decomposição do material orgânico em 30 min de tratamento [65].

É interessante mencionar também a aplicação de lasers na mineralização UV. Para tal propósito, foram usados lasers com os seguintes comprimentos de onda:  $\lambda = 193 \text{ nm}$  (laser de ArF),  $\lambda = 248 \text{ nm}$  (laser de KrF),  $\lambda = 308 \text{ nm}$  (laser de XeCl). A mineralização foi investigada para o fulvato de sódio e o 2,4-diclorofenol, sendo conduzida num recipiente fechado de quartzo de 40 ml. A taxa de decomposição aumentou para comprimentos de onda mais curtos. A potência consumida de um laser foi comparada com aquela de uma lâmpada de vapor de mercúrio. Foi necessária de 100 a 2000 vezes menos energia quando foi utilizado o laser. Isso se explica pelo fato de que somente uma pequena fração da potência é emitida como radiação UV numa lâmpada de mercúrio [66].

### **3.4 DIGESTORES UV**

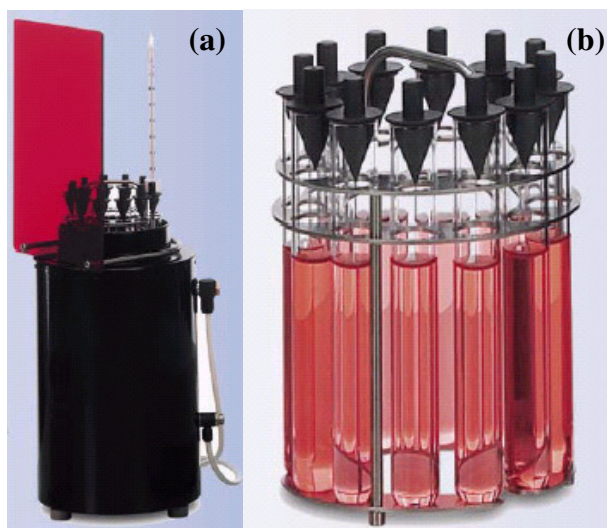
Os principais fatores levados em conta na construção dos dispositivos usados para a digestão UV são: o melhor aproveitamento da radiação, com otimização de esquemas de reflexão e focalização, e a questão do controle da temperatura. A intensa dissipação de calor por lâmpadas de média e alta pressão pode ser conveniente para acelerar o processo desejado. No entanto, a temperatura de ebulição da amostra pode ser rapidamente alcançada, sendo necessária à adição de dispositivo de resfriamento como, por exemplo, uma ventoinha. Entretanto, ventilação exagerada é indesejável, quer por desacelerar a reação, quer por prejudicar a emissão da lâmpada. O mais apropriado é realizar o controle da temperatura por meio de um termostato como, por exemplo, ligando ou acelerando a

ventoinha conforme necessário [6]. No caso da utilização de lâmpadas de baixa pressão, a adição de dispositivo de resfriamento torna-se muitas vezes desnecessária, devido à baixa dissipação de calor que estas lâmpadas apresentam [49].

O método original para a mineralização UV consiste da imersão de uma lâmpada de mercúrio em um frasco de reação, similar a síntese fotoquímica na Química Orgânica, tendo sido aplicado com sucesso para transformar compostos de organomercúrio em combinações inorgânicas de mercúrio [49,50,56]. As desvantagens desse processo são evidentes, como contaminação da amostra e corrosão da lâmpada, o que torna por limitar o tipo e a concentração dos reagentes utilizados. No entanto, esse tipo de mineralização não é aplicado em digestores comercialmente disponíveis [50]. Atualmente, existem duas abordagens que são freqüentemente utilizadas para realizar a mineralização UV: métodos baseados na aplicação de equipamentos em batelada ou de sistemas em fluxo [6,49,50].

#### **3.4.1 Equipamentos em batelada**

Este tipo de dispositivo consiste de uma lâmpada de mercúrio posicionada axialmente no centro de um invólucro externo. As amostras são geralmente colocadas em vários tubos de quartzo fechados, dispostos ao redor da lâmpada, permitindo a mineralização simultânea de mais do que uma amostra. A parte interna do invólucro é espelhada, geralmente constituída de folhas de alumínio, para se obter maior aproveitamento da radiação a partir de sua reflexão para o interior do dispositivo [6,49,50,55]. Existem no mercado foto-digestores completos como os produzidos pela Metrohm [67] (Figura 3), mas versões simplificadas podem ser construídas no próprio laboratório [68].



**Figura 3.** Digestor UV comercialmente disponível pela Metrohm: (a) digestor UV modelo 705 e (b) suporte com os tubos para as amostras.

Mineralizadores em batelada disponíveis comercialmente podem ser divididos em dois tipos: mineralizadores com resfriamento a ar e mineralizadores com resfriamento a água. No primeiro tipo, o resfriamento é efetuado por um fluxo de ar forçado por uma ventoinha situada logo abaixo da lâmpada e dos tubos contendo amostras. O segundo tipo de mineralizador consiste de uma câmara com a lâmpada e tubos rodeados por uma jaqueta contendo água. O uso de sistemas de resfriamento a água permite o emprego de lâmpadas de alta pressão, já que estas emitem radiação de mais alta intensidade e produzem mais calor causando rápida evaporação da amostra. O fluxo regulado de água possibilita o adequado ajuste da temperatura das amostras [49,50]. Versões que empregam os dois tipos de sistemas de resfriamento também podem ser encontradas disponíveis no mercado [67].

### 3.4.2 Equipamentos em fluxo

Para equipamentos acoplados ou integrados em sistemas de fluxo, a solução convencionalmente adotada é a de circular a amostra por uma bobina que envolve a lâmpada, sendo esta confeccionada em quartzo [6,49,50]. Este tipo de sistema foi originalmente usado nos equipamentos de mineralização para determinação de carbono total. Atualmente, digestores em fluxo são também empregados na determinação de nitrogênio, fósforo e uma série de outros elementos [6,49]. Inicialmente, lâmpadas com potências mais altas eram empregadas neste tipo de

digestor, mas lâmpadas de potências menores têm sido frequentemente usadas em trabalhos mais recentes. Estas lâmpadas têm a vantagem de não haver a necessidade da adição de algum sistema de resfriamento [49,50].

Em muitos trabalhos, vem se tornando crescente uso de bobinas de PTFE em substituição ao quartzo [69-75]. Este material apresenta transparência superior à do vidro, mas inferior à do quartzo frente à radiação UV. Sua eficiência é compensada em parte por um melhor aproveitamento da radiação em decorrência da reflexão múltipla da radiação no interior das paredes do tubo, que apresenta índice de refração próximo ou mesmo inferior ao da solução irradiada. A vantagem de se substituir quartzo por PTFE é evidente, pois assim se eliminam os inconvenientes de custos mais elevados do material e dificuldade de manufatura, de menor flexibilidade na escolha da geometria da bobina e de fragilidade relacionada ao uso do quartzo [6,49].

### **3.5 APLICAÇÃO DA FOTO-OXIDAÇÃO UV NA ANÁLISE DE ALIMENTOS**

Na literatura são encontrados alguns trabalhos envolvendo a aplicação da foto-oxidação UV como etapa de preparação da amostra para a determinação de metais em alimentos.

Buldini et al. [51] desenvolveram um método cromatográfico para a determinação de alguns micronutrientes em diferentes tipos de leite, no qual a foto-oxidação UV foi aplicada para a eliminação da matriz orgânica. O processo de foto-oxidação UV foi realizado com  $H_2O_2$  em um digestor UV equipado com uma lâmpada de mercúrio de alta pressão. O tempo requerido para a degradação das amostras de leite foi inferior a 2 h. A solução resultante foi diluída, filtrada e injetada em um cromatógrafo de íons com ambos os detectores de condutividade e UV-Vis. O método foi aplicado na análise de amostras reais de leite e resultados satisfatórios foram obtidos na determinação total de Cl, Br, P (como fosfato) e S (como sulfato), e Cu, Ni, Zn, Co, Fe e Pb.

Em outro trabalho realizado por Buldini et al. [76], a foto-oxidação UV foi aplicada para a degradação de amostras de vinho para a determinação de metais de transição por voltametria de redissolução catódica/anódica de pulso diferencial (DPASV-DPCSV) e espectrometria de absorção atômica com forno de grafite. O processo de mineralização UV foi realizado com  $H_2O_2$  e tempos inferiores a 1 h

foram requeridos para a maioria das amostras. A solução obtida foi diretamente analisada para a determinação dos metais Cd, Co, Cu, Fe, Pb, Ni e Zn, e os resultados obtidos pelas três técnicas foram concordantes.

Ainda em outro trabalho realizado por Buldini et al. [77], a foto-oxidação UV foi aplicada para eliminar interferências causadas por compostos orgânicos em amostras de mel. As amostras foram degradadas com  $H_2O_2$  com tempos de irradiação UV menores do que 1 h. Após a foto-oxidação UV, as soluções obtidas foram diretamente analisadas para a determinação de Fe, Cu, Ni, Zn, Pb, Cd e Co por cromatografia de íons e DPASV-DPCSV. Os resultados obtidos foram concordantes com aqueles obtidos por ET AAS.

Um adequado método para a determinação das razões isotópicas de Pb em vinhos do Porto por ICP-MS foi desenvolvido por Almeida e Vasconcellos [78]. As amostras foram submetidas à irradiação UV com  $H_2O_2$  em um digestor equipado com uma lâmpada de mercúrio de alta pressão de 1000 W por 1,5 h. Após a foto-oxidação UV, as amostras foram filtradas e diluídas com  $HNO_3$  0,5% (v/v). A concentração total de Pb também foi determinada nas amostras por ET AAS. O método foi aplicado para a determinação das razões isotópicas de Pb em 24 amostras de vinho do Porto de diferentes idades e características.

Almeida e Vasconcellos [79] também realizaram a comparação entre métodos de pré-tratamento de amostras por irradiação UV e digestão em microondas para a determinação de razões isotópicas de Pb em vinhos do Porto por ICP-MS. Ambos os procedimentos foram adequados, mas a foto-oxidação UV proporcionou um menor consumo de reagentes e maiores volumes de solução para as análises, sendo então selecionado para estudos seguintes. O método foi aplicado para a determinação das razões isotópicas em oito amostras de vinho do Porto.

Trabalhos que envolvem a aplicação da foto-oxidação como um método complementar de abertura de amostras de alimentos, após a aplicação de métodos mais vigorosos, também são encontrados na literatura.

Golimowski e Gustavsson [80] realizaram a determinação de mercúrio em amostras de músculo de peixe por voltametria de redissolução anódica (ASV), utilizando um disco de ouro como eletrodo de trabalho. As amostras foram descongeladas, dissecadas, liofilizadas e homogeneizadas antes da análise. Dois procedimentos de digestão ácida foram usados para o tratamento das amostras, um sistema usando a mistura  $HNO_3/HClO_4$  e outro  $HNO_3/H_2SO_4$ . No sentido de

completar a oxidação, as amostras foram submetidas à irradiação UV. As concentrações obtidas para as amostras de músculo de peixe foram de 19,6; 0,84 e 5,1 µg/g de peso seco. Os resultados foram comparados com aquelas obtidos por análise de ativação de nêutrons (NAA) e boa concordância foi encontrada.

## **CAPÍTULO 3**

### **A IMPORTÂNCIA DA DETERMINAÇÃO DE METAIS EM ALIMENTOS**

#### **4.1 INTRODUÇÃO**

O conhecimento dos níveis de metais em alimentos é uma questão relevante por diversas razões. A presença de metais em determinados níveis nos alimentos tem um importante papel na nutrição humana, seja pela essencialidade ou pela toxicidade destes [81-83]. Sendo assim, a obtenção de dados precisos sobre a composição elementar dos alimentos se faz necessária para se estabelecer uma adequada ingestão de nutrientes essenciais, bem como para uma adequada avaliação dos níveis de exposição aos elementos tóxicos por ingestão [81]. Além disso, a concentração de metais pode ser um significativo parâmetro sobre a qualidade e conservação de determinados produtos alimentícios [84].

Em vista disso, existe uma constante preocupação por parte de órgãos governamentais e da comunidade científica a cerca dos níveis de metais em alimentos, não sendo em vão que a concentração de vários metais em diferentes tipos de alimentos de diversos países tem sido tema de muitos estudos e níveis máximos de tolerância para contaminantes têm sido estabelecidos e constantemente revisados por legislações no mundo todo [23,82].

Vinho e iogurte são alimentos amplamente consumidos no mundo devido ao sabor e ao valor nutricional. Ambos os produtos podem ser fontes significativas de minerais e proporcionar benefícios à saúde. Dessa maneira, vinho e iogurte são alimentos que merecem atenção pela relevância nutricional e toxicológica que ambos apresentam.

#### **4.2 O IOGURTE**

##### **4.2.1 Generalidades**

O iogurte é definido como o produto lácteo fresco obtido a partir da fermentação ácida do leite pela ação específica de culturas pró-simbióticas das bactérias *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* [85-92]. Durante a fermentação, estas bactérias convertem a lactose presente no



leite em ácido láctico [85,87]. Outras bactérias lácticas, como o *Lactobacillus acidophilus* e o *Bifidobacterium*, podem também ser adicionadas para a produção de iogurtes com características desejáveis [85,88,89]. Trata-se de um produto amplamente consumido no mundo e apreciado por indivíduos de diferentes faixas etárias, principalmente crianças [92].

Acredita-se que o iogurte teve a sua origem em tribos nômades dos Bálcãs a milhares de anos atrás, provavelmente primeiro por acidente e depois como um meio de conservação do leite [85]. A própria palavra iogurte tem etimologia turca que provém da palavra *yoghurma* que tem o significado de “engrossar” [91].

O processo de elaboração do iogurte era originalmente simples, mas ao longo dos anos tornou-se bastante sofisticado. Atualmente, o iogurte é produzido sob condições cuidadosamente controladas [85,92]. Inicialmente, realiza-se a seleção criteriosa das matérias-primas. O leite utilizado deve atender a determinados parâmetros e ser de alta qualidade [91]. As culturas lácticas são adicionadas ao leite previamente pasteurizado e homogeneizado, sendo então aquecido numa incubadora por 4 a 5 horas a 45 °C para que ocorra a fermentação [85,91].

Os iogurtes podem ser classificados de acordo com o teor de matéria gorda em: iogurtes com creme (matéria gorda mínima de 6g/100g), integrais (matéria gorda mínima de 3g/100g), parcialmente desnatados (matéria gorda máxima de 2,9g/100g) e desnatados (matéria gorda máxima de 0,5g/100g) [85,91,93]. Também podem ser classificados de acordo com o processamento, sendo de dois tipos: o tradicional ou natural, e o batido [91,94]. Ainda podem ser classificados de acordo com a adição ou não de frutas ou aromas em: iogurtes naturais e com polpa de frutas [91,95].

#### **4.2.2 A importância da determinação de metais em iogurte**

O iogurte pode representar uma importante fonte de nutrientes essenciais na dieta humana, como vitaminas e minerais [88,89,96,97,]. Pode contribuir significativamente para as necessidades diárias recomendadas de cálcio, fósforo, magnésio e zinco [95,97,98]. Além disso, é um alimento mais facilmente assimilado na digestão do que o leite fresco, pois apresenta bem menos lactose, mais aminoácidos e ácidos graxos livres, e alguns minerais, como o cálcio, estão mais biodisponíveis no iogurte do que no leite [88,96,98,99].

