



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE QUÍMICA DA UFBA
GRUPO DE PESQUISA EM QUÍMICA ANALÍTICA (GPQA)
PROGRAMA DE PÓS - GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**



TESE DE DOUTORADO

**ESTRATÉGIAS PARA CARACTERIZAÇÃO DA FARINHA DE
MANDIOCA PRODUZIDA NO ESTADO DA BAHIA**

Elecy Moreno Costa

Salvador

2012



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE QUÍMICA DA UFBA
GRUPO DE PESQUISA EM QUÍMICA ANALÍTICA (GPQA)
PROGRAMA DE PÓS – GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



**Estratégias para caracterização da farinha de mandioca produzida
no Estado da Bahia**

Tese de doutorado apresentada ao
Programa de Pós – Graduação em
Química, Instituto de Química,
Universidade Federal da Bahia

ELECY MORENO COSTA

Orientadora: Prof^a Dr^a Maria das Graças Andrade Korn

Co-Orientador: Prof. Dr. Sérgio Luis Costa Ferreira

Abril de 2012

TERMO DE APROVAÇÃO

ELECY MORENO COSTA

ESTRATÉGIAS PARA CARACTERIZAÇÃO DA FARINHA DE MANDIOCA
PRODUZIDA NO ESTADO DA BAHIA

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

Prof. Dr. Geraldo Domingues Matos *Geraldo Domingues Matos*
Doutorado em Química, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)
Universidade Federal da Bahia

Prof. Dra. Jacira Teixeira Castro *Jacira Teixeira Castro*
Doutorado em Química, Universidade Federal da Bahia (UFBA)
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Prof. Dra. Maria das Graças Andrade Korn – Orientadora *Maria das Graças Andrade Korn*
Doutorado em Química, Universidade de São Paulo (USP)
Universidade Federal da Bahia

Prof. Dra. Regina Terumi Yamaki *Regina Terumi Yamaki*
Doutorado em Química, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG)
Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia

Prof. Dr. Sérgio Luis Costa Ferreira – Co-Orientador *Sérgio Luis Costa Ferreira*
Doutorado em Química, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, (PUC-RJ)
Universidade Federal da Bahia

Prof. Dra. Vânia Palmeira Campos *Vânia P. Campos*
Doutorado em Química, Universidade Federal da Bahia (UFBA)
Universidade Federal da Bahia.

Salvador, 21 de maio de 2012.

Sistema de Bibliotecas – IQ/UFBA

Costa, Elecy Moreno.

Estratégias para caracterização da farinha de mandioca produzida no Estado da Bahia / Elecy Moreno Costa. – Salvador, 2014.

117 f. : il..

Orientador: Prof. Dr^a. Maria das Graças Andrade Korn.

Co-Orientador: Prof. Dr. Sérgio Luís Costa Ferreira

Tese (doutorado) Universidade Federal da Bahia. Instituto de Química, 2012.

1. Farinha de mandioca - Bahia. 2. Farinha de mandioca - Composição. 3 Análise espectral. I. Korn, Maria das Graças Andrade. II. Universidade Federal da Bahia, Instituto de Química. II.Título.

CDD: 641.33

CDU: 543.6:664.641

DEDICATÓRIA

A meu marido Bruno Machado e a minha filha Bianca Moreno Machado.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por ter me dado força para chegar ao fim da tese;

Aos meus familiares, por acreditar no meu potencial e ter me dado apoio nos momentos mais difíceis durante o Doutorado;

Aos meus amigos, obrigada também pelo incentivo e apoio;

Aos professores: Dr^a. Maria das Graças Andrade Korn, pela orientação no desenvolvimento deste projeto de tese e ao Dr. Sérgio Luís Costa Ferreira por ter contribuído para a conclusão;

Ao Professor Dr. Pedro Vitoriano de Oliveira, pelos meses que passei no seu Laboratório, no Instituto de Química da USP e pela contribuição de parte deste trabalho;

Ao Professor Dr. Anderson Santos por ter me ajudado na análise multivariada;

Aos meus colegas de Laboratório do Instituto de Química da USP;

Aos meus colegas de Laboratório do Instituto de Química da UFBA, em especial: Gabriel, José Tiago e Geovani;

A FAPESB pela bolsa concedida.

RESUMO

A mandioca (*Manihot esculenta Crantz*) é uma planta de origem da América do Sul, tendo como produto principal a farinha de mandioca, que é um alimento rico em carboidratos, fibras, proteína, Ca, P, Na, K e Fe, entre outros. A produção de farinha corresponde a 22% da produção nacional de mandioca e é produzida por pequenos produtores. Sendo assim, é oportuno o desenvolvimento de estudos que visam à caracterização da farinha de mandioca quanto à sua composição para se ter um controle de qualidade adequado para consumo. O objetivo deste trabalho foi propor estratégias para a caracterização da farinha de mandioca produzida no Estado da Bahia em função das concentrações de Al, As, Ba, Br, Ca, Cd, Cl, Cu, Fe, I, K, Mg, Mn, Na, Ni, P, Pb e Zn. Em uma primeira etapa foram comparados três procedimentos para o preparo das amostras: (1) por via úmida com aquecimento condutivo em bloco digestor, (2) assistido por radiação micro-ondas e (3) por via seca. Os elementos foram determinados por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES). Foi recomendado o procedimento assistido por radiação micro-ondas para determinação da composição elementar nas 24 amostras de farinha de mandioca adquiridas em diferentes localidades do estado da Bahia devido a sua maior eficiência e menor possibilidade de contaminação. Na segunda etapa foi proposto um procedimento para determinação de As, Pb, Cd e Se empregando espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica e detecção simultânea, utilizando a mistura de W e Rh como modificador. Foi possível determinar Pb e Cd em todas as amostras e os resultados obtidos indicaram para concentrações abaixo dos limites estabelecidos pela legislação. Na etapa final foram desenvolvidos estudos preliminares para a determinação de Cl, Br e I por ICP OES.

Palavras-chave: farinha de mandioca, composição elementar, preparo de amostras, técnicas espectrométricas.

ABSTRACT

Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) is a plant of South America, with the main product of cassava flour, which is a food rich in carbohydrates, fiber, protein, Ca, P, Na, K and Fe. The production flour corresponds 22.1% of national production of cassava and is produced by small producers. Thus, it is desirable to develop studies aimed at characterization of cassava flour in their composition to have a quality control suitable for consumption. The objective of this study was to propose strategies for the characterization of cassava flour produced in the state of Bahia in the concentrations of Al, As, Ba, Br, Ca, Cd, Cl, Cu, Fe, I, K, Mg, Mn, Na, Ni, P, Pb and Zn. In a first step we compared three procedures for the preparation: (1) procedures using acids with heat conductive in block digester and (2) assisted by microwave and (3) procedure by calcination. The elements were determined by optical emission spectrometry with inductively coupled plasma (ICP OES). It was recommended the procedure assisted by microwave radiation to determine the elemental composition in 24 samples of cassava flour acquired in different localities of Bahia state considering its greater efficiency and less chance of contamination. In the second step was proposed a procedure for determination of As, Pb, Cd and Se using atomic absorption spectrometry with electrothermal atomization and simultaneous detection using a mixture of Rh and W as chemistry modifier. Lead was determined in all samples and the results indicated concentrations below the limits established by law. In the final stage preliminary studies have been developed for the determination of Cl, Br and I by ICP OES. Further studies should be developed to a greater number of samples in order to establish a more complete profile and contribute to the Table of Food Composition at the regional level.

Keywords: cassava flour, elemental composition, sample preparation, spectrometric techniques.

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Composição química da mandioca e da farinha de mandioca por 100 gramas de parte comestível: Centesimal, minerais e colesterol.....	25
Tabela 2. Tabela de composição da mandioca crua e cozida e da farinha de mandioca.....	26
Tabela 3. Resultados médios de análises de amostras de farinha de mandioca coletadas em indústrias dos Estados de São Paulo, Paraná (Paranavaí) e Santa Catarina.....	27
Tabela 4. Composição físico-química da farinha de mandioca integral.	28
Tabela 5. Recomendações nutricionais diárias de minerais para lactantes, crianças, mulheres e homens.....	39
Tabela 6. Parâmetros de validação do INMETRO e ANVISA.	45
Tabela 7. Parâmetros instrumentais para as medidas por ICP OES axial, Varian....	54
Tabela 8. Programa de aquecimento para o procedimento de digestão assistida por radiação microondas em forno com cavidade Multiwave.	57
Tabela 9. Amostras adquiridas em diversas localidades da Bahia.	58
Tabela 10. Características Físico-Químicas da Farinha de Mandioca Seca.....	60
Tabela 11. Comparação dos procedimentos de digestão de farinha de mandioca...	61
Tabela 12. Valores de LD e LQ para os três procedimentos de digestão investigados ($n = 11$). Valores em $\mu\text{g g}^{-1}$	62
Tabela 13. Comparação dos resultados para os microelementos, em $\mu\text{g g}^{-1}$, na amostra CRM NIST 1567a farinha de trigo, para os procedimentos de digestão investigados ($n = 3$).	64
Tabela 14. Comparação dos resultados para os macroelementos, em $\mu\text{g g}^{-1}$, na amostra CRM NIST, 1567a farinha de trigo, para os procedimentos de digestão investigados ($n = 3$).	65
Tabela 15. Comparação dos procedimentos de digestão de amostra de farinha de mandioca, em $\mu\text{g g}^{-1}$, para macro e microelementos (média \pm desvio padrão, $n = 3$).	66
Tabela 16. Concentração de Al, Ba, Ca, Cd, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, P, Pb e Zn em $\mu\text{g g}^{-1}$ de 24 amostras de farinha de mandioca.	69
Tabela 19. Métodos analíticos desenvolvidos utilizando SIMAAS.	79
Tabela 20. Programa de aquecimento para o forno de micro-ondas com cavidade.	86

Tabela 21. Programa de aquecimento utilizado para modificar o tubo de grafite para W.....	87
Tabela 22. Programa de aquecimento utilizado para modificar o tubo de grafite para W.....	87
Tabela 23. Programa de aquecimento utilizado para modificar o tubo de grafite para W.....	88
Tabela 24. Programa de aquecimento utilizado para modificar o tubo de grafite para W.....	88
Tabela 25. Programa de aquecimento utilizado para modificar o tubo de grafite para Rh.....	89
Tabela 26. Programa de aquecimento utilizado para modificar o tubo de grafite para Rh.....	89
Tabela 27. Programa de aquecimento para a determinação simultânea de As, Cd, Pb e Se por SIMAAS 6000 com modificador permanente.....	90
Tabela 28. Porcentagem de Recuperação de As, Cd, Pb e Se, em $\mu\text{g L}^{-1}$	91
Tabela 29. Concentração de Cd e Pb em amostras de farinha de mandioca em mg kg^{-1}	93
Tabela 30. Condições operacionais do ICP OES.	102
Tabela 31. Parâmetros das curvas analíticas de calibração para Cl (mg L^{-1}) sem e com adição de padrão interno.	104
Tabela 32. Parâmetros das curvas analíticas de calibração para Br (mg L^{-1}) sem e com adição de padrão interno.	104
Tabela 33. Parâmetros das curvas analíticas de calibração para I (mg L^{-1}) sem e com adição de padrão interno.	104