Devido à presença de culturas vivas de bactérias ácido-láticas, o iogurte também oferece benefícios à saúde por causa de suas propriedades terapêuticas [97,99]. As bactérias ácido-láticas ingeridas resistem parcialmente à acidez gástrica e passam vivas para o trato gastrointestinal, no qual ajudam a equilibrar a microflora [89,100]. Muitos estudos têm demonstrado as atividades antitumorais e imunológicas deste produto [88,89,100]. Além disso, algumas bactérias ácido-láticas são adicionadas ao iogurte por suas propriedades probióticas [89].

Diante de tudo que foi exposto, torna-se importante o desenvolvimento de métodos analíticos visando à determinação de metais em amostras de iogurte. No entanto, trata-se de uma matriz complexa rica em compostos orgânicos, bem como proteínas e gordura. Desse modo, a análise de amostras de iogurte requer usualmente uma etapa de preparação da amostra, principalmente quando técnicas de espectrometria atômica são empregadas para a determinação.

Na literatura são poucos os trabalhos encontrados que envolvem a determinação de metais em iogurte. Em sua maioria, estes trabalhos descrevem a aplicação de procedimentos de abertura convencionais para o preparo das amostras de iogurte, tais como digestão ácida e técnica de redução a cinzas [95,97,101,102]. Dessa forma, torna-se oportuno a aplicação de estratégias alternativas para o preparo de amostras de iogurte visando à determinação de metais.

## **4.3 O VINHO**

### **4.3.1 Generalidades**

Vinho é uma bebida alcoólica obtida a partir da fermentação de açúcares naturais presentes no mosto simples de uva sã, fresca e madura pela ação de leveduras [103,104]. É uma bebida amplamente consumida em muitas partes do mundo e que tem milhares de anos de tradição [105,106]. Apresenta alto valor comercial e importância social. Atualmente, a produção e consumo mundiais de vinho é superior a  $2 \times 10^{10}$  L por ano [106].

A produção de vinho é um processo complexo do ponto de vista microbiológico e bioquímico [107]. As leveduras são os principais microorganismos responsáveis pela conversão dos açúcares presentes na uva em etanol, dióxido de carbono e metabólitos minoritários associados com o *flavour* do vinho [108].

*Saccharomyces cerevisiae* é a levedura freqüentemente utilizada como cultura iniciadora da fermentação para a produção de vinho, a partir de mostos de uva contendo usualmente 16-26% (m/v) de açúcar [109]. As espécies de uva usadas devem ser quimicamente balanceadas para que não haja necessidade da adição de açúcar, enzimas ou nutrientes [103]. O processo de fermentação pode ser conduzido em batelada ou no modo contínuo. No entanto, quase todo o vinho é produzido pela fermentação em batelada. Neste modo de produção, o mosto de uva é colocado em tanques ou barris e mantido até a completa fermentação, geralmente após 5-10 dias. A fermentação pode ser espontânea ou natural, ou iniciada a partir de leveduras adicionadas. Entretanto, este modo de fermentação apresenta algumas desvantagens, como baixa eficiência de fermentação e necessidade da separação das leveduras do produto ao final do processo. Em vista disso, tecnologias têm sido desenvolvidas para a imobilização de células microbianas para aplicações em fermentações no modo contínuo. Reatores de células imobilizadas proporcionam fermentações mais rápidas e eficientes, além de eliminar a necessidade da separação das células do produto final. Usualmente, a matriz das células imobilizadas é empacotada numa coluna e o material para fermentação é então passado através da coluna, obtendo-se o produto desejado na saída [110].

Existe uma série de fatores que afetam a qualidade do vinho, como a região de cultivo das videiras, o tempo de colheita das uvas, o processo de fermentação e o tempo de armazenamento. Todos esses fatores têm grande influência sobre a composição e concentração dos compostos presentes no vinho. É possível, até mesmo, classificar e caracterizar o vinho a partir de informações qualitativas e quantitativas da sua composição química [111].

De acordo com a legislação brasileira, os vinhos são classificados quanto à classe, à cor e ao teor de açúcar. Quanto à classe são classificados em: vinho de mesa, leve, fino, espumante, frisante, gaseificado, licoroso e composto. Quanto à cor os vinhos são classificados como: tinto; rosado, rose ou clarete; e branco. Os vinhos são classificados quanto ao teor de açúcar em: nature; extra-brut; brut; seco, sec ou dry; meio doce, meio seco ou semi-sec; suave; e doce [104].

### 4.3.2 A importância da determinação de metais em vinho

Diversos estudos têm demonstrado que o consumo moderado de vinho, especialmente vinho tinto, pode proporcionar benefícios à saúde e longevidade quando combinado com uma dieta balanceada [105,106,112]. O consumo moderado de vinho pode também representar uma importante fonte de nutrientes e contribuir significativamente para as necessidades diárias de elementos essenciais para o organismo humano, tais como K, Ca, Mg, Co, Fe, Cu, Mn, Mo, Ni e Zn [105,112]. No entanto, pode ser fonte de elementos tóxicos como Pb, Cd e As, principalmente quando ingerido de forma excessiva [105,106,112,113].

A composição mineral do vinho é influenciada por diversos fatores, sejam estes de fontes naturais, como solo, clima e tipo de uva, ou devido a contaminações durante o processo de produção, emissões atmosféricas e aplicações de pesticidas, fungicidas e fertilizantes. A composição mineral do vinho tem grande influência em sua qualidade e é fundamental para a sua caracterização, tipificação, controle de autenticidade e toxicidade [103,105,106,112-117].

Muitos metais presentes no vinho são importantes para uma fermentação alcoólica eficiente. Ca, K, Mg e Na participam na regulação do metabolismo celular de leveduras através da manutenção adequada do pH e equilíbrio iônico. Cu, Fe, Mn e Zn, entre outros metais-traço, também são importantes para as leveduras, uma vez que estes são necessários para ativação de metalo-enzimas [103,118-120].

No entanto, o enriquecimento do vinho em alguns metais pode originar fenômenos depreciativos da sua qualidade. Deste modo, características organolépticas do vinho podem ser afetadas, incluindo sabor, frescor, aroma e cor, principalmente devido a fenômenos de precipitação, oxidação ou turvação durante o processo de fermentação, maturação e armazenamento [103,115].

Cu, Fe, Mn e Zn são apontados como os principais responsáveis por mudanças na estabilidade e modificações da qualidade sensorial do vinho [103,117,120,121]. O processo de oxidação do vinho, por exemplo, está diretamente relacionado com a concentração de Cu, Fe e Mn [103,113,117-122]. Neste contexto, manganês e ferro desempenham um papel importante nos processos químicos envolvendo o acetaldeído: manganês favorece a sua formação e ferro catalisa a sua combinação com compostos fenólicos para produzir precipitados [122].

Em vista de tudo que foi exposto, percebe-se que inúmeros são os fatores que tornam relevante o estabelecimento de métodos para a determinação de metais em amostras de vinho. Embora seja uma matriz líquida, a análise direta de vinho por técnicas de espectrometria atômica, como FAAS e ICP OES, não é simples, pois o vinho é uma matriz complexa que contém etanol, açúcares, antocianinas, taninos, fenóis, e outras substâncias orgânicas. A aspiração direta de vinho em FAAS, por exemplo, pode provocar oscilações na chama e acúmulo de depósitos sólidos sobre a cabeça do queimador [120]. Assim, a determinação de metais em vinhos requer freqüentemente uma etapa de preparação das amostras quando esta técnica é empregada para a determinação.

## CAPÍTULO 4

### A ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA EM CHAMA

#### 5.1 INTRODUÇÃO

Dentre as técnicas instrumentais empregadas para a análise elementar inorgânica, as técnicas de Absorção Atômica (AA) são as mais utilizadas para a determinação de uma gama de elementos numa diversidade de matrizes biológicas, ambientais, geológicas e de alimentos, sendo consideradas técnicas analíticas bem sucedidas [123,124].

O princípio destas técnicas se baseia no fenômeno de absorção de energia radiante por átomos livres no estado gasoso [123,125,126]. A etapa de atomização, isto é, a conversão do analito em átomos livres no estado gasoso, é considerada como o mais importante processo na análise por AAS [126]. Diferentes tipos de atomizadores têm sido empregados para este propósito, sendo os mais utilizados a chama, na espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS); e o tubo de grafite, na espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (ETAAS) [123,125,126].

A técnica de chama é a mais antiga dentre as técnicas de AAS, tendo seu desenvolvimento em 1955, por Sir Allan Walsh, e sua disponibilização comercial a partir de 1962 [126,127]. Desde então, a FAAS tornou-se uma técnica analítica bem estabelecida que pode ser aplicada para a determinação de 68 elementos numa variedade de matrizes. Devido as suas vantagens, as quais incluem relativa simplicidade de operação e custos operacional e instrumental relativamente baixos, esta técnica tornou-se popular e adequada para análises de rotina, estando presente na maioria dos laboratórios que lidam com a análise elementar inorgânica [127].

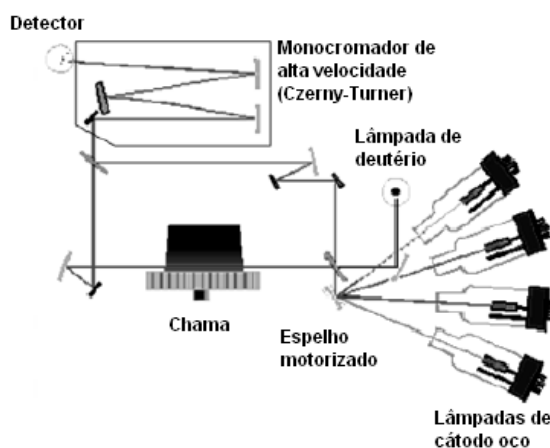
No entanto, técnicas de AAS apresentam algumas desvantagens, como o fato de serem consideradas e usadas como técnicas monoelementares. Neste contexto, algumas propostas têm sido estabelecidas no sentido de desenvolver a AAS como técnica multielementar para a determinação sequencial ou simultânea [123,124,127,128]. Abordagens incluindo sistemas de modo de sequência rápida e fonte contínua de alta resolução são algumas destas propostas.

## 5.2 ABSORÇÃO ATÔMICA EM CHAMA SEQUÊNCIAL

Em sistemas de FAAS convencional, a determinação é efetuada pela medida do sinal de um elemento por vez para todas as amostras e padrões. Esse processo é repetido para todos os elementos até que a sequência da análise esteja completa. Então, para cada elemento, novas condições devem ser ajustadas o que acaba diminuindo a frequência analítica da técnica.

Usando o modo de sequência rápida, a determinação é realizada pela medida sequencial do sinal de todos os elementos sem que a solução da amostra ou padrão seja retirada do sistema de aspiração. Pela medida de todos os elementos em uma única solução antes de proceder para a subsequente solução, o tempo de demora e o tempo total da análise são reduzidos. Como consequência, a frequência analítica é aumentada, sendo possível alcançar ou até mesmo superar a frequência analítica de um ICP OES sequencial [127].

O sistema de FS-FAAS baseia-se em um programa que permite alterar as condições de operação do equipamento entre as medidas, são elas: seleção e corrente da lâmpada, abertura da fenda do monocromador, posição da rede de difração, vazão dos gases e altura da fenda do monocromador. O programa altera as condições para cada elemento em um curto intervalo de tempo, cerca de 2 s, até completar a sequência. As medidas ocorrem em ordem decrescente dos comprimentos de onda dos elementos a serem medidos [23]. A Figura 4 mostra a configuração óptica de um espectrômetro de absorção atômica em chama sequencial.



**Figura 4.** Diagrama esquemático da configuração óptica de um equipamento de FS-FAAS (Adaptado de: DA SILVA, 2006).

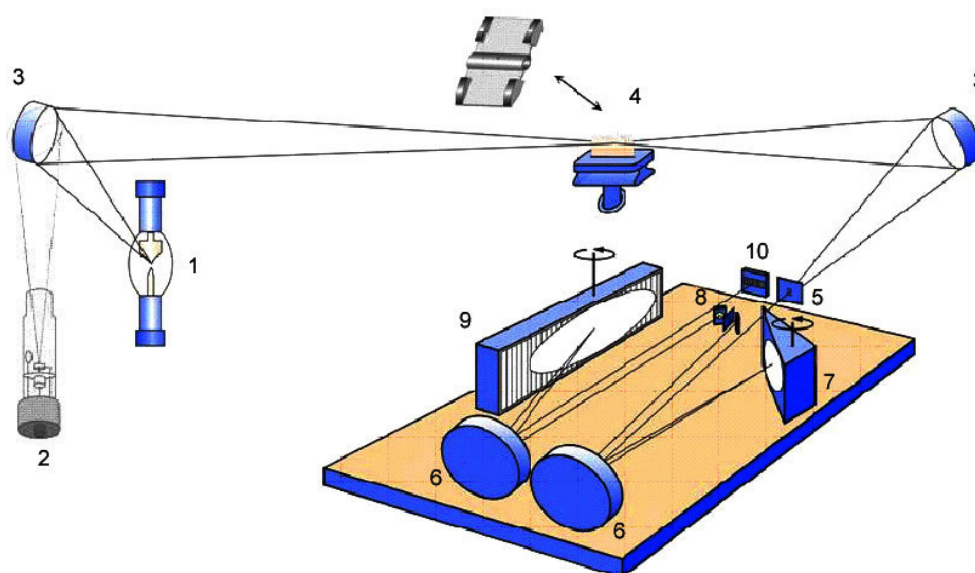
Quatro importantes parâmetros instrumentais são pré-requisitos essenciais para se atingir sucesso na operação de sequência rápida [127]:

- Todas as lâmpadas de cátodo oco devem ser operadas simultaneamente no modo sequencial rápido;
- Lâmpadas devem estar localizadas em posições fixas, que não requerem realinhamento. Seleção de lâmpadas individuais deve ser realizada usando um espelho focalizador motorizado, que é movido apenas alguns graus para focar o feixe de luz direcionado ao sistema ótico do espectrômetro;
- Monocromador de alta velocidade (velocidade de rotação de  $2000 \text{ nm min}^{-1}$ ), assegurando mínimo atraso na mudança de comprimento de onda para cada elemento a ser determinado, e;
- Vazão dos gases controlada eletronicamente a partir de um software programável de controle de gás, que é capaz de ajustar o fluxo de gás necessário em menos de um segundo. Esse controle do gás consiste de uma válvula solenóide, que opera em 33 Hz.



### 5.3 ABSORÇÃO ATÔMICA EM CHAMA DE FONTE CONTÍNUA E ALTA RESOLUÇÃO

A espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua (HR-CS AAS) constitui a nova geração da AAS, apresentando uma série de vantagens em comparação com a AAS convencional. A configuração básica de um equipamento de HR-CS AAS, utilizado atualmente, consiste de uma lâmpada de arco curto de xenônio de alta intensidade de emissão, um duplo monocromador *echelle* (DEMON) com um poder de resolução de  $\lambda/\Delta\lambda = 140.000$  e um detector com arranjo linear com dispositivo de carga acoplada (CCD) com uma resolução de cerca de 2 pm por *pixel* na faixa do UV distante. A Figura 1 apresenta um arranjo esquemático de um HR-CS AAS, com a configuração utilizada atualmente [129,130].



**Figura 5.** Representação esquemática de um HR-CS AAS. (1) lâmpada de arco curto de xenônio; (2) lâmpada de neônio; (3) espelhos elipsoidais; (4) atomizador; (5) fenda de entrada do monocromador; (6) espelhos parabólicos; (7) prisma em arranjo Littrow; (8) espelhos de deflexão e fenda intermediária; (9) rede echelle; (10) detector CCD (Fonte: WELZ, 2005).