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Fluxograma das etapas de processamento da farinha de mandioca.	21
Figura 2. Sistema de máquinas utilizadas para produção de farinha de mandioca. .	22
Figura 3. Comparação de métodos de digestão de farinha de mandioca para os microelementos.	67
Figura 4. Comparação de métodos de digestão de farinha de mandioca para os macroelementos.	67
Figura 5: Gráfico de Pesos PC1 x PC2	74
Figura 6: Gráfico de escores PC1 x PC2	74
Figura 7: Agrupamento das 24 amostras de farinha de mandioca do Estado da Bahia.	75

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAS – Espectrometria de Absorção Atômica

AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CODEX – Alimentarius Commission on Methods of Analysis and Sampling

CNNPA - Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos

CRM - Material de Referência Certificado (do inglês: *Certified Reference Material*)

DRI – Ingestão Dietética de Referência (do inglês: *Dietary Reference Intakes*)

ER – Erro Relativo

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

ET AAS – Espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica com atomização em forno de grafite

FAAS – Espectrometria de emissão atômica com chama

FAO - Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (do inglês: *Food and Agriculture Organization of United Nations*)

FAPAS - Food Analysis Performance Assessment Scheme

HCA - Análise hierárquica de agrupamentos

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

ICH - International Conference on Harmonization

ICP-MS – Espectroscopia de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado

ICP OES - Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado

INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial

LGC – Laboratory of the Government Chemist

LD - Limite de Detecção (do inglês: *Limit of Detection*)

LQ - Limite de Quantificação (do inglês: *Limit of Quantification*)

NEPA – Núcleo de Estudos e Pesquisa em Alimentação

NIST - Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia) (do inglês: *National Institute of Standards and Technology*)

OMS - Organização Mundial de Saúde

PCA – Análise de componente principal, do inglês *principal component analysis*

PI – Padrão Interno

RCC – Teor de Carbono Residual

RDA - Ingestão diária recomendados, do inglês: *recommmend dietary allowances*

RSD – Desvio padrão relativo, do inglês: *relative standard desviation*

SIMAAS - Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica e Detecção Simultânea

TACO - Tabela brasileira de Composição dos Alimentos

THGA – Atomizador de Grafite Aquecido transversalmente (do inglês: *Transversely Heated Graphite Atomizer*)

TMAH - Hidróxido de tetrametilamônio

US-FDA- United States Food and Drug Administration

VUV - Ultravioleta de vácuo

SUMÁRIO

RESUMO	VII
ABSTRACT	VIII
ÍNDICE DE TABELAS	IX
ÍNDICE DE FIGURAS	XI
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	XII
SUMÁRIO	XIV
CAPÍTULO I	16
CONSIDERAÇÕES SOBRE A FARINHA DE MANDIOCA E A COMPOSIÇÃO ELEMENTAR	16
1.0 CONSIDERAÇÕES SOBRE A FARINHA DE MANDIOCA E A COMPOSIÇÃO ELEMENTAR	17
1.1 Justificativa da Caracterização da Farinha de Mandioca:.....	17
1.2 Processamento da Farinha de Mandioca:	20
1.3 Composição química da farinha de mandioca	24
1.3.1 FERRO	29
1.3.2 CÁLCIO	30
1.3.3 FÓSFORO	31
1.3.4 POTÁSSIO	32
1.4 Determinação de elementos-traço em alimentos.....	32
1.4.1 ARSÊNIO	34
1.4.2 CÁDMIO	35
1.4.3 COBRE	36
1.4.4 CHUMBO	37
1.4.5 ZINCO	38
1.5 Objetivos	40
1.5.1 Objetivo Geral	40
1.5.2 Objetivos Específicos	40
CAPÍTULO II	42
AVALIAÇÃO DE PROCEDIMENTOS PARA PREPARO DAS AMOSTRAS DE FARINHA DE MANDIOCA	42
2.0 Avaliação de Procedimentos para Preparo das Amostras de farinha de mandioca	43
2.1 Procedimentos para preparo de amostras.....	43
2.2 Validação do método.	44
2.3 Análise Multivariada.....	50
2.4 Objetivos:.....	52
2.5 Procedimento Experimental:.....	53

2.5.1 Seleção dos elementos e das condições operacionais do equipamento.....	53
2.5.2 Teste de Umidade:	54
2.5.3 Determinação de carbono residual e acidez residual:.....	55
2.5.4 Procedimentos de preparo das amostras	56
2.5.5 Amostras de farinha de mandioca.....	58
2.5.6 Validação dos procedimentos	59
2.6 Apresentação e Discussão dos Resultados.....	60
2.6.1 Determinação do teor de Umidade.....	60
2.7 Aplicação do procedimento de digestão em forno de micro-ondas com cavidade utilizando análise multivariada.....	68
CAPÍTULO III.....	76
DETERMINAÇÃO DE AS, PB, CD E SE EMPREGANDO ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM ATOMIZAÇÃO ELETROTÉRMICA E DETECÇÃO SIMULTÂNEA.....	76
3.1 Considerações sobre a espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica e detecção simultânea	77
3.2 Objetivos.....	84
3.3 Parte experimental.....	85
3.3.1 Instrumentação:	85
3.3.2 Reagentes, Soluções e Amostras:.....	85
3.3.3 Procedimento:	86
3.4 Apresentação e Discussão dos Resultados:.....	91
CAPITULO IV.....	94
DETERMINAÇÃO DE CLORO, BROMO E IODO EM FARINHA DE MANDIOCA POR ESPECTROMETRIA DE EMISSÃO ÓPTICA COM PLASMA INDUTIVAMENTE ACOPLADO	94
4.1 Considerações sobre a determinação de halogênios por técnicas espectrométricas	95
4.2 Objetivos.....	101
4.3 Parte Experimental	101
4.3.1 Instrumentação:	101
4.3.2 Reagentes e Soluções	102
4.3.3 Procedimento:	103
4.4 Apresentação e Discussão dos Resultados.....	103
CAPITULO V.....	106
CONSIDERAÇÕES FINAIS	106
CAPITULO VI.....	109
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	109
CAPÍTULO 6.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	110

Capítulo I

Considerações sobre a farinha de Mandioca e a composição elementar

1.0 Considerações sobre a farinha de Mandioca e a composição elementar

1.1 *Justificativa da Caracterização da Farinha de Mandioca:*

A farinha de mandioca é um alimento obtido através das raízes provenientes de plantas da família das euforbiáceas, gênero *manihot*, submetido ao processo tecnológico adequado de fabricação e beneficiamento (Portaria nº 554 de 30 de agosto de 1995 da Secretaria de Agricultura da Bahia). É um alimento muito conhecido em todo o país e de grande aceitação no mercado, fazendo parte da refeição diária de muitos brasileiros, principalmente nas regiões Norte e Nordeste do Brasil (DIAS e LEONEL, 2006). É um alimento de alto valor energético, rico em carboidratos e fibras, quando integral, contém um pouco de proteína e alguns minerais como cálcio, fósforo, ferro, sódio e potássio (RAUPP, *et. al.*, 1999 e LUSTOSA, *et. al.*, 2007).

A farinha é um subproduto da mandioca e é muito consumido em diversas regiões, principalmente no nordeste do Brasil, mas não é um produto muito valorizado, devido a produção ser em sua maior parte em casas de farinha, em muitos casos para consumo próprio e da região próxima (CEREDA e VILPOUX, 2003, e CHISTÉ e COHEN, 2006). A produção de farinha corresponde 22,1% da produção nacional de mandioca (EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária), 2006). Segundo Lima (1982) a farinha é fabricada, principalmente, por pequenos produtores para seu próprio uso, então cada um tem seu próprio processo de fabricação. Na região Norte do Brasil, a produção de farinha acontece em pequenos estabelecimentos chamados de “casas de farinha” ou “casas de forno”, locais com condições de higiene precárias, apresentando diversas

irregularidades, comprometendo a qualidade do produto (CEREDA e VILPOUX, 2003).

Segundo a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), resolução - CNNPA (Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos) nº 12, de 1978, a farinha é obtida pela moagem da parte comestível de vegetais (raízes de mandioca), processados através de tecnologias adequadas. De um modo geral as farinhas de mandioca são classificadas quanto ao grupo, subgrupos, classes e tipos, se baseando no processo tecnológico de fabricação, granulometria, coloração e qualidade do produto segundo o Ministério da Agricultura em sua Portaria 244/1981 (BRASIL, 1981).

A classificação em grupo refere-se ao processo tecnológico de fabricação. Desta forma, destaca-se a farinha seca, puba ou farinha d'água e farinha crua. Dentre estas, a farinha seca é a mais comum. A farinha d'água é muito consumida na Região Norte do Brasil e no Estado do Maranhão, cuja produção consiste em colocar as raízes na água (de riachos, tanques de cimento) por um período de 3 a 5 dias para fermentar, depois retira-se a casca (película e córtex), prensa-se e torra-se. A granulometria dessa farinha é bem encarçada em relação à farinha tradicional (OTSUBO e LORENZI, 2004 e CEREDA e VILPOUX, 2003). Quanto à classificação em subgrupo, refere-se à granulometria. De acordo com as especificações da Portaria n. 554, de 30 de agosto de 1995 (BRASIL, 2005), considerando a necessidade de se estabelecer novas especificações para padronizar e classificar a farinha para comercialização no mercado interno a mandioca de mesa deve ser classificada de acordo com uma destas seis classificações: extra-fina; fina beneficiada; fina; média; grossa; ou bijusada.

Esta classificação corresponde a quantidade de retenção da farinha de mandioca pela peneira, desta forma pode-se denominar de extra fina quando vazar 100% na peneira nº 10 e ficar retida no máximo 15% na peneira nº 18, e apresentar mais de 3% a 25% de pó, já a fina beneficiada, quando vazar 100% na peneira nº 10, e ficar retida no máximo 3% na peneira nº 18, e apresentar no máximo, 3% de pó, a fina ocorre ao vazar 100% na peneira nº 10, e ficar retida mais de 3% e até 20% na peneira nº 18, e apresentar no máximo 3% de pó, a média é classificada quando não se enquadrar em nenhum dos subgrupos anteriores e apresentar, no máximo, 3% de pó, a grossa é denominada quando a farinha de mandioca ficar retida em mais de 10% na peneira nº 10 e apresentar no máximo, 3% de pó e por fim a bijusada quando ficar retida em mais de 15% na peneira nº 10, e apresentar, no máximo, 2% de pó.

A classificação da farinha segundo a classe refere-se à cor da farinha torrada e pode ser branca ou amarela. A farinha branca possui a coloração natural das raízes de polpa branca ou levemente creme que é a cor mais comum para as farinhas. A farinha amarela é a cor comum nas regiões Norte e Nordeste do Brasil. Essa coloração pode ser:

- a) natural, devido ao uso de mandiocas de raízes amarelas
- b) obtidas artificialmente, pelo uso de corante natural de açafrão, ou mais frequentemente, do corante artificial Amarelo de Tartrazina (em razão da preferência do consumidor, é cada vez mais comum, à fabricação de farinha amarela artificialmente colorida). E por fim é classificada por tipo de acordo com a qualidade das farinhas: tipo 1, 2 e 3.