A lâmpada de arco curto de xenônio (1) de alta pressão (17 bar quando fria) opera em modo *hot spot*, que é caracterizado pelo aparecimento de um plasma extremamente pequeno próximo ao cátodo, e emite radiação numa faixa contínua de

190 a 900 nm. A lâmpada é operada a uma potência de 300 W e é constituída por dois eletrodos com uma distância de 1 mm entre eles [129].

A radiação da CS é focada através do atomizador para a fenda de entrada do espectrômetro usando dois espelhos elipsoidais (3) e é, então, dirigida ao monocromador duplo de alta resolução (DEMON), onde incidirá em um prisma (7) e em uma rede de difração *echelle* (9) em arranjo Littrow. O prisma é usado para a pré-dispersão da radiação incidente e uma fenda intermediária (8) separa a faixa espectral de interesse que entra no segundo monocromador, uma rede de difração *echelle*, que fornece a alta resolução de aproximadamente 2 pm por *pixel* no ultravioleta. Desta forma, o comprimento de onda de interesse é selecionado pela rotação do prisma e da rede de difração para posições pré-ajustadas, através de motores de passo sobre os quais estes componentes estão fixados. A estabilização do comprimento de onda é realizada por uma lâmpada de neônio (2) cujo feixe está posicionado em frente à fenda intermediária [129,130].

A radiação, altamente resolvida, atinge o detector que é constituído por um arranjo linear de dispositivos de carga acoplada (CCD) (10) com 512 *pixels*, 200 dos quais são utilizados com propósitos analíticos. Todos os 200 *pixels* são iluminados e lidos simultaneamente e a intensidade de radiação é convertida em absorvância para cada *pixel* individualmente. Isto significa que todo ambiente espectral a  $\pm 200$  pm em torno da linha analítica na região do ultravioleta e até  $\pm 500$  pm na região visível torna-se “visível”, fornecendo uma série de informações indisponíveis em instrumentos convencionais de AAS. Enquanto que em espectrometria de absorção atômica de fonte de linha (LS AAS) só a absorvância (com chama como atomizador) ou absorvância *versus* tempo (com atomizador eletrotérmico) é medida, o detector com arranjo linear de dispositivos de carga acoplada (CCD - empregado no HR-CS AAS) acrescenta o comprimento de onda como terceira dimensão [129,130].

A intensidade de radiação da CS é cerca de duas ordens de grandeza maior do que a intensidade de uma lâmpada de cátodo oco. Como em AAS o ruído é inversamente proporcional a raiz quadrada da intensidade de radiação, uma melhora na intensidade da radiação emitida resulta em uma correspondente melhora na precisão e no limite de detecção. Como a CS tem a mesma intensidade de emissão em toda a faixa espectral de interesse, linhas secundárias podem ser utilizadas sem compromissos ou perdas de precisão.

Uma importante característica do *software* é a correção automática para todos os eventos que são contínuos em relação à faixa espectral observada, isto é, eventos que influenciam similarmente todos os *pixels* do detector. Embora todos os *pixels* sejam iluminados pela mesma fonte de radiação e “lidos” simultaneamente, apenas alguns deles serão utilizados para medir a absorção atômica. Com isto, os outros *pixels* podem ser utilizados para corrigir variações na intensidade de emissão da CS bem como absorção contínua de fundo. Uma vez que todos os *pixels* são iluminados e “lidos” simultaneamente, mesmo as mudanças mais rápidas na intensidade de emissão serão perfeitamente corrigidas [129,130]. Esta característica do software possibilita a análise direta de amostras que envolvem emissão de altos fundos (*background*) [131- 134].

O software também possibilita a correção de qualquer absorção molecular com estrutura rotacional fina (como as causadas por NO, por exemplo), mesmo se houver uma sobreposição espectral e temporal com o sinal do analito. A correção deste tipo de fundo é feita pela subtração de um espectro de referência utilizando um algoritmo dos mínimos quadrados [129,135,136].

Como o equipamento utiliza uma fonte contínua e um monocromador duplo com uma rede *echelle*, é possível chegar a qualquer linha dentro de um período de tempo muito curto, bem inferior a 1 s. Esse recurso permite que o modo seqüencial rápido seja executado para determinações multielementares seqüenciais, com a grande vantagem de que as condições da chama e da altura do queimador também podem ser otimizadas sob o controle do computador para cada elemento [129]. Embora os espectrômetros disponíveis para HR-CS AAS não sejam designados para determinações multielementares simultâneas, o uso de 200 *pixels* independentes para a detecção e uma fonte de radiação contínua de alta intensidade torna possível a determinação simultânea de dois ou mais elementos, desde que estes elementos possuam linhas de absorção dentro da faixa espectral compreendida pelo detector [137,138].

Uma importante aplicação da HR-CS AAS inclui também a possibilidade da determinação de elementos químicos não-metais, tais como fósforo [139], bromo [140], iodo [141] e enxofre [142].

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GERAL**

O presente trabalho teve como objetivo geral desenvolver métodos analíticos simples, rápidos e confiáveis baseados na aplicação de estratégias alternativas de preparo de amostras para a determinação de metais em alimentos por espectrometria de absorção atômica com chama.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Desenvolver um método analítico baseado na aplicação da amostragem de suspensão como estratégia alternativa para o preparo de amostras de iogurte visando a determinação de zinco por HR-CS FAAS;

Desenvolver um método analítico baseado na aplicação da foto-oxidação UV como estratégia alternativa para o preparo de amostras de vinho para a determinação de ferro e manganês por FS FAAS;

Aplicar os métodos desenvolvidos na análise de amostras reais.

## CAPÍTULO 5

### USO DA AMOSTRAGEM DE SUSPENSÃO PARA DETERMINAÇÃO DE ZINCO EM IOGURTE POR HR-CS FAAS

#### 6.1 PARTE EXPERIMENTAL

##### 6.1.1 Instrumentação

Um espectrômetro de absorção atômica com chama de fonte contínua e alta resolução Analytik Jena Modelo ContrAA 300 (GLE, Berlim, Alemanha), equipado com uma lâmpada de xenônio de arco curto XBO 301 com uma potência nominal de 300 W em funcionamento no modo hot-spot como uma fonte de radiação contínua, foi utilizado para a análise (Figura 5). Uma chama ar-acetileno foi utilizada para a atomização de zinco. Todas as medidas de absorvância foram realizadas em triplicata para soluções de brancos, soluções analíticas e amostras usando a linha principal do zinco (213,857 nm). A vazão de aspiração foi mantida em  $5,0 \text{ mL min}^{-1}$  e o equipamento foi utilizado sob condições otimizadas, as quais foram obtidas a partir da opção *Automatic optimization* disponível no software do HR-CS FAAS (Tabela 1).



**Figura 6.** Espectrômetro de absorção atômica com chama de fonte contínua e alta resolução (HR-CS FAAS).

**Tabela 1.** Condições operacionais do HR-CS FAAS.

Parâmetro	Condição
Vazão de ar-C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> (L min <sup>-1</sup> )	50,0
Altura do queimador (mm)	6,0

Um banho ultrassônico VWR modelo 75 D (Cortland, New York, USA) foi utilizado para o preparo das suspensões.

Um bloco digestor de alumínio Tecnal modelo TE-040/25 (Piracicaba, São Paulo, Brasil) foi utilizado para a digestão das amostras.

Uma centrífuga Eppendorf modelo 5804 foi usada para a centrifugação das suspensões.

### 6.1.2 Amostras, reagentes e soluções

Todos os reagentes foram de grau analítico. Água ultrapura utilizada no preparo das soluções foi obtida de um sistema EASY pure RF (Barnstedt, Dubuque, IA, USA). Ácidos nítrico, clorídrico e fórmico foram de qualidade Suprapur (Merck, Darmstadt, Alemanha). Toda vidraria foi mantida durante a noite em solução de ácido nítrico 10% (v/v) para descontaminação. Antes do uso, a vidraria foi enxaguada com água deionizada e seca em um ambiente livre de poeira.

Solução estoque de zinco de 25,0 µg mL<sup>-1</sup> foi preparada a partir da diluição de uma solução de zinco de 1000 µg mL<sup>-1</sup> (Merck) com uma solução de ácido clorídrico 1% (v/v).

Soluções de calibração foram preparadas a partir da solução estoque de zinco de 25,0 µg mL<sup>-1</sup> pela apropriada diluição com solução de ácido clorídrico 2,0 mol L<sup>-1</sup>.

O material de referência certificado utilizado para a confirmação da exatidão foi o SRM 1549 de leite em pó desnatado da NIST (National Institute of Standard and Technology, NIST, Gaithersburg, MD, USA).

As amostras de iogurte investigadas neste trabalho foram de marcas localmente disponíveis, coletadas em supermercados da Cidade de Salvador, Bahia, Brasil.

### **6.1.3 Preparo das amostras**

#### **6.1.3.1 Preparação das suspensões**

Uma massa de 1,0 g de amostra de iogurte foi diretamente pesada em balão volumétrico de 25 ml e diluída com solução de ácido clorídrico 2,0 mol L<sup>-1</sup>. Em seguida, as suspensões foram colocadas em um banho ultra-sônico por 20 min e, depois, foram diretamente aspiradas através do nebulizador para determinação de zinco por HR-CS FAAS. Todas as amostras foram analisadas em triplicata.

#### **6.1.3.2 Digestão das amostras de iogurte**

Uma massa de 1,0 g de amostra de iogurte foi diretamente pesada em um tubo de digestão e volumes de 5,0 mL de ácido nítrico concentrado e 4,0 mL de peróxido de hidrogênio 30% (v/v) foram adicionados. A mistura foi aquecida em bloco digestor e evaporada até quase secura. Depois, a solução residual foi transferida para um balão de 25 ml e diluída com solução de ácido clorídrico 1% (v/v).

#### **6.1.4 Curvas analíticas**

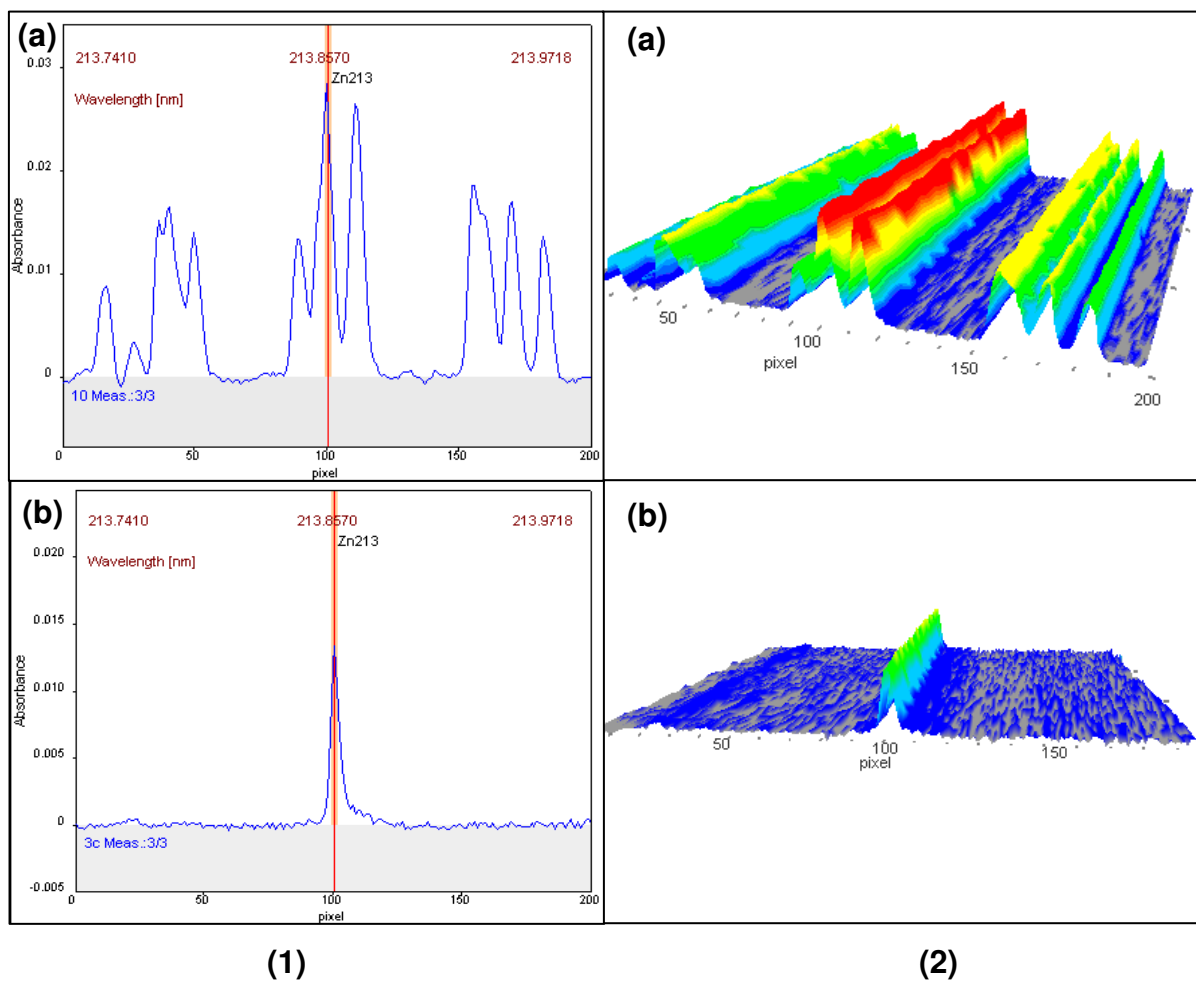
A técnica de calibração externa foi utilizada para a quantificação zinco e as curvas analíticas foram estabelecidas usando padrões aquosos. As soluções dos padrões foram preparadas a partir de diluições adequadas de uma solução estoque de zinco de 25,0 µg mL<sup>-1</sup> com uma solução de ácido clorídrico 2,0 mol L<sup>-1</sup> para um volume final de 25 mL, resultando em soluções com concentrações finais na faixa de 0,05 a 0,5 µg mL<sup>-1</sup> de zinco.

#### **6.1.5 Otimização**

A otimização das condições experimentais para o preparo das suspensões foi realizada utilizando a metodologia univariada, com o estudo das seguintes variáveis: natureza e concentração do ácido, tempo de sonicação e massa de amostra. Todos os experimentos foram realizados utilizando um volume de suspensão de 25 mL.

### 6.1.6 Correção de fundo por mínimos quadrados

Na etapa de otimização e na análise de amostras de iogurte digeridas, a interferência espectral causada por bandas de absorção molecular de NO, devido ao uso de ácido nítrico, foi corrigida pelo software do equipamento. (Figura 6). A correção foi feita a partir da subtração de um espectro de referência de uma solução de ácido nítrico de  $1,0 \text{ mol L}^{-1}$  utilizando o algoritmo dos mínimos quadrados.



**Figura 7.** Correção da interferência espectral causada por bandas de absorção molecular de NO por algoritmo dos mínimos quadrados. Espectros bidimensionais (1): (a) sem correção e (b) após correção. Espectros tridimensionais (2): (a) sem correção e (b) após correção.