Segundo CEREDA, 2003, ARAÚJO, 2000 e DAMASCENO, 2004-2005, a farinha de mandioca também é classificada quanto ao grau de torrefação podendo

encontrar farinhas torradas, cruas e temperadas, esta última recebe óleo, sal, cebola, alho e glutamato de potássio, ervas, pimenta e outros condimentos, e é comercializada como farofa. A farinha e seus derivados se encontram no grupo de alimentos secos, pois tem uma vida prateleira mais longa (CAMARGO e BOTELHO, 2005).

1.2 Processamento da Farinha de Mandioca:

A produção de farinha de mandioca é muito simples, devido à utilização de máquinas de fácil operação e não requer mão de obra altamente especializada, tendo uma relação sócio-histórico-cultural de uma tradição que foi herdada dos índios, um dos nossos ancestrais no Brasil, especialmente na Amazônia.

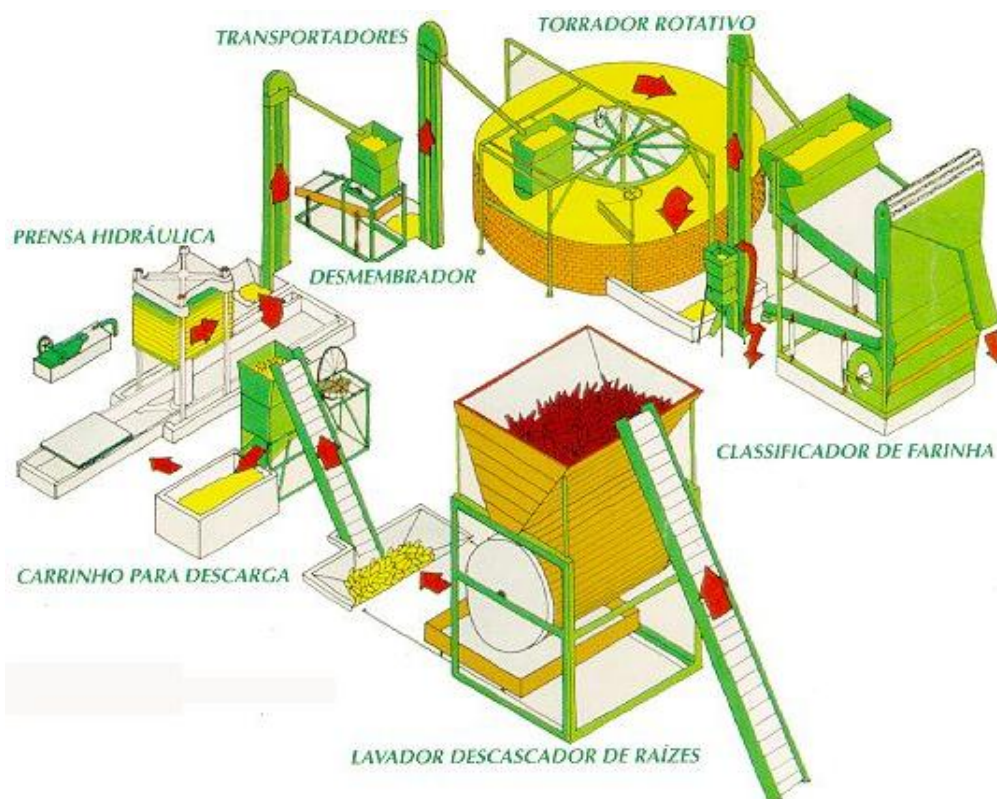
A obtenção da farinha é realizada tendo que tomar alguns cuidados necessários para que se obtenha um produto final de boa qualidade, é conveniente possuir uma localização adequada para o processamento, uma higienização das instalações, equipamentos e dos trabalhadores, assim como também a escolha da matéria prima de boa qualidade e tecnologia de processamento, embalagem e armazenagens adequadas. As etapas que constituem a obtenção da farinha estão descritas abaixo, e mostradas na Figura 1, que vai desde a colheita da mandioca até a embalagem do produto para a comercialização (DAMASCENO, 2005 e ARAÚJO, 2000). A Figura 2 mostra os equipamentos de operação de uso industrial para o processamento da farinha, o que está bem longe da realidade das casas de farinha tradicionais, que ainda são realizadas de forma artesanal e em locais que ficam nas próprias instalações de seus produtores, em que praticamente todos da família

desenvolvem essa atividade e que na maior parte é a única atividade lucrativa destes (CEREDA e VILPOUX, 2003).



Fonte: www.agrotrends.com.br/imagens/f32.htm (2002).

Figura 1. Fluxograma das etapas de processamento da farinha de mandioca.



Fonte: www.agrotrends.com.br/imagens/f32.htm (2002).

Figura 2. Sistema de máquinas utilizadas para produção de farinha de mandioca.

O procedimento para a fabricação da farinha começa com a colheita da raiz da mandioca, que são realizadas no prazo de 16 a 20 meses após seu plantio, devendo ser processada no prazo máximo de 36 horas, devido ao escurecimento das raízes, e posteriormente a ocorrência da fermentação (LIMA, 1982). As raízes são lavadas para eliminação de sujeiras, reduzindo possíveis contaminações por micro-organismos e depois são descascadas manualmente, com facas afiadas ou raspador, ou por descascador mecânico. As etapas de lavagem e descascamento são realizadas ao mesmo tempo, através do atrito das raízes entre si e delas com as paredes do equipamento, com fluxo contínuo de água.

Logo em seguida, ocorre a ralação, obtendo uma massa mais ou menos fina, e nesta etapa as células das raízes são rompidas permitindo a homogeneização da farinha. Normalmente é feita em cilindro provido de eixo central com serrinhas que não devem ter dentes tortos, faltantes, gastos ou enferrujados, pois define a granulometria (CEREDA e VILPOUX, 2003). A prensagem ocorre após a ralação sendo realizada em prensas manuais de parafuso ou em prensas hidráulicas e tem como objetivo reduzir a umidade presente na massa ralada com finalidade de impedir fermentações indesejadas, evitando-se também o aparecimento de goma (gelificação). A água resultante da prensagem da massa ralada é chamada "manipueira" que é muito tóxica e poluente. Uma tonelada de mandioca produz cerca de 300 litros de "manipueira" (LIMA, 1982 e CEREDA e VILPOUX, 2003). A massa ao sair da prensa é esfarelada e peneirada em malhas finas, na qual ficarão retidas as frações grosseiras contidas na massa, chamada crueira crua que é um subproduto que pode servir para a alimentação de animais. Essa peneira vai reter as fibras, pedaços de casca e de raízes que não foi eliminado pelo ralador, tendo a função de determinar a granulometria da farinha (OTSUBO e LORENZI, 2004, LIMA, 1982 e CEREDA e VILPOUX, 2003).

Uma vez esfarelada e peneirada, a massa é colocada em bateladas no forno para eliminação do excesso de água, por um período aproximado de 20 minutos, com o forneiro mexendo com o auxílio de um rodo de madeira, de cabo longo e liso. Em seguida, a farinha vai sendo colocada em pequenas quantidades em outro forno para uniformização da massa e torração final, mexendo, uniformemente, até a secagem final da farinha, que é em torno de 13% de umidade (OTSUBO e LORENZI, 2004, BRASIL, 1995), nesta etapa se define a cor, o sabor e a durabilidade da farinha (CEREDA e VILPOUX, 2003). A farinha após ser torrada é

classificada como fina ou grossa, devido a uma série de peneiras com diferentes crivos e padronizações, a partir daí é acondicionada em sacos de algodão ou de papel kraft de 45 kg para o atacado e em sacos de 0,5 Kg e 1 Kg para o varejo. Por último é armazenado em local seco e ventilado com pisos e paredes laváveis, teto de laje ou PVC e cobertura com telha. Deve ser feito um combate constante a insetos e roedores e ainda, um giro dos estoques, usando-se primeiro o produto mais antigo (OTSUBO e LORENZI, 2004, BRASIL, 1995).

A comercialização da farinha de mandioca, tanto em atacado como varejo, deve constar algumas informações relevantes para o seu consumo, como por exemplo, número do lote, grupo (farinha de mandioca d'água, seca ou mista), subgrupo (farinha fina ou grossa), classe (farinha branca ou amarela), tipo (1, 2 ou 3), safra e peso líquido do produto.

1.3 Composição química da farinha de mandioca

É preciso ter conhecimento da composição dos alimentos consumidos no Brasil para se ter um controle da qualidade e segurança dos alimentos, levando informações de forma a contribuir para uma dieta mais saudável para a população. O projeto TACO (Tabela de Composição de Alimentos), desenvolvido pelo Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação – NEPA/UNICAMP estuda e gera novos dados sobre a composição dos alimentos que são consumidos no Brasil. Na Tabela 1 representa a Composição de Alimentos por 100 g de parte comestível da mandioca e da farinha de mandioca realizado pelo projeto TACO em 2008.

De acordo com o IBGE (1999), a mandioca quando cozida perde o seu valor nutricional em calorias (energia), proteínas, lipídeos, carboidratos e fibras, quando comparado à sua forma crua. Porém, ao ser transformado em farinha este

valor nutricional aumenta consideravelmente. A Tabela 2 mostra os valores de calorias, proteínas, carboidratos e fibras referentes a mandioca crua, mandioca cozida e a farinha de mandioca. Este estudo indicou que a farinha de mandioca apresenta um valor calórico duas vezes maior que a mandioca crua ou cozida, fato que ocorre devido à desidratação, concentrando-se todos os componentes analisados na composição do alimento. O teor de fibras na farinha de mandioca é quase duas vezes maior que a da mandioca crua, sendo assim, a fibra encontrada na farinha pode ser favorável à saúde dos seus consumidores, além das vantagens de ser um produto barato.

Tabela 1. Composição química da mandioca e da farinha de mandioca por 100 gramas de parte comestível: Centesimal, minerais e colesterol.

Características	Mandioca	Farinha de Mandioca
Umidade (%)	62,98	9,78
Energia (Kcal)	133	338
Proteína (g)	1,30	1,82
Lipídios (g)	0,28	0,56
Colesterol (g)	0	0
Carboidratos (g)	33,86	87,14
Fibra Alimentar (g)	2,44	5,66
Cinzas (g)	1,58	0,70
Cálcio (g)	15	65
Magnésio (g)	44	37
Manganês (g)	0,1	Traços
Fósforo (g)	29	42
Ferro (g)	0,3	1,1
Sódio (g)	2	1
Potássio (g)	204	340
Cobre (g)	0,07	0,08
Zinco (g)	0,2	0,4

Fonte: TACO – Tabela de Composição de Alimentos, 2011.

Tabela 2. Tabela de composição da mandioca crua e cozida e da farinha de mandioca.

Amostra	Calorias (Cal)	Proteínas (g)	Carboidratos(g)	Fibras (g)
Mandioca Crua	149	0,8	36	1,0
Mandioca Cozida	119	0,6	28,9	0,8
Farinha de mandioca	354	1,7	86,4	1,8

Fonte: IBGE, 1999.