## 6.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 6.2.1 Otimização das condições experimentais

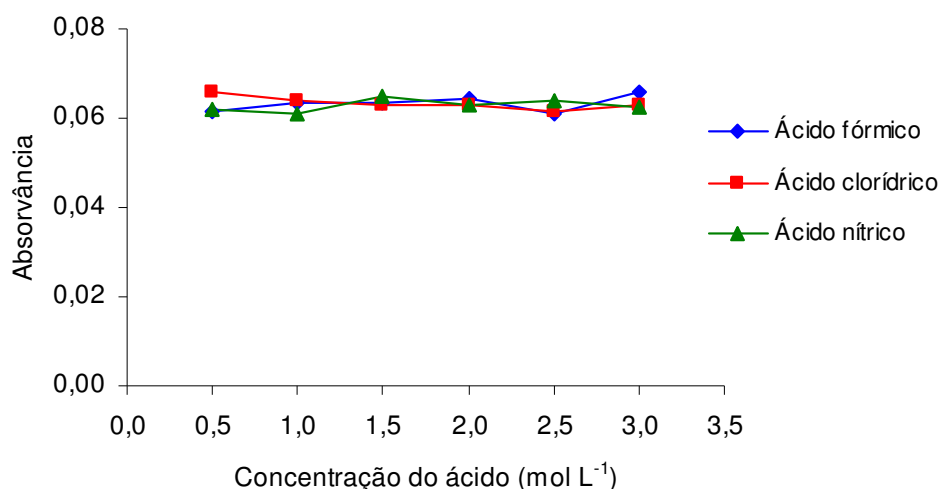
As variáveis estudadas e seus respectivos intervalos são apresentados na Tabela 2. O tipo de ácido empregado para o preparo das suspensões também foi estudado, sendo selecionados os ácidos nítrico, clorídrico e fórmico. A escolha destas variáveis, bem como seus respectivos intervalos, foi fundamentada em trabalhos encontrados na literatura [10,143,144], bem como na experiência do nosso grupo com trabalhos anteriormente desenvolvidos [20-22,40,43].

**Tabela 2.** Variáveis estudadas e seus respectivos intervalos.

Variável	Intervalo
Concentração do ácido ( $\text{mol L}^{-1}$ )	0,5 – 3,0
Tempo de sonicação (min)	0 – 40
Massa da amostra (g)	0,25 – 2,0

#### 6.2.1.1 Tipo e concentração do ácido

Ácidos nítrico, clorídrico e fórmico foram investigados como meio diluente para o preparo das suspensões no intervalo de concentração de 0,5 a 3,0  $\text{mol L}^{-1}$ . Este estudo foi realizado na condição experimental de massa da amostra de 1,0 g e tempo de sonicação de 20 min.

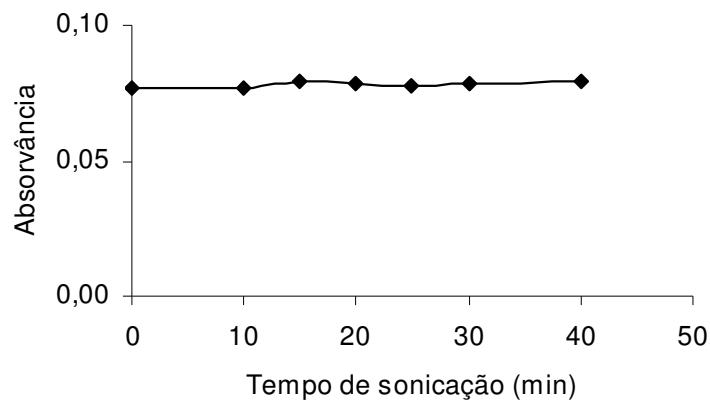


**Figura 8.** Estudo do tipo e concentração do ácido.

Os resultados demonstraram que não há diferenças nos sinais analíticos para os ácidos estudados e uma sensibilidade máxima foi obtida a uma concentração de  $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ , que se manteve constante até  $3,0 \text{ mol L}^{-1}$  (Figura 7). No entanto, foi observado que suspensões preparadas com concentrações de ácido inferior a  $2,0 \text{ mol L}^{-1}$  causaram ocasional bloqueio no sistema de nebulização do aparelho. Então, ácido clorídrico na concentração de  $2,0 \text{ mol L}^{-1}$  foi estabelecido como meio diluente para a preparação das suspensões. Ácido clorídrico foi escolhido por este ser o mais adequado para o preparo de soluções para a determinação de metais por FAAS, pois o uso de ácidos oxigenados favorece a formação de óxidos metálicos de difícil dissociação na chama.

#### 6.2.1.2 Tempo de sonicação

O efeito do tempo de sonicação sobre a preparação das suspensões é mostrado na Figura 8.

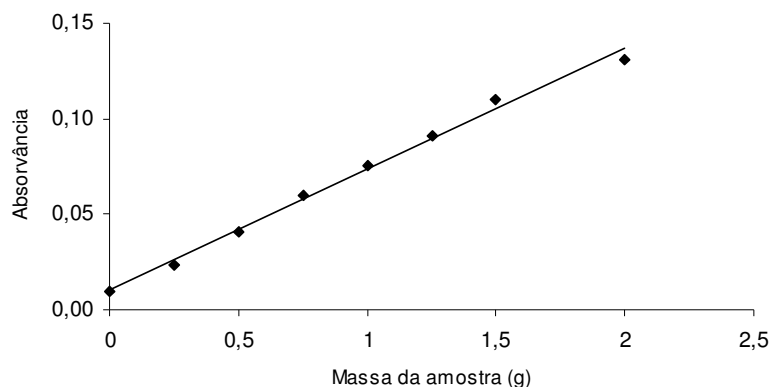


**Figura 9.** Efeito do tempo de sonicação no sinal analítico.

Os resultados demonstraram que não há influência dessa variável no sinal analítico obtido. No entanto, foi observado que suspensões preparadas com tempos de sonicação menores do que 20 min também provocaram problemas de obstrução no sistema de nebulização. Provavelmente, tempos de sonicação inferiores a 20 min não são suficientes para desagregar os aglomerados presentes na suspensão de iogurte. Assim, um tempo de sonicação de 20 min foi estabelecido para a preparação das suspensões.

### 6.2.1.3 Massa da amostra

A relação entre a massa da amostra e a absorvância obtida é apresentada na Figura 9.



**Figura 10.** *Relação entre a massa da amostra e o sinal analítico.*

Os resultados mostraram que as suspensões podem ser preparadas sem problemas de obstrução no nebulizador, se uma massa de amostra de até 1,5 g é utilizada. Nesta faixa, o sinal analítico foi linearmente proporcional obtendo-se um coeficiente de correlação  $r = 0,9996$ . Para uma massa de amostra igual a 2,0 g percebe-se uma significativa perda na linearidade, uma vez que o coeficiente de correlação foi de 0,9969. Isso se deve aos problemas ocasionados pelo uso de suspensões mais concentradas, como o comprometimento da eficiência do transporte. Desta forma, uma massa de amostra de 1,0 g foi estabelecida para o preparo das suspensões.

### 6.2.2 Calibração

A calibração do método foi avaliada através da comparação das inclinações das inclinações de curvas obtidas com padrões aquosos e com adição de analito em cinco amostras de iogurte. Os resultados mostraram boa similaridade entre as inclinações das curvas, todas com coeficientes de correlação superior a 0,999, como pode ser visto na Tabela 3. Isto demonstra que zinco em suspensões de iogurte pode ser quantificado a partir da técnica de calibração externa usando padrões aquosos.

**Tabela 3.** Equações de regressão linear das curvas analíticas.

Sistema	Equações de regressão linear
Meio aquoso	Abs = (0,3168±0,0125)C <sub>Zn</sub> + (0,0040±0,0038) r = (0,9995±0,0052)
Amostra 1	Abs = (0,2921±0,0144)C <sub>Zn</sub> + (0,0724±0,0043) r = (0,9992±0,0060)
Amostra 2	Abs = (0,2961±0,0181)C <sub>Zn</sub> + (0,0686±0,0050) r = (0,9991±0,0070)
Amostra 3	Abs = (0,3058±0,0166)C <sub>Zn</sub> + (0,0371±0,0050) r = (0,9991±0,0069)
Amostra 4	Abs = (0,3034±0,0099)C <sub>Zn</sub> + (0,0450±0,0030) r = (0,9997±0,0041)
Amostra 5	Abs = (0,3038±0,0123)C <sub>Zn</sub> + (0,0384±0,0037) r = (0,9995±0,0051)

### 6.2.3 Validação do método

#### 6.2.3.1 Limites de detecção e quantificação

O limite de detecção (LD) pode ser definido como a menor concentração de analito que pode ser detectada, com determinada certeza estatística. De acordo com as recomendações da IUPAC [145], o LD é determinado como sendo a razão entre o desvio padrão do sinal analítico de dez medidas do branco, multiplicado por um fator de três, e a inclinação obtida da curva analítica, como expresso na Equação 21.

$$LD = 3 \times S_b/b$$

#### Equação 21

O limite de quantificação (LQ) pode ser definido como a menor concentração de analito que pode ser quantificada, com determinada certeza estatística. De acordo com as recomendações da IUPAC [145], o LQ é calculado como a razão entre o desvio padrão do sinal analítico de dez medidas do branco ( $S_b$ ), multiplicado por um fator de dez, e a inclinação obtida da curva analítica ( $b$ ), como mostrado na Equação 22.

$$LQ = 10 \times S_b/b$$

#### Equação 22

Dessa forma, o LD e o LQ calculados para o zinco, a partir de dez medidas do branco, foram de 0,10 e 0,32  $\mu\text{g g}^{-1}$ , respectivamente.

### 6.2.3.3 Aplicabilidade do método

A faixa dinâmica de trabalho (extensão de aplicabilidade) para um determinado método analítico é a região da curva entre a menor concentração que pode ser medida (LQ) até onde a curva desvia-se da linearidade inicial (Limite de Linearidade, LL) [125]. Em métodos analíticos baseados na amostragem de suspensão a faixa de trabalho é limitada pela linearidade da curva de massa (Figura 9), pois, para amostras contendo uma baixa concentração de analito, uma alternativa é aumentar a massa desta amostra na suspensão, fato que dependerá da faixa de linearidade da curva de massa, sendo que esta não deve ser ultrapassada devido a problemas no sistema de nebulização [23]. Para este estudo, o valor da massa utilizada para o preparo das suspensões está limitado em 1,5 g de amostra.

### 6.2.3.4 Precisão

A precisão é um parâmetro que reflete o grau de concordância entre resultados de ensaios independentes obtidos sob condições definidas. Usualmente, a precisão é expressa em termos de desvio padrão relativo (RSD) [145], o qual é calculado a partir da razão entre o desvio padrão das medidas ( $S_m$ ) e a média das medidas ( $X_m$ ), sendo expresso em porcentagem (Equação 23):

$$\text{RSD}\% = (S_m/X_m) \times 100$$

#### Equação 23

Como é um parâmetro que geralmente varia com a concentração do analito, é conveniente a sua determinação para diferentes concentrações do analito [145].

Deste modo, a precisão expressa como desvio padrão relativo (RSD), calculado a partir de dez medidas consecutivas de suspensões, foi de 0,82 e 2,08% para suspensões preparadas a partir de duas amostras de iogurte com as concentrações de zinco de 4,85  $\mu\text{g g}^{-1}$  e 2,49  $\mu\text{g g}^{-1}$ , respectivamente.

### 6.2.3.5 Exatidão

A exatidão é um parâmetro que expressa o grau de concordância entre o resultado experimental obtido e o valor aceito como referência da propriedade

medida. A exatidão de um método analítico é geralmente avaliada por um dos seguintes procedimentos: análise de material certificado (CRM), aplicação de um método de reconhecida exatidão e teste de adição e recuperação [145].

Neste trabalho, a exatidão do método foi avaliada através da análise de material de referência certificado NIST SRM 1549 de leite em pó desnatado, o qual possui valor certificado de  $46,1 \pm 2,2 \mu\text{g g}^{-1}$  de zinco. Aplicando o método proposto foi encontrada uma concentração de zinco de  $44,9 \pm 0,8 \mu\text{g g}^{-1}$ , a qual está em concordância com o valor certificado. O CRM foi preparado do mesmo modo como as suspensões de iogurte utilizando um valor de massa de 0,1 g.

Além disso, foi também realizada a comparação de resultados entre o método proposto e um método de reconhecida exatidão. O método proposto foi aplicado para determinação de zinco em sete amostras de iogurte adquiridas em supermercados da Cidade de Salvador, Bahia, Brasil. As amostras também foram analisadas após digestão usando ácido nítrico concentrado e peróxido de hidrogênio 30% (v/v), e zinco determinado por HR-CS FAAS. Todos os resultados, expressos como intervalo de confiança (ao nível de 95%), são apresentados na Tabela 4.

**Tabela 4.** Determinação de zinco usando amostragem de suspensão e digestão ácida.

Amostra, Nº	Sabor	Classe	Concentração ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	
			Suspensão	Digestão
1	Natural	Integral	4,85±0,33	4,82±0,06
2	Natural	Parcialmente desnatado	4,66±0,07	4,70±0,12
3	Frutas vermelhas	Parcialmente desnatado	2,49±0,11	2,44±0,08
4	Pêssego	Parcialmente desnatado	2,86±0,07	2,95±0,11
5	Mel	Integral	3,44±0,31	3,36±0,29
6	Maracujá	Desnatado	2,19±0,08	2,12±0,27
7	Morango	Integral	3,02±0,23	3,08±0,17

O teor de zinco encontrado nestas amostras variou de 2,19 a  $4,85 \mu\text{g g}^{-1}$ . Estes resultados estão em concordância com dados reportados na literatura [95,97]. Aplicando teste-*t* pareado ao nível de confiança de 95% não houve diferença estatística entre os valores obtidos pelo método de suspensão e aqueles obtidos após a digestão ácida.

#### 6.2.4 Eficiência de extração do método

A eficiência de extração do método proposto foi avaliada sob as condições experimentais otimizadas para quatro amostras de iogurte. A eficiência (Ef) foi calculada como a razão entre os sinais de absorvância obtidos para as suspensões ( $A_s$ ) e os sinais de absorvância obtidos para o sobrenadante das suspensões após centrifugação ( $A_c$ ), sendo expressa em porcentagem (Equação 24). Os resultados obtidos para as quatro amostras de iogurte variaram na faixa de 96 a 103% (Tabela 5), demonstrando que o processo de extração do zinco é completo nas condições experimentais estabelecidas para o procedimento proposto.

$$Ef = (A_s/A_c) \times 100$$

#### Equação 24

**Tabela 5.** *Valores de extração obtidos para Zn em amostras de iogurte.*

Amostra, N <sup>o</sup>	Extração (%)
1	101
2	103
3	100
4	96

## CAPÍTULO 6

### APLICAÇÃO DA FOTO-OXIDAÇÃO UV NA DECOMPOSIÇÃO DE AMOSTRAS DE VINHO PARA A DETERMINAÇÃO DE FERRO E MANGANÊS POR FS-FAAS

#### 7.1 PARTE EXPERIMENTAL

##### 7.1.1 Instrumentação

Para a foto-oxidação das amostras de vinho, um digestor UV construído em laboratório, equipado com três lâmpadas de vapor de mercúrio de baixa pressão de 20 W de potência cada, foi utilizado (Figura 10).



**Figura 11.** Foto-digestor UV utilizado para a fotodegradação das amostras de vinho.

As medidas de absorção molecular foram realizadas utilizando um espectrofotômetro de absorção molecular Varian modelo Cary 5E UV-Vis NIR.

Para a determinação de ferro e manganês, um espectrômetro de absorção atômica com chama Varian modelo SpetrAA 220F (Mulgrave, Victoria, Austrália), equipado com uma lâmpada de deutério como corretor de sinal de fundo e lâmpadas de cátodo oco, foi usado (Figura 11). As condições de operação do equipamento foram as recomendadas pelo fabricante, como mostrado na Tabela 6.





**Figura 12.** Espectrômetro de absorção atômica com chama sequencial (FS-FAAS).

Um medidor de pH Digimed DM20 (Santo Amaro, Brasil) também foi utilizado. A digestão das amostras de vinho foi realizada em placa de aquecimento QUIMIS Q 313/22 (Diadema, São Paulo, Brasil). Vidrarias diversas também foram utilizadas.

**Tabela 6.** Parâmetros operacionais do FAAS.

<b>Parâmetro</b>	<b>Condição</b>
Corrente da lâmpada (mA)	5,0
Comprimento de onda (nm)	248,3 para Fe e 279,5 para Mn
Largura da fenda espectral (nm)	0,1
Vazão de acetileno (L min <sup>-1</sup> )	2,0
Vazão de ar (L min <sup>-1</sup> )	13,5
Altura do queimador (mm)	13,5
Vazão de aspiração (mL min <sup>-1</sup> )	5,0

### 7.1.2 Amostras, reagentes e soluções

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico. Água ultrapura utilizada no preparo das soluções foi obtida de um sistema EASY pure RF (Barnstedt, Dubuque, IA, USA). O ácido nítrico usado foi de qualidade Suprapur (Merck, Darmstadt, Alemanha). Toda vidraria foi mantida durante a noite em solução

de ácido nítrico 10% (v/v) para descontaminação. Antes de utilizar, a vidraria foi enxaguada com água deionizada e seca em um ambiente livre de poeira.

Solução estoque multielementar de ferro e manganês de  $50,0 \mu\text{g mL}^{-1}$  foi preparada a partir da diluição adequada de soluções de ferro e manganês de  $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$  (Merck) com uma solução de ácido nítrico 1% (v/v).

Soluções de calibração foram preparadas a partir da solução estoque multielementar de ferro e manganês de  $50,0 \mu\text{g mL}^{-1}$  pela diluição adequada com solução de ácido nítrico 1% (v/v).

Soluções de tampão acetato (pH 5,0 e 6,0) foram preparadas pela dissolução de 82,0 g de acetato de sódio (Merck) em 1 L de água ultrapura e pH ajustado com ácido acético.

Soluções de tampão tris (pH 7,0, 8,0 e 9,0) foram preparadas pela dissolução de 121,0 g de tris-(hidroximetil)aminometano (Merck) em 1 L de água ultrapura e pH ajustado com ácido clorídrico.

Solução de tampão amoniacal (pH 10,0) foi preparada pela dissolução de 16,1 g de cloreto de amônio (Merck) e 96,3 mL de solução de hidróxido de amônia concentrada (Merck) em 1 L de água ultrapura.

As amostras de vinho investigadas neste trabalho foram adquiridas em supermercados da Cidade de Salvador, Bahia, Brasil.

### **7.1.3 Preparo das amostras**

#### **7.1.3.1 Digestão das amostras de vinho por foto-oxidação**

Um volume de 5,0 mL de vinho foi introduzido em uma placa de Petri, e 2,5 mL de peróxido de hidrogênio 30% (v/v) e 1,0 mL de solução de tampão amoniacal  $1,0 \text{ mol L}^{-1}$  foram adicionados. Em seguida, as amostras foram submetidas à irradiação UV por 30 min. Depois, as soluções obtidas foram transferidas para um balão volumétrico de 10 mL e avolumadas com solução de ácido nítrico  $3,0 \text{ mol L}^{-1}$ . Todas as amostras foram analisadas em triplicata e soluções de branco foram preparadas do mesmo modo que as amostras.

### **7.1.3.2 Digestão ácida das amostras de vinho**

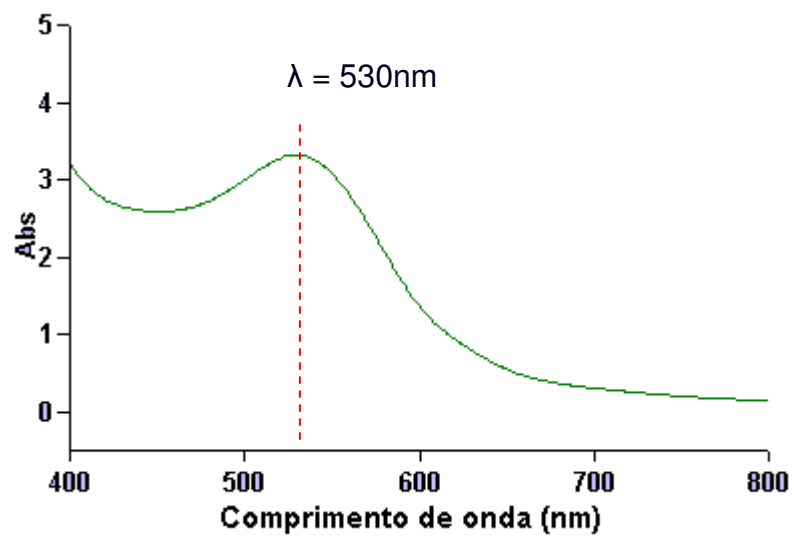
Um volume de 5,0 mL de vinho foi introduzido em um erlenmeyer de 125 mL e 2,0 mL de ácido nítrico concentrado e 2,0 mL de peróxido de hidrogênio 30% (v/v) foram adicionados. A mistura foi aquecida e evaporada a quase secura numa placa de aquecimento, após o qual a solução residual foi dissolvida em água ultrapura, transferida para um balão volumétrico de 10 mL e avolumada com solução de ácido nítrico 1% (v/v). Todas as amostras foram analisadas em triplicata.

### **7.1.4 Curva analítica**

A calibração do método foi estabelecida mediante o emprego de curva convencional utilizando padrões aquosos. As soluções dos padrões foram preparadas pela diluição adequada da solução estoque multielementar de ferro e manganês de  $50,0 \mu\text{g mL}^{-1}$  em ácido nítrico 1% (v/v) para um volume final de 10 mL, resultando em soluções de concentrações finais na faixa de 0,5 a  $3,0 \mu\text{g mL}^{-1}$  para ferro e manganês.

### **7.1.5 Otimização**

As condições experimentais para a foto-oxidação das amostras de vinho foram otimizadas utilizando a metodologia univariada, envolvendo o estudo das seguintes variáveis: pH e concentração da solução tampão, volume de peróxido de hidrogênio e tempo de foto-oxidação. A degradação da amostra foi monitorada medindo-se a absorvância da solução resultante no comprimento de onda de máxima absorção do vinho em 530 nm (Figura 12). Todos os experimentos foram realizados em duplicata utilizando 5,0 mL de uma amostra de vinho tinto.



**Figura 13.** *Espectro obtido de uma solução de vinho tinto diluído com água ultrapura (1:1).*

## 7.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 7.2.1 Determinação das condições experimentais para a foto-oxidação das amostras de vinho

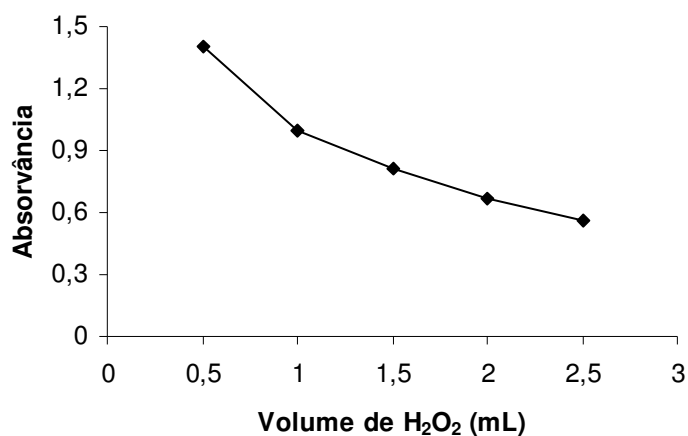
As variáveis estudadas e os seus respectivos intervalos são apresentados na Tabela 7. Estas variáveis, bem como seus respectivos intervalos, foram selecionadas com base em dados encontrados na literatura [49,76] e em experimentos previamente realizados.

**Tabela 7.** Variáveis estudadas e seus respectivos intervalos.

Variável	Intervalo
Volume de peróxido (mL)	0,5 – 2,5
pH	5,0 – 10,0
Concentração do tampão (mol L <sup>-1</sup> )	0,04 – 0,20
Tempo de irradiação (min)	15 – 90

#### 7.2.1.1 Volume de peróxido de hidrogênio

A influência do volume de peróxido de hidrogênio utilizado para a foto-oxidação da amostra é apresentada na Figura 13. Este estudo foi realizado em pH 7,0, tempo de irradiação de 60 min e concentração do tampão de 0,05 mol L<sup>-1</sup>.

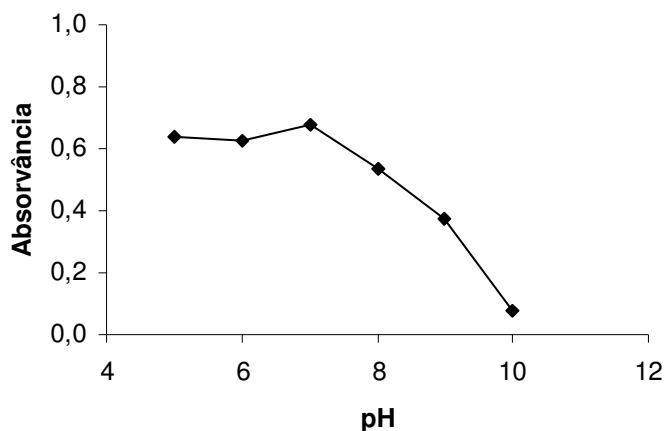


**Figura 14.** Efeito do volume de peróxido de hidrogênio na degradação do vinho.

Obviamente, a degradação aumenta com o aumento do volume de oxidante. Este resultado está de acordo com dados da literatura, que relatam que um aumento da quantidade de peróxido de hidrogênio pode aumentar a degradação de compostos orgânicos presentes no vinho [76]. A interação da radiação UV com peróxido de hidrogênio promove a formação de radicais  $\text{OH}^\bullet$ , os quais aceleram a decomposição dos componentes orgânicos presentes no vinho. Sendo assim, um volume de 2,5 mL de peróxido de hidrogênio concentrado foi usado para todos os experimentos seguintes.

### 7.2.1.2 O efeito do pH

O efeito do pH sobre o processo de oxidação é mostrado na Figura 14. As condições estabelecidas no presente experimento foram volume de peróxido de 2,5 mL, tempo de irradiação de 60 min e a concentração do tampão de  $0,11 \text{ mol L}^{-1}$ .

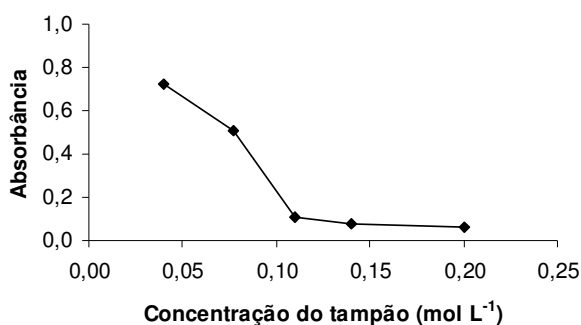


**Figura 15.** Efeito do pH na degradação do vinho.

Observa-se que a máxima degradação da amostra ocorre em pH 10,0. Resultados semelhantes foram obtidos por Buldini [76], que observou que a decomposição dos ácidos carboxílicos e outros ácidos presentes em amostras de vinho ocorre em pH 9,0.

### 7.2.1.3 Concentração do tampão

A concentração da solução de tampão utilizada para a degradação do vinho também foi testada e os resultados são mostrados na Figura 15. Este experimento foi realizado nas condições de volume de peróxido de 2,5, pH 10,0 e tempo de irradiação de 60 min.

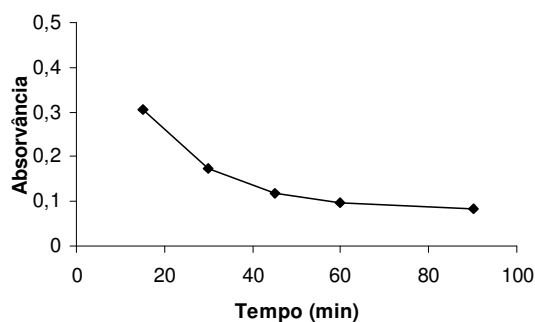


**Figura 16.** Efeito da concentração de tampão na degradação do vinho.

Percebe-se que uma máxima degradação da amostra de vinho é obtida para concentrações de tampão maiores do que 0,10 mol L<sup>-1</sup>, indicando que a ação tamponante no sistema passa a ser efetiva acima dessa concentração. Dessa forma, uma concentração de 0,14 mol L<sup>-1</sup> foi escolhida para os experimentos seguintes.

### 7.2.1.4 Tempo de irradiação

A influência do tempo de irradiação UV na degradação do vinho é mostrada na Figura 16. Um tempo de 30 min de irradiação foi encontrado como suficiente.



**Figura 17.** Efeito do tempo de irradiação na degradação do vinho.

Assim, as condições experimentais estabelecidas para o procedimento de foto-oxidação são: uma solução de tampão de pH 10,0 e concentração de 0,14 mol L<sup>-1</sup>, um volume de peróxido de hidrogênio de 2,5 mL e um tempo de irradiação de 30 min.

### **7.2.2 Calibração**

A sensibilidade do procedimento de foto-oxidação do vinho para a determinação de ferro e manganês por FAAS utilizando a técnica de adição de analito foi avaliada mediante a comparação com a inclinação encontrada para uma curva convencional usando soluções de padrões aquosos. Para ambos os analitos, as inclinações das curvas analíticas obtidas pela técnica de adição de analito são bastante comparáveis com as inclinações obtidas para as curvas empregando padrões aquosos. Para ferro, a inclinação da curva com adição de analito foi de (0,0870±0,0069) mL µg<sup>-1</sup>, sendo bastante comparável com a inclinação obtida para padrões aquosos, (0,0863±0,0067) mL µg<sup>-1</sup>. Para manganês, as inclinações também foram similares, sendo de (0,1850±0,0125) mL µg<sup>-1</sup> para padrões aquosos e de (0,1823±0,0111) mL µg<sup>-1</sup> usando a técnica de adição de analito. Esses resultados demonstram que a proposta de digestão utilizando radiação UV é eficiente para a degradação de amostras de vinho visando à determinação de ferro e manganês por FAAS, e que a quantificação destes metais pode ser feita usando padrões aquosos para calibração.

### **7.2.3 Validação do método**

#### **7.2.3.1 Limites de detecção e quantificação do método**

Limites de detecção e quantificação foram determinados de acordo com as recomendações da IUPAC, sendo calculados a partir de dez medidas consecutivas de soluções de branco. Limites de detecção de 30 e 22 µg L<sup>-1</sup> foram obtidos para ferro e manganês, respectivamente. Já os limites de quantificação foram de 99 e 73 µg L<sup>-1</sup> para ferro e manganês, respectivamente.



### 7.2.3.2 Precisão do método

A precisão, expressa como desvio padrão relativo (RSD), foi de 2,8 e 0,65% para o ferro e de 2,7 e 0,54% para o manganês, para concentrações de 0,5 e 2,0  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , respectivamente.