A mandioca crua e cozida apresenta diferenças em todos os seus nutrientes e minerais. A mandioca cozida apresenta valores menores que a mandioca crua em calorias, glicídios, proteínas, lipídios, fibra e cinzas. Embora se considere a farinha de mandioca como alimento de subsistência, vários tipos de inovações têm melhorado sua imagem junto ao consumidor. A composição da mandioca aponta uma matéria prima rica em amido, com menores teores de outros componentes (proteína e lipídios) quando comparada à batata (CEREDA e VILPOUX, 2003).

A composição da farinha depende muito da raiz da mandioca que é cultivada em diferentes tipos de solo. Já a umidade e a acidez dependem do processo e da maneira de armazenamento do produto. Na Tabela 3 estão mostrados os valores de composição entre vários tipos de farinha. Pelos dados apresentados pode-se constatar que os valores são bem diferentes fixados pela legislação brasileira, exceto para teor de amido e cinzas (CEREDA e VILPOUX, 2003).

Os valores de cinzas obtidos são importantes para verificar fraudes na fabricação de farinha de mandioca, por causa do processamento inadequado, da entrada de areia na etapa da lavagem e descascamento (CEREDA e VILPOUX, 2003)

Tabela 3. Resultados médios de análises de amostras de farinha de mandioca coletadas em indústrias dos Estados de São Paulo, Paraná (Paranavaí) e Santa Catarina.

	Crua		Torrada			Outras	
	Grossa	Fina	Fina	Grossa	Beiju	Farofa	Amarela
Umidade %	10,01	9,91	6,24	7,46	8,06	7,39	6,57
% Matéria seca							
Amido	88,16	88,80	*	89,18	78,26	90,04	91,18
Açúcar solúvel	2,45	2,23	2,20	1,81	2,75	1,69	1,10
Fibra	3,51	3,25	3,66	2,35	2,94	5,54	2,84
Proteína	1,64	1,46	1,59	1,75	1,65	1,38	1,12
Lipídios	0,30	0,27	0,25	0,31	0,24	6,37	0,25
Cinzas	0,91	1,06	0,92	1,56	1,02	3,41	1,13
Outras							
pH	6,27	6,27	6,01	5,66	6,47	5,52	5,88
Acidez	2,27	2,23	2,79	3,71	2,66	3,74	2,50

Legenda: * Não disponível

Fonte: CERAT/UNESP

DIAS & LEONEL (2006) avaliando a composição centesimal de farinhas de mandioca de diferentes grupos e classes, de diversas localidades do Brasil, observaram valores de umidade variando de 3,10 % a 11,57 %, cinzas de 0,48 % a 1,12 %, fibras de 0,57 % a 2,75 %, proteína de 0,57 % a 1,08 %, matéria-graxa de 0,15 % a 1,39 %, açúcares solúveis totais de 0,26 % a 2,46 % e amido de 81,92 % a 91,55 %. Comparando os resultados obtidos para a farinha de mandioca integral foram observados maiores teores de fibras e cinzas, o que já era esperado, considerando que estas amostras não foram submetidas às etapas de prensagem e peneiramento. A composição físico-química da farinha de mandioca mostrou elevado

teor de amido, um considerável teor de fibras e uma baixa concentração de lipídeos e proteínas (Tabela 4).

Tabela 4. Composição físico-química da farinha de mandioca integral.

Componentes	Teores médios (%)	Desvio Padrão
Umidade	4,5	0,05
Amido	85,2	0,3
Açúcares solúveis totais	1,68	0,04
Proteínas	0,96	0,08
Lipídeos	0,87	0,2
Cinzas	2,39	0,03
Matéria graxa	0,65	0,02
Fibras	4,5	0,25

Fonte: Dias & Leonel, 2006.

Os minerais responsáveis para a manutenção diária do valor nutricional dos indivíduos são frequentemente referidos como elementos traço, pois suas necessidades para manter as funções do organismo são de apenas poucas quantidades. Existem recomendações específicas para estes nutrientes, os quais se baseiam na ingestão mínima para prevenir deficiências que possam impedir o funcionamento do organismo e o limite máximo para evitar toxicidade (PADOVANI, *et al.*, 2006).

A Ingestão Dietética de Referência (DRIs - *Dietary Reference Intakes*) é um grupo de 4 valores de referência de ingestão de nutrientes, com maior abrangência do que as Recomendações Nutricionais (RDAs - *Recommended Dietary*

Allowances), que vêm sendo publicadas desde 1941 pela Academia Nacional de Ciências dos Estados Unidos. As DRIs podem ser usadas para planejar dietas, definir rotulagem e planejar programas de orientação nutricional. Já a RDA para a construção de seus limites, riscos de redução de doenças crônicas não transmissíveis e recomendação de que a ingestão diária não ultrapasse um limite máximo para prevenir riscos de efeitos adversos (PADOVANI, *et al.*, 2006).

Existem alguns elementos essenciais a vida humana, elementos chamados de macro e micronutrientes, estes são fundamentais para o bom desempenho das nossas funções biológicas e fisiológicas, alguns desses elementos são citados abaixo.

1.3.1 FERRO

O ferro é encontrado em vários alimentos, tanto de origem animal (carnes de todos os tipos, leite e ovos), como vegetal (verduras de coloração verde escura, feijão, soja, entre outros). Entretanto, o que precisa ser evidenciado é a capacidade do organismo em aproveitar este ferro oferecido para exercer as suas mais diversas funções, o que determina a sua biodisponibilidade. A falta de ingestão de ferro diariamente em quantidades adequadas ao organismo humano pode acarretar e um problema sério de saúde, chamado de anemia ferropriva.