### 7.2.3.3 Exatidão

Testes de adição e recuperação foram realizados para avaliação da exatidão, uma vez que nenhum material de referência certificado apropriado está disponível para vinho. As recuperações encontradas para seis amostras de vinho tinto foram de 90-111% e 95-107% para ferro e manganês, respectivamente (Tabela 8).

**Tabela 8.** Valores de recuperação obtidos para ferro e manganês aplicando o método proposto.

Amostra, N <sup>o</sup>	Recuperação (%)	
	Ferro	Manganês
1	109	100
2	111	102
3	101	98
4	94	95
5	107	107
6	90	96

A exatidão também foi avaliada mediante a comparação entre os resultados obtidos pelo método proposto e um método de reconhecida exatidão. O procedimento de digestão UV proposto foi aplicado para a determinação de ferro e manganês em seis amostras de vinho tinto usando FAAS. Os resultados foram comparados com aqueles obtidos após digestão ácida e determinação usando FAAS. Todos os resultados, expressos como intervalo de confiança (ao nível de 95%), são mostrados na Tabela 9. A avaliação estatística dos resultados, utilizando um teste *t*-pareado, demonstra que não há diferenças significativas entre os dois procedimentos, considerando que o *t* calculado é de 0,15 e 0,68, para ferro e manganês, respectivamente, enquanto que o *t* crítico para ambos é de 2,57.

**Tabela 9.** *Determinação de ferro e manganês em amostras de vinho (n = 3).*

<b>Amostra</b>	<b>Concentração de Fe (<math>\mu\text{g mL}^{-1}</math>)</b>		<b>Concentração de Mn (<math>\mu\text{g mL}^{-1}</math>)</b>	
	<b>Digestão UV</b>	<b>Digestão ácida</b>	<b>Digestão UV</b>	<b>Digestão ácida</b>
1	1,58 $\pm$ 0,09	1,54 $\pm$ 0,09	1,30 $\pm$ 0,12	1,32 $\pm$ 0,03
2	2,40 $\pm$ 0,03	2,33 $\pm$ 0,06	1,89 $\pm$ 0,13	1,91 $\pm$ 0,09
3	4,45 $\pm$ 0,11	4,51 $\pm$ 0,04	1,71 $\pm$ 0,08	1,70 $\pm$ 0,04
4	1,72 $\pm$ 0,18	1,76 $\pm$ 0,06	1,80 $\pm$ 0,09	1,85 $\pm$ 0,03
5	2,08 $\pm$ 0,05	2,03 $\pm$ 0,12	1,91 $\pm$ 0,02	2,01 $\pm$ 0,08
6	2,77 $\pm$ 0,15	2,81 $\pm$ 0,01	1,83 $\pm$ 0,06	1,75 $\pm$ 0,09

## CONCLUSÕES

A aplicação da amostragem de suspensão e da foto-oxidação UV como procedimentos alternativos para a preparação de amostras levou ao desenvolvimento de métodos analíticos simples, rápidos e confiáveis para a análise de amostras de iogurte e vinho, respectivamente.

O uso da amostragem de suspensão possibilitou a determinação de zinco em amostras de iogurte por HR-CS FAAS pela introdução direta da amostra no sistema de nebulização sem necessidade de adaptações no equipamento. A utilização de uma solução ácida relativamente diluída para o preparo das suspensões tornou o procedimento menos dispendioso, reduzindo o consumo de reagentes e ofereceu menor risco ao operador. O emprego de banho ultrassônico permitiu que o preparo das suspensões fosse realizado com a amostra dentro do próprio balão volumétrico, minimizando riscos de contaminação e perdas de analito. Por todos estes fatores, a amostragem de suspensão proporcionou uma simplificação e redução bastante significativa das operações envolvidas na etapa de pré-tratamento das amostras de iogurte.

A foto-oxidação UV foi útil na degradação dos componentes orgânicos presentes no vinho, eliminando possíveis interferências de matriz, possibilitando a determinação de ferro e manganês por FAAS. O método também apresentou simplicidade, menor custo e ofereceu menor risco ao operador por utilizar reagentes menos corrosivos. Além disso, foi possível a determinação multielementar sequencial dos analitos nas amostras de vinho graças ao programa *Fast-Sequential* disponível no equipamento.

A possibilidade do uso de padrões aquosos para a calibração, em ambos os métodos, proporcionou uma maior simplicidade aos procedimentos estabelecidos, tornando-os apropriados para análises de rotina.

Parâmetros analíticos adequados foram obtidos para ambos os métodos durante o processo de validação, assegurando a confiabilidade dos resultados analíticos, o que por sua vez é imprescindível na análise de alimentos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 
- [1] KRUG, F. J. **Métodos de decomposição de amostras**. In: IV Workshop sobre Preparo de Amostras, 4<sup>a</sup> Ed. Salvador, 2003.
- [2] SKOOG, D. A. **Fundamentos de química analítica**. São Paulo: Thomson, 2006.
- [3] OLIVEIRA, E. Sample preparation for atomic spectroscopy: evolution and future trends. **J. Braz. Chem. Soc.** v. 14, n. 2, p. 174-182, 2003.
- [4] ARRUDA, M. A. Z.; SANTELLI, R. E. Mecanização no preparo de amostras por microondas: o estado da arte. **Quim. Nova**, v. 20, n. 6, p. 638-643, 1997.
- [5] DUTRA, M. J. A.; SANTOS, D. M.; COELHO, N. M. M. Comparação de procedimentos analíticos para preparo de amostras para determinação de cálcio e magnésio em leite. **Rev. Analytica**, n. 12, p. 36-40, 2004.
- [6] CAVICCHIOLI, A.; GUTZ, I. G. R. O. Uso de radiação ultravioleta para o pré-tratamento de amostras em análise inorgânica. **Quim. Nova**, v. 26, n. 6, p. 913-921, 2003.
- [7] MAGALHÃES, C. E. C.; ARRUDA, M. A. Z. Slurry sampling: The technique employment in the direct sample analysis. **Quim. Nova**, v. 21, n. 4, p. 459-466, 1998.
- [8] KORN, M. G. A.; MORTE, E. S. B.; SANTOS, D. C. M. B.; CASTRO, J. T.; BARBOSA, J. T. P.; TEIXEIRA, A. P.; FERNANDES, A. P.; WELZ, B.; SANTOS, W. P. C.; SANTOS, E. B. G. N. KORN, M. Sample preparation for the determination of metals in food samples using spectroanalytical methods - A Review, **Appl. Spectrosc. Rev.** v. 43, p. 67-92, 2008.
- [9] BULDINI, P. L.; RICCI, L.; SHARMA, J. L. Recent applications of sample preparation techniques in food analysis, **J. Chromatogr. A**, v. 975, p. 47-70, 2002.

- 
- [10] FERREIRA, S. L. C.; MIRÓ, M.; SILVA, E. G. P.; MATOS, G. D.; REIS, P. S.; BRANDAO, G. C.; DOS SANTOS, W. N. L.; DUARTE, A. T.; VALE, M. G. R.; ARAUJO, R. G. O. Slurry sampling - an analytical strategy for the determination of metals and metalloids by spectroanalytical techniques. **Appl. Spectrosc. Rev.** v. 45, n. 1, p. 44-62, 2010.
- [11] BRADY, D. V.; MONTALVO, J. G.; GLOWACKI, G.; PISCOTA, A. Direct determination of zinc in sea-bottom sediments by carbon tube atomic absorption spectrometry. **Anal. Chim. Acta**, v. 70, n. 2, p. 448-452, 1974.
- [12] BRADY, D. V.; MONTALVO, J. G.; JUNG, J.; CURRAN, R. A. Direct determination of lead in plant leaves via graphite furnace atomic absorption. **At. Absorpt. Newslett.** v. 13, n. 5, p. 118-119, 1974.
- [13] CAL-PRIETO, M. J.; FELIPE-SOTELO, M.; CARLOSENA, A.; ANDRADE, J. M.; LOPEZ-MAHIA, P.; MUNIATEGUI, S.; PRADA, D. Slurry sampling for direct analysis of solid materials by electrothermal atomic absorption spectrometry (ETAAS). A literature review from 1990 to 2000. **Talanta**, v. 56, p. 1-51, 2002.
- [14] EBDON, L.; FOULKES, M.; SUTTON, K. Slurry nebulization in plasmas, **J. Anal. At. Spectrom.** v. 12, p. 213-229, 1997.
- [15] SANTOS, M. C.; NÓBREGA, J. A. Slurry nebulization in plasmas for analysis of inorganic materials. **Appl. Spectrosc. Rev.** v. 41, p. 427-448, 2006.
- [16] MATUSIEWICZ, H.; SLACHCINSKI, M. Simultaneous determination of hydride (As, Bi, Ge, Sb, Se, Sn) and Hg and non-hydride forming (Ca, Fe, Mg, Mn, Zn) elements in sonicate slurries of analytical samples by microwave induced plasma optical emission spectrometry with dual-mode sample introduction system, **Microchem. J.** 86 (2007) 102-111.

---

[17] WANG, Z. Z.; QIU, D. R.; TAO, G. Y.; YANG, P. Y. Research advance in slurry sample introduction for plasma emission spectrometry/mass spectrometry. **Spectrosc. Spectral Analysis**, v. 26, p. 542-547, 2006.

[18] RIBEIRO, A. S.; VIEIRA, M. A.; CURTIUS, A. J. Determination of hydride forming elements (As, Sb, Se, Sn) and Hg in environmental reference materials as acid slurries by on-line hydride generation inductively coupled plasma mass spectrometry. **Spectrochim. Acta B**, v. 59, p. 243-153 2004.

[19] ALVES, F. L.; CADORE, S.; JARDIM, W. F.; ARRUDA, M. A. Z. River sediment analysis by slurry sampling FAAS: Determination of copper, zinc and lead. **J. Braz. Chem. Soc.** v. 12, p. 799-803, 2001.

[20] DOS SANTOS, W. N. L.; DA SILVA, E. G. P.; FERNANDES, M. S.; ARAÚJO, R. G. O.; COSTA, A. C. S.; VALE, M. G. R.; FERREIRA, S. L. C. Determination of copper in powdered chocolate samples by slurry-sampling flame atomic-absorption spectrometry. **Anal. Bioanal. Chem.** v. 382, p. 1099-1102, 2005.

[21] FERREIRA, H. S.; DOS SANTOS, W. N. L.; FIUZA, R. P.; NÓBREGA, J. A.; FERREIRA, S. L. C. Determination of zinc and copper in human hair by slurry sampling employing sequential multi-element flame atomic absorption spectrometry. **Microchem. J.** v. 87, p. 128-131, 2007.

[22] DA SILVA, E. G. P.; HATJE, V.; DOS SANTOS, W. N. L.; COSTA, L. M.; NOGUEIRA, A. R. A.; FERREIRA, S. L. C. Fast method for the determination of copper, manganese and iron in sea food samples, **J. Food Composition Analysis** v. 21, p. 259-263, 2008.

[23] DA SILVA, E. G. P. Determinação de cobre, manganês e zinco em amostras de chocolate em pó utilizando amostragem de suspensão e detecção por espectrometria de absorção atômica com chama multielementar seqüencial, **Dissertação de mestrado**, Universidade Federal da Bahia, Salvador, Bahia, 2006.

---

[24] TAN, Y.; MARSHALL, W. D.; BLAIS, J.-S. Slurry preparation by high-pressure homogenization for cadmium, copper and lead determination in cervine liver and kidney by electrothermal atomic absorption spectrometry *Analyst*, v. 121, n. 4, p. 483-488, 1996.

[25] TAN, Y. X.; MARSHALL, W.D. Enzymic digestion-high-pressure homogenization prior to slurry introduction electrothermal atomic absorption spectrometry for the determination of selenium in plant and animal tissues. ***Analyst***, v. 122, p. 13-18, 1997.

[26] DONG, H.M.; KRIVAN, V.; WELZ, B.; SCHLEMMER, G. Determination of trace impurities in titanium dioxide by slurry sampling electrothermal atomic absorption spectrometry. ***Spectrochim. Acta B-At. Spectrosc.*** v. 52, n. 12, p. 1747-1762, 1997.

[27] FRIESE, K.; KRIVAN, V. Analysis of silicon nitride powders for Al, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, and Zn by slurry sampling electrothermal atomic absorption spectrometry. ***Anal. Chem.*** v. 67, p. 354-359, 1995.

[28] DOCEKAL, B.; KRIVAN, V. Direct determination of impurities in powdered silicon carbide by electrothermal atomic absorption spectrometry using the slurry sampling technique. ***J. Anal. At. Spectrom.*** v. 7, p. 521-528, 1992.

[29] MILLER-IHLI, N. J. Influence of slurry preparation on the accuracy of ultrasonic slurry electrothermal atomic absorption spectrometry. ***J. Anal. At. Spectrom.*** v. 9, n. 10, p. 1129-1134, 1994.

[30] TAKUWA, D. T.; SAWULA, G.; WIBETOE, G.; LUND, W. Determination of cobalt, nickel and copper in flowers, leaves, stem, and roots of plants using ultrasonic slurry sampling electrothermal atomic absorption spectrometry. ***J. Anal. At. Spectrom.*** v. 12, n. 8, p. 849-854, 1997.

---

[31] SILVA, M. M.; GORETI, M. R. V.; CAMARÃO, E. B. Slurry sampling graphite furnace atomic absorption spectrometry: determination trace of metals in mineral coal **Talanta**, v. 50, n. 5, p. 1035-1043, 1999.

[32] VIÑAS, P.; PARDO-MARTINEZ, M.; HERNANDEZ-CORDOBA, M. Slurry atomization for the determination of arsenic in baby foods using electrothermal atomic absorption spectrometry and deuterium background correction. **J. Anal. At. Spectrom.** v. 14, p. 1215-1219, 1999.

[33] LÓPEZ-GARCÍA, I.; VIÑAS, P.; CAMPILLO, N.; HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, M. Determination of selenium in seafoods using electrothermal atomic absorption spectrometry with slurry sample introduction **J. Agric. Food Chem.** v. 44, p. 836-841, 1996.

[34] HINDS, M. W.; JACKSON, K. W. Determination of lead in soil by vortex mixing slurry-graphite furnace atomic-absorption spectrometry. **At. Spectrosc.** v. 12, n. 4, p. 109-110, 1991.

[35] CAPELO, J. L.; MADURO, C.; VILHENA, C. Discussion of parameters associated with the ultrasonic solid-liquid extraction for elemental analysis (total content) by electrothermal atomic absorption spectrometry. An overview. **Ultrasonics Sonochem.** v. 12, p. 225-232, 2005.

[36] LUQUE-GARCIA, J. L.; LUQUE DE CASTRO, M. D. Ultrasound: a powerful tool for leaching. **Trends Anal. Chem.** v. 22, n. 1, p. 41-47, 2003.

[37] BENDICHO, D.; LOOS-VOLLEBREGT, M. T. C. Solid Sampling in Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry Using Commercial Atomizers. A Review. **J. Anal. At. Spectrom.** v. 6, p. 353-374, 1991.

[38] BURYLIN, M.Y.; TEMERDASHEV, Z.A.; BURYLIN, S.Y. Determination of lead and cadmium by atomic absorption spectrometry coupled with slurry sampling of



---

carbonized samples: Use of palladium-bearing activated carbon as a matrix modifier. **J. Anal. Chem.** v. 61, p. 37-43, 2006.

[39] POTGIETER, S. S.; MALJANOVIC, L. A. further method for chloride analysis of cement and cementitious materials – ICP OES. **Cement and Concrete Research**, v. 37, p. 1172-1175, 2007.

[40] DA SILVA, E. G. P.; SANTOS, A. C. N.; COSTA, A. C. S.; FORTUNATO, D. M. N.; JOSÉ, N. M.; KORN, M. G. A.; DOS SANTOS, W. N. L.; FERREIRA, S. L. C. Determination of manganese and zinc in powdered chocolate samples by slurry sampling using sequential multi-element flame atomic absorption spectrometry, **Microchem. J.** v. 82, p. 159-162, 2006.

[41] SANTOS, E. J.; HERRMANN, A. B.; FRESCURA, V. L. A.; CURTIUS, A. J. Simultaneous determination of As, Hg, Sb, Se and Sn in sediments by slurry sampling axial view inductively coupled plasma optical emission spectrometry using on-line chemical vapor generation with internal standardization, **J. Anal. At. Spectrom.** v. 20, p. 538-543, 2005.

[42] FERNANDES, K. G.; MORAES, M.; GOMES, J. A. N.; NÓBREGA, J. A.; OLIVEIRA, P. V. Padronização interna em espectrometria de absorção atômica. **Quím. Nova**, v. 26, p. 249-252, 2003.

[43] ARAUJO, R. G. O.; DIAS, F. S.; MACEDO, S. M.; DOS SANTOS, W. N. L.; FERREIRA, S. L. C. Method development for the determination of manganese in wheat flour by slurry sampling flame atomic absorption spectrometry, **Food Chem.** v. 101, p. 397-400, 2007.

[44] LÓPEZ-GARCÍA, I.; VIÑAS, P.; ROMERO-ROMERO, R.; HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, M. Fast determination of phosphorus in honey, milk and infant formulas by electrothermal atomic absorption spectrometry using a slurry sampling procedure. **Spectrochim. Acta B**, v. 62, p. 48-55, 2007.

---

[45] CAVA-MONTESINOS, P.; RÓDENAS-TORRALBA, E.; MORALES-RUBIO, Á.; CERVERA, M. L.; DE LA GUARDIÑA, M. Cold vapour atomic fluorescence determination of mercury in milk by slurry sampling using multicommutation, **Anal. Chim. Acta**, v. 506, p. 145-153, 2004.

[46] VIÑAS, P.; PARDO-MARTÍNEZ, M.; HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, M. Slurry atomization for the determination of arsenic in baby foods using electrothermal atomic absorption spectrometry and deuterium background correction. **J. Anal. At. Spectrom.** v. 14, p. 1215-1219, 1999.

[47] CHEN, F.-Y.; JIANG, S.-J. Slurry Sampling Flow Injection Chemical Vapor Generation Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry for the Determination of As, Cd, and Hg in Cereals. **J. Agric. Food Chem.** v. 57, p. 6564-6569, 2009.

[48] ČERNOHORSKÝ, T.; KREJCŮVÁ, A.; POUZAR, M.; VAVRUSŮVA L. Elemental analysis of flour-based ready-oven foods by slurry sampling inductively coupled plasma optical emission spectrometry. **Food Chem.** v. 106, p. 1246-1252, 2008.

[49] GOLIMOWSKI, J.; GOLIMOWSKA, K. UV-photo-oxidation as pretreatment step in inorganic analysis of environmental samples. **Anal. Chim. Acta**, v. 325, p. 111-133, 1996.

[50] CAPELO-MARTÍNEZ, J. L.; XIMÉNEZ-EMBÚN, P.; MADRID, Y.; CÁMARA, C. Advanced oxidation processes for sample treatment in atomic spectrometry, **Trends Anal. Chem.** v. 23, p. 331-340, 2004.

[51] BULDINI, P. L.; CAVALLI, S.; SHARMA, J. L. Matrix removal for the ion chromatographic determination of some trace elements in milk. **Microchem. J.** v. 72, p. 277-284, 2002.

[52] CARVALHO, L. M.; SPENGLER, C.; GARMATZ, J. C.; NASCIMENTO, P. C.; BOHRER, D.; DEL-FABRO, L.; RADIS, G.; BOLLI, A. A.; GARCIA, S. C.; MORO, A. M.; ROSA, M. B. Determinação voltamétrica de metais em águas e fluidos biológicos

---

empregando mineralização de amostras com radiação ultravioleta, **Quim. Nova**, v. 31, n. 6, p. 1336-1342, 2008.

[53] GOLIMOWSKI, J.; GUSTAVSSON, I. Determination of mercury in freeze-dried muscle samples of pike, cod and perch using an ASV-technique. **Sci. Total. Environ.** v. 31, p. 89-98, 1983.

[54] GOLIMOWSKI, J.; DMOWSKI, K. Voltammetric determination of mercury in bird feathers for biomonitoring studies. **Chem. Anal. Warsaw**, v. 40, p. 13-19, 1995.

[55] ARMSTRONG, F. A. J.; WILLIAMS, P. M.; STRICKLAND, J. D. H. Photo-oxidation of organic matter in sea water by ultra-violet radiation analytical and other applications. **Nature**, v. 211, p. 481-&, 1966.

[56] FRIMMEL, F.; WINKLER, H.A. Z. Wasser Abwasser Forsch. v. 8, p. 67, 1975.

[57] BRITTO, JAILDES M.; RANGEL, MARIA C. Processos avançados de oxidação de compostos fenólicos em efluentes industriais, **Quim. Nova**, v. 31, n. 1, p. 114-122, 2008.

[58] ACHTERBERG, E. P.; BRAUNGARDT, C. B.; SANDFORD, R. C.; WORSFOLD, P. J. UV digestion of seawater samples prior to the determination of copper using flow injection with chemiluminescence detection. **Anal. Chim. Acta**, v. 440, p. 27-36, 2001.

[59] KRAEUTLER, BERNHARD; BARD, ALLEN J. Heterogeneous Photocatalytic Decomposition of Saturated Carboxylic Acids on TiO<sub>2</sub> Powder. Decarboxylative Route to Alkanes. **J. Am. Chem. Soc.** v. 100, n. 19, p. 5985-5992, 1978.

[60] CATANHO, M.; MALPASS, G. R. P.; MOTHEO, A. J. Avaliação dos tratamentos eletroquímico e fotoeletroquímico na degradação de corantes têxteis. **Quim. Nova**, v. 29, n. 5, p. 983-989, 2006.

---

[61] CERVANTES, T. N. M.; ZAIA, D. A. M.; SANTANA, H. Estudo da fotocatalise heterogênea sobre Ti/TiO<sub>2</sub> na descoloração de corantes sintéticos. **Quim. Nova**, v. 32, n. 9, p. 2423-2428, 2009.

[62] BERTAZZOLI, R.; PELEGRINI, R. Descoloração e degradação de poluentes orgânicos em soluções aquosas através do processo fotoeletroquímico. **Quim. Nova**, v. 25, n. 3, p. 477-482, 2002.

[63] CAVICCHIOLI, A.; GUTZ, I. G. R.; In-line TiO<sub>2</sub>-assisted photodigestion of organic matter in aqueous solution for voltametric flow analysis of heavy metals in water samples. **Anal. Chim. Acta**, v. 445, p. 127-138, 2001.

[64] YOKOI, K.; YAKUSHIJI, M.; HATANAKA, M. K. K.; KOIDE, T. Novel photolytic decomposition method of organic compounds with a high output low-pressure mercury lamp for voltammetric trace metal analysis, **Fresenius J. Anal. Chem.** v. 365, p. 364-367, 1999.

[65] FLORIAN, D.; KNAPP, G. High-Temperature, Microwave-Assisted UV Digestion: A Promising Sample Preparation Technique for Trace Element Analysis, **Anal. Chem.** v. 73, p. 1515-1520, 2001.

[66] UNKROTH, A.; KHMER, U. UV-oxidation of organic pollutants in water by using excimer laser radiation. **Fresenius J. Anal. Chem.** v. 347, p. 464-465, 1993.

[67] Disponível em: <[http://www.who-sells-it.com/images/catalogs/2111/pdf\\_10203.pdf](http://www.who-sells-it.com/images/catalogs/2111/pdf_10203.pdf)>. Acesso em: 26 jan. 2009.

[68] CAMPOS, M. L. A. M.; MELLO, L. C.; ZANETTE, D. R.; SIERRA, M. M. S.; BENDO, A. Construção e otimização de um reator de baixo custo para a fotodegradação da matéria orgânica em águas naturais e sua aplicação no estudo da especiação do cobre por voltametria. **Quím. Nova**, v. 24, n. 2, p. 257-261, 2001.

---

[69] MOTOMIZU, SHOJI; SANADA, MASAHIRO. Photo-induced reduction of nitrate to nitrite and its application to the sensitive determination of nitrate in natural waters. **Anal. Chim. Acta** v. 308, p. 406-412, 1995.

[70] PEAT, D. M. W.; MCKELVIE, I.D.; MATTHEWS, G.P.; HAYGARTH, P.M.; WORSFOLD, P.J. Rapid determination of dissolved organic phosphorus in soil leachates and runoff waters by flow injection analysis with on-line photo-oxidation. **Talanta**, v. 45, n. 1, p. 47-55, 1997.

[71] HE, B.; JIANG, G.-B.; XU, X.-B. Arsenic speciation based on ion exchange high-performance liquid chromatography hyphenated with hydride generation atomic fluorescence and on-line UV photo oxidation. **Fresenius J. Anal. Chem.** v. 368, p. 803–808, 2000.

[72] FERNANDES, S. M. V.; LIMA, J. L. F. C.; RANGE, A. O. S. S. Spectrophotometric flow injection determination of total phosphorus in beer using on-line UV/thermal induced digestion. **Fresenius J. Anal. Chem.** v. 366, p. 112-115, 2000.

[73] OMS, M. T.; CERDA, A.; CERDA, V. Sequential injection system for on-line analysis of total nitrogen with UV-mineralization. **Talanta**, v. 59, p. 319-326, 2003.

[74] TUE-NGEUN, O.; SANDFORD, R. C.; JAKMUNEE, J.; GRUDPAN, K.; MCKELVIE, I. D.; WORSFOLD, P. J. Determination of dissolved inorganic carbon (DIC) and dissolved organic carbon (DOC) in freshwaters by sequential injection spectrophotometry with on-line UV photo-oxidation. **Anal. Chim. Acta**, v. 554, p. 17-24, 2005.

[75] YIN, Y.; LIU, J.; HE, B.; SHI, J.; JIANG, G. Simple interface of high-performance liquid chromatography-atomic fluorescence spectrometry hyphenated system for speciation of mercury based on photo-induced chemical vapour generation with formic acid in mobile phase as reaction reagent, **J. Chromatogr A**, v. 1181, p. 77-82, 2008.

---

[76] BULDINI, P. L.; CAVALLI, S.; SHARMA, J. L. Determination of transition metals in wine by IC, DPASV-DPCSV, and ZGFAAS coupled with UV photolysis, **J. Agric. Food Chem.** v. 47, p. 1993-1998, 1999.

[77] BULDINI, P. L.; CAVALLI, S.; MEVOLI, A.; SHARMA, J. L. Ion chromatographic and voltammetric determination of heavy and transition metals in honey. **Food Chem.** v. 73, p. 487-495, 2001.

[78] ALMEIDA, C. M. R.; VASCONCELOS, M. T. S. D. Determination of lead isotope ratios in port wine by inductively coupled plasma mass spectrometry after pre-treatment by UV-irradiation, **Anal. Chim. Acta**, v. 396, p. 45-53, 1999.

[79] ALMEIDA, C. M. R.; VASCONCELOS, M. T. S. D. UV-irradiation and MW-digestion pre-treatment of Port wine suitable for the determination of lead isotope ratios by inductively coupled plasma mass spectrometry. **J. Anal. At. Spectrom.** v. 14, p. 1815-1821, 1999.

[80] Golimowski, J.; Gustavsson, I. Determination of mercury in freeze-dried muscle samples of pike, cod and perch using an ASV-technique. **Sci. Total. Environ.** v. 31, n. 1, p. 89-98, 1983.

[81] ONIANWA, P.C.; ADEYEMO, A. O.; IDOWU, O. E.; OGABIELA, E. E. Copper and zinc contents of Nigerian foods and estimates of the adult dietary intakes. **Food Chem.** v. 72, p. 89-95, 2001.

[82] ONIANWA, P.C.; ADETOLA, I. G.; IWEGBUE, C. M. A.; OJO, M. F.; TELLA, O. O. Trace heavy metals composition of some Nigerian beverages and food drinks. **Food Chem.** v. 66, p. 275-279, 1999.

[83] NASCENTES, C. C.; ARRUDA, M. A. Z.; NOGUEIRA, A. R. A.; NÓBREGA, J. A. Direct determination of Cu and Zn in fruit juices and bovine milk by thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry. **Talanta**, v. 64, p. 912-917, 2004.

---

[84] IBANEZ, J. G.; CARREON-ALVAREZ, A.; BARCENA-SOTO, M.; CASILLAS, N. Metals in alcoholic beverages: A review of sources, effects, concentrations, removal, speciation, and analysis. **J. Food Composition and Analysis**, v. 21, p. 672–683, 2008.

[85] MOROS, J.; IÑÓN, F. A.; KHANMOHAMMADI, M.; GARRIGUES, S.; DE LA GUARDIÃ, M. Evaluation of the application of attenuated total reflectance–Fourier transform infrared spectrometry (ATR–FTIR) and chemometrics to the determination of nutritional parameters of yogurt samples. **Anal. Bioanal. Chem.** v. 385, p. 708–715, 2006.

[86] HERNAINDEZ, E. J. G.; ESTEPA, R. G.; RIVAS, I. R. Analysis of diacetyl in yogurt by two new spectrophotometric and fluorimetric methods, **Food Chem.** v. 53, p. 315-319, 1995.

[87] BRABANDERE, A. G.; BAERDEMAEKER, J. G. Effects of process conditions on the pH development during yogurt fermentation, **J. Food Engin.** v. 41, p. 221-227, 1999.

[88] MEYDANI, S. N.; HA, W-K. Immunologic effects of yogurt. **Am. J. Clin. Nutr.** v. 71, p. 861–72, 2000.

[89] GUERIN-DANAN, C.; CHABANET, C.; PEDONE, C.; POPOT, F.; VAISSADE, P.; BOULEY, C.; SZYLIT, O.; ANDRIEUX, C. Milk fermented with yogurt cultures and *Lactobacillus casei* compared with yogurt and gelled milk: influence on intestinal microflora in healthy infants. **Am. J. Clin. Nutr.** v. 67, p. 111–117, 1998.

[90] XU, Z.-M.; EMMANOUELIDOU, D. G.; RAPHAELIDES, S. N.; ANTONIOU, K. D. Effects of heating temperature and fat content on the structure development of set yogurt. **J. Food Engin.** v. 85, p. 590–597, 2008.

[91] Disponível em: <[http://www.enq.ufsc.br/labs/probio/disc\\_eng\\_bioq/trabalhos\\_grad2004/iogurte/process\\_iogurte.htm](http://www.enq.ufsc.br/labs/probio/disc_eng_bioq/trabalhos_grad2004/iogurte/process_iogurte.htm)>. Acesso em: 04 fev. 2009.

- 
- [92] SILVA, E. B.; NASCIMENTO, K. O. Avaliação da adequação da rotulagem de iogurtes. **CERES**, v. 2, n. 1, p. 9-14, 2007.
- [93] KHANMOHAMMADI, M.; GARMARUDI, A. B.; GHASEMI, K.; GARRIGUES, S.; DE LA GUARDIA, M. Artificial neural network for quantitative determination of total protein in yogurt by infrared spectrometry. **Microchem. J.** v. 91, p. 47–52, 2009.
- [94] RAPHAELIDES, S. N.; GIOLDASI, A. Elongational flow studies of set yogurt. **J. Food Engin.** v. 70, p. 538–545, 2005.
- [95] SÁNCHEZ-SEGARRA, P. J.; GARCÍA-MARTÍNEZ, M.; GORDILLO-OTERO, M. J.; DÍAZ-VALVERDE, A.; AMARO-LOPEZ, M. A.; MORENO-ROJAS, R. Influence of the addition of fruit on the mineral content of yoghurts: nutritional assessment. **Food Chem.** v. 70, p. 85-89, 2000.
- [96] SHAO, Y.; HE, Y.; FENG, S. Measurement of yogurt internal quality through using Vis/NIR spectroscopy, **Food Research International**, v. 40, p. 835–841, 2007.
- [97] DE LA FUENTE, M. A.; MONTES, F.; GUERRERO, G.; JUAREZ, M. Total and soluble contents of calcium, magnesium, phosphorus and zinc in yoghurts. **Food Chem.** v. 80, p. 573–578, 2003.
- [98] WARD, C. D. W.; KOEFERLI, C. S.; SCHWEGLER, P. P.; SCHAEPPPI, D.; PLEMMONS, L. E. European strawberry yogurt market analysis with a case study on acceptance drivers for children in Spain using principal component analysis and partial least squares regression. **Food Quality and Preference**, v. 10, p. 387-400, 1999.
- [99] ZAMARREÑO, M. M. D.; PEREZ, A. S.; RODRIGUEZ, M. S.; PEREZ, M. C. G.; MENDEZ, J. H. Determination of fat-soluble vitamins in yogurt by HPLC with electrochemical detection. **Talanta**, v. 43, p. 1555-1563, 1996.



---

[100] ANTONOPOULOU, S.; SEMIDALAS, C. E.; KOUSSISSIS, S.; DEMOPOULOS, C. A. Platelet-activating factor (PAF) antagonists in foods: a study of lipids with PAF or anti-PAF-like activity in cow's milk and yogurt. **J. Agric. Food Chem.** v. 44, p. 3047-3051, 1996.

[101] YAMAN, M.; DURAK, M. Comparison of dry, wet, and microwave ashing methods for the determination of Al, Zn, and Fe in yogurt samples by atomic absorption spectrometry. **Spectrosc. Lett.** v. 38, p. 405–417, 2005.

[102] KAYA, G.; AKDENIZ, I.; YAMAN, M., Determination of Cu, Mn, and Pb in yogurt samples by flame atomic absorption spectrometry using dry, wet, and microwave ashing methods, **At. Spectrosc.** v. 29, n. 3, p. 99-106, 2008.

[103] POHL, P. What do metals tell us about wine? **Trends Anal. Chem.** v. 26, n. 9, p. 942-949, 2007.

[104] Disponível em: <<http://www.receita.fazenda.gov.br/legislacao/Leis/2004/lei10970.htm>>. Acesso em: 05 fev. 2009.

[105] LARA, R.; CERUTTI, S.; SALONIA, J. A.; OLSINA, R. A.; MARTINEZ, L. D. Trace element determination of Argentine wines using ETAAS and USN-ICP-OES. **Food Chem. Toxicol.** v. 43, p. 293–297, 2005.

[106] DESSUY, M. B.; VALE, M. G. R.; SOUZA, A. S.; FERREIRA, S. L. C.; WELZ, B.; KATSKOV, D. A. Method development for the determination of lead in wine using electrothermal atomic absorption spectrometry comparing platform and filter furnace atomizers and different chemical modifiers. **Talanta**, v. 74, p. 1321–1329, 2008.

[107] CARDONA, F.; CARRASCO, P.; PÉREZ-ORTÍN, J. E.; DEL OLMO, M.; ARANDA, A. A novel approach for the improvement of stress resistance in wine yeasts. **Int. J. Food Microbiol.** v. 114, p. 83–91, 2007.

- 
- [108] ZUZUARREGUI, A.; CARRASCO, P.; PALACIOS, A.; JULIEN, A.; DEL OLMO, M. Analysis of the expression of some stress induced genes in several commercial wine yeast strains at the beginning of vinification. **J. Appl. Microbiol.** v. 98, p. 299–307, 2005.
- [109] MALACRINO, P.; TOSI, E.; CARAMIA, G.; PRISCO, R.; ZAPPAROLI, G. The vinification of partially dried grapes: a comparative fermentation study of *Saccharomyces cerevisiae* strains under high sugar stress. **Lett. Appl. Microbiol.** v. 40, p. 466–472, 2005, 40.
- [110] FLEET, G. H. Wine yeasts for the future. **FEMS Yeast Res**, v. 8, p. 979–995, 2008.
- [111] DU, Y.-Y.; BAI, G.-Y.; ZHANG, X.; LIU, M.-L. Classification of Wines Based on Combination of  $^1\text{H}$  NMR Spectroscopy and Principal Component Analysis. **Chin. J. Chem.** v. 25, p. 930-936, 2007.
- [112] GALANI-NIKOLAKAKI, S.; KALLITHRAKAS-KONTOS, N.; KATSANOS, A. A. Trace element analysis of Cretan wines and wine Products. **The Sci. Total Environ.** v. 285, p. 155-163, 2002.
- [113] SCHIAVOA, D.; NEIRAB, J. Y.; NÓBREGA, J. A. Direct determination of Cd, Cu and Pb in wines and grape juices by thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry. **Talanta**, v. 76, p. 1113–1118, 2008.
- [114] PANEQUE, P.; ÁLVAREZ-SOTOMAYOR, M. T.; CLAVIJO, A.; GÓMEZ, I. A. Metal content in southern Spain wines and their classification according to origin and ageing. **Microchem. J.** v. 94, p. 175–179, 2010.
- [115] CATARINO, S.; CURVELO-GARCIA, A. S.; SOUSA, R. B. Revisão: elementos contaminantes nos vinhos contaminant elements in wines: A review. **Ciência Téc. Vitiv.** v. 23, n. 1, p. 3-19, 2008.

---

[116] CATARINO, S.; CURVELO-GARCIA, A. S.; SOUSA, R. B. Measurements of contaminant elements of wines by inductively coupled plasma-mass spectrometry: A comparison of two calibration approaches. **Talanta**, v. 70, p. 1073–1080, 2006.

[117] FERREIRA, S. L. C.; SOUZA, A. S.; BRANDAO, G. C.; FERREIRA, H. S.; DOS SANTOS, W. N. L.; PIMENTEL, M. F.; VALE, M. G. R. Direct determination of iron and manganese in wine using the reference element technique and fast sequential multi-element flame atomic absorption spectrometry. **Talanta**, v. 74, p. 699–702, 2008.

[118] PALEOLOGOS, E. K.; GIOKAS, D. L.; TZOUWARA-KARAYANNI, S. M.; KARAYANNIS, M. I. Micelle mediated methodology for the determination of free and bound iron in wines by flame atomic absorption spectrometry, **Anal. Chim. Acta**, v. 458, p. 241–248, 2002.

[119] TAŠEV, K.; KARADJOVA, I.; ARPADJAN, S.; CVETKOVIČ, J.; STAFILOV, T. Liquid/liquid extraction and column solid phase extraction procedures for iron species determination in wines. **Food Control**, v. 17, p. 484–488, 2006.

[120] DOS SANTOS, WALTER N. L.; BRANDAO, G. C.; PORTUGAL, L. A.; DAVID, J. M.; FERREIRA, S. L.C. A photo-oxidation procedure using UV radiation/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> for decomposition of wine samples - Determination of iron and manganese content by flame atomic absorption spectrometry, **Spectrochim. Acta B**, v. 64, p. 601–604, (2009).

[121] BENÍTEZ, P.; CASTRO, R.; BARROSO, C. G. Removal of iron, copper and manganese from white wines through ion exchange techniques: effects on their organoleptic characteristics and susceptibility to browning. **Anal. Chim. Acta**, v. 458, p. 197–202 2002.

[122] CACHO, J.; CASTELLS, J. E.; ESTEBAN, A.; LAGUNA, B.; SAGRISTA, N. Iron, copper, and manganese influence on wine oxidation, **Am. J. Enol. Vitic.** v. 46, p. 380–384, 1995.

---

[123] AMORIM, F. A. C.; LOBO, I. P.; SANTOS, V. L. C. S.; FERREIRA, S. L. C. Espectrometria de absorção atômica: o caminho para determinações multi-elementares. **Quim. Nova**, v. 31, n. 7, p. 1784-1790, 2008.

[124] SNEDDON, J.; FARAH, B. D.; FARAH, K. S. Multielement atomic absorption spectrometry: A historical perspective. **Microchem. J.** v. 48, p. 318-325, 1993.

[125] SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. Princípios de Análise Instrumental, 5ª Ed. Porto Alegre: Bookman, 2002.

[126] WELZ, B.; SPERLING, M. **Atomic absorption spectrometry**. 3ª ed. comp. rev. Weinheim: Wiley-VCH, 1999.

[127] PROJAHN, H.-D.; STEEG, U.; SANDERS, J.; VANCLAY, E. Application of the reference-element technique for fast sequential flame atomic-absorption spectrometry. **Anal. Bioanal. Chem.** v. 378, p. 1083–1087, 2004.

[128] AMORIM, F. A. C.; FERREIRA, S. L.C. Determination of cadmium and lead in table salt by sequential multi-element flame atomic absorption spectrometry. **Talanta**, v. 65, p. 960–964, 2005.

[129] WELZ, B.; BECKER-ROSS, H.; FLOREK, S.; HEITMANN, U. **High-resolution Continuum Source AAS**. Weinheim: Wiley-VCH, 2005.

[130] WELZ, B.; BORGES, D. L. G.; LEPRI, F. G.; VALE, M. G. R.; HEITMANN, U. High-resolution continuum source electrothermal atomic absorption spectrometry - An analytical and diagnostic tool for trace analysis, **Spectrochim. Acta B-At. Spectrosc.** v. 62, p. 873-883, 2007.

[131] BORGES, D. L. G.; SILVA, A. F.; CURTIUS, A. J.; WELZ, B.; HEITMANN, U. Determination of lead in coal using direct solid sampling and high-resolution

---

continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Microchim. Acta**, v. 154, p. 101-107, 2006.

[132] SILVA, A. F.; BORGES, D. L. G.; LEPRI, F. G.; WELZ, B.; CURTIUS, A. J.; HEITMANN, U. Determination of cadmium in coal using solid sampling graphite furnace high-resolution continuum source atomic absorption spectrometry. **Anal. Bioanal. Chem.** v. 382, p. 1835-1841, 2005.

[133] LEPRI, F. G.; WELZ, B.; BORGES, D. L. G.; SILVA, A. F.; VALE, M. G. R.; HEITMANN, U. Speciation analysis of volatile and non-volatile vanadium compounds in Brazilian crude oils using high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Anal. Chim. Acta**, v. 558, p. 195-200 2006.

[134] VALE, M. G. R.; DAMIN, I. C. F.; KLASSEN, A.; SILVA, M. M.; WELZ, B.; SILVA, A. F.; LEPRI, F. G.; BORGES, D. L. G.; HEITMANN, U. Method development for the determination of nickel in petroleum using line-source and high-resolution continuum-source graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Microchem. J.** v. 77, p. 131-140, 2004.

[135] RAPOSO, J. L.; OLIVEIRA, S. R.; NÓBREGA, J. A.; NETO, J. A. G. Internal standardization and least-squares background correction in high-resolution continuum source flame atomic absorption spectrometry to eliminate interferences on determination of Pb in phosphoric acid. **Spectrochim. Acta Part B**, v. 63, p. 992–995, 2008.

[136] OLIVEIRA, S. R.; RAPOSO, J. L.; NETO, J. A. G. Fast sequential multi-element determination of Ca, Mg, K, Cu, Fe, Mn and Zn for foliar diagnosis using high-resolution continuum source flame atomic absorption spectrometry: Feasibility of secondary lines, side pixel registration and least-squares background correction. **Spectrochim. Acta B**, v. 64, p. 593–596, 2009.

[137] SANTOS, L. M. G.; WELZ, B.; ARAUJO, R. G. O.; JACOB, S. C.; VALE, M. G. R.; MARTENS A.; I MARTENS,. B. G.; BECKER-ROSS H. Simultaneous

---

Determination of Cd and Fe in Beans and Soil of Different Regions of Brazil Using High-Resolution Continuum Source Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry and Direct Solid Sampling, **J. Agric. Food Chem.** v. 57, p. 10089–10094, 2009.

[138] DITTERT, I. M.; SILVA, J. S. A.; ARAUJO, R. G. O.; CURTIUS, A. J.; WELZ, B.; BECKER-ROSS, H. Direct and simultaneous determination of Cr and Fe in crude oil using high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Spectrochim Acta B-At Spectrosc.** In press, 2009.

[139] DESSUY, M. B.; VALE, M. G. R.; LEPRI, F. G.; BORGES, D. L. G.; WELZ, B.; SILVA, M. M.; HEITMANN, U. Investigation of artifacts caused by deuterium background correction in the determination of phosphorus by electrothermal atomization using high-resolution continuum source atomic absorption spectrometry. **Spectrochim. Acta B-At. Spectrosc.** v. 63, p. 377-348, 2008.

[140] HUANG, M. D.; BECKER-ROSS, H.; FLOREK, S.; HEITMANN, U.; OKRUSS, M. High-resolution continuum source electrothermal absorption spectrometry of AlBr and CaBr for the determination of bromine. **Spectrochim. Acta B-At. Spectrosc.** v. 63, p. 566-570, 2008.

[141] HUANG, M. D.; BECKER-ROSS, H.; FLOREK, S.; OKRUSS, M.; WELZ, B.; MORÉS, S. Determination of iodine via the spectrum of barium mono-iodide using high-resolution continuum source molecular absorption spectrometry in a graphite furnace, **Spectrochim. Acta B-At. Spectrosc.** In press, 2009.

[142] HUANG, M. D.; BECKER-ROSS, H.; FLOREK, S.; HEITMANN, U.; OKRUSS, M.; PATZ, C.-D. Determination of sulfur forms in wine including free and total sulfur dioxide based on molecular absorption of carbon monosulfide in the air–acetylene flame. **Anal. Bioanal. Chem.** v. 390, p. 361–367, 2008.

[143] SU, Y. Y.; XU, K.; GAO, Y.; HOU, X. Determination of trace mercury in geological samples by direct slurry sampling cold vapor generation atomic absorption spectrometry. **Microchim. Acta**, v. 160, p. 191-195, 2008.

---

[144] MOREDA-PINEIRO, J.; ALONSO-RODRÍGUEZ, E.; LÓPEZ-MAHÍA, P.; MUNIATEGUI-LORENZO, S.; FERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ, E.; PRADA-RODRÍGUEZ, D.; MOREDA-PIÑEIRO, A.; BERMEJO-BARRERA, A.; BERMEJO-BARRERA, P. Pressurized liquid extraction as a novel sample pre-treatment for trace element leaching from biological material, **Anal. Chim. Acta**, v. 572, p. 172–179, 2006.

[145] THOMPSON, M.; ELLISON, S. L. R.; WOOD, R. Harmonized guidelines for single laboratory validation of methods of analysis - (IUPAC technical report). **Pure Appl. Chem.** v. 74, n. 5, p. 835-855, 2002.