Aproximadamente 60% dos afetados por essa deficiência são crianças e mulheres na idade reprodutiva (SEBECIC e VEDRINA-DRAGOJEVIC, 2004). A ingestão diária recomendada é de 10-20 mg de ferro para adultos. Entretanto, em mulheres grávidas essa necessidade diária aumenta para 30 mg (REIS, *et al.*, 2002). Um organismo adulto contém de 3 a 5 g de ferro, aproximadamente 2.000 mg

como hemoglobina e 8 mg como enzimas. Também parece estar envolvido na função imune e no desempenho cognitivo. O ferro é encontrado nas frutas, como a banana e a cereja, carne magra, fígado, ostras, mariscos, soja, vegetais verdes, aves, peixe, feijão, ovos (DRIs, 2002 e REIS, *et. al.*, 2002). No Brasil, a ANVISA, segundo a Portaria nº 33, de 13 de Janeiro de 1998, recomenda o consumo de 14 mg dia⁻¹ para adultos, para Lactantes 6 mg dia⁻¹, para crianças 19 para Lactantes 6 mg dia⁻¹ e para gestantes 30 para Lactantes 6 mg dia⁻¹. O RDA para mulheres na idade de 19-50 é de 18 mg dia⁻¹ (RDA, 1989 e GOLDHABER, 2003).

1.3.2 CÁLCIO

O cálcio é o quinto elemento mais abundante no organismo humano. Constitui cerca de 1,5 a 2% do peso corpóreo - 99% do cálcio está nos ossos e dentes e 1% restante está no sangue e líquidos extracelulares e dentro das células dos tecidos moles. Também é necessário para a transmissão nervosa e regulação do batimento cardíaco. É absorvido principalmente na parte do duodeno onde um meio ácido prevalece no íleo e no cólon. Normalmente apenas 20 a 30% do cálcio ingerido, e algumas vezes uma quantia tão pequena quanto 10%, é absorvida. Só é absorvido se estiver presente em uma forma hidrossolúvel. O cálcio não absorvido é excretado nas fezes e na urina. É encontrado em vegetais de folhas escuras, como couve, couve-manteiga, folhas de mostarda e brócolis, sardinhas, moluscos bivalves, ostras e salmão, laticínios, ovos, nozes, cereais, feijão e frutas (DRIs, 2002). Sua deficiência na dieta provoca nas crianças uma má formação óssea e dentes, enquanto o excesso pode ocasionar pedras nos rim (SILVA *et.al.*, 2004). A ingestão de cálcio recomendada é de 1000 mg dia⁻¹ para adultos (BIEGO *et.al.*, 1998).

1.3.3 FÓSFORO

O fósforo é um dos elementos mais essenciais, está em segundo lugar depois do cálcio em abundância nos tecidos humanos. Tem numerosas funções críticas no organismo. Algumas delas: o DNA e o RNA são baseados nos monômeros de éster de fosfato; a principal corrente de energia contém uma ligação de fosfato de alta energia; está presente em todas as membranas celulares do organismo; integra a estrutura dos ossos e dentes, dando-lhes maior solidez; participa ativamente do metabolismo dos glicídios; atua na contração muscular, entre outras. A maior parte do fósforo, cerca de 60%, vem do leite, carne bovina, aves, peixes e ovos. Outros alimentos ricos em fósforo são: cereais, leguminosas, frutas, chás e café. Segundo a DRIs, o limite de P para lactantes é de 275 mg dia⁻¹, para crianças de até 8 anos é de 500 mg/dia, para homens e mulheres de 09 a 18 anos é de 1250 mg dia⁻¹ e a partir de 19 anos é de 700 mg⁻¹ dia (DRIs, 2002). A deficiência de fósforo na infância pode levar a uma má formação da dentição e causa o raquitismo. Já em adultos, leva à osteoporose, mal que, aliás, atinge uma grande parte da população brasileira (LANDSMAN, *et. al.*, 2005). A ANVISA recomenda a IDR de 700 mg dia⁻¹ de fósforo para um adulto (BRASIL, 1990, BIEGO, *et. al.*, 1998).

1.3.4 POTÁSSIO

O potássio é um elemento importante que constitui cerca de 5% do conteúdo total de minerais no organismo. Promove o crescimento celular. É absorvido através do trato intestinal e excretado pela urina, fezes e suor. Os rins mantêm os níveis de soro através de sua habilidade de filtrar, reabsorver e excretar potássio. É encontrado em vegetais, verduras, legumes, pão, frutas, principalmente na banana e laranja, carne, aves, peixes, leite e cereais (DRIs, 2002). A deficiência desse elemento causa fraqueza muscular, desorientação e fadiga. A RDA recomendada é de 2000 mg dia⁻¹ (GOLDHABER, 2003).

1.4 *Determinação de elementos-traço em alimentos*

A determinação de alguns elementos-traço em alimentos é de grande importância para o controle toxicológico e para a saúde humana. Desta forma, é necessário monitorar continuamente esses elementos em alimentos a fim de se quantificar suas concentrações visando obter valores para traçar um perfil nutricional e quanto ao nível de contaminação, assim como estabelecer uma monitoração de sua dosagem máxima permitida para que o indivíduo não venha a sofrer efeitos toxicológicos com a ingestão excessiva destes.

Diversos programas estudam e divulgam seus resultados a fim de se obter um controle da qualidade dos alimentos consumidos no Brasil, conhecimento de sua composição e segurança dos alimentos levando informações de uma dieta mais saudável para a população, dentre estes a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), coordena, supervisiona e controla as atividades de registro,

informações, inspeção, controle de riscos e estabelecimento de normas e padrões. O objetivo é garantir as ações de vigilância sanitária de alimentos, bebidas, águas envasadas, seus insumos, suas embalagens, aditivos alimentares e coadjuvantes de tecnologia, limites de contaminantes e resíduos de medicamentos veterinários. Essa atuação é compartilhada com outros ministérios, como o da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, e com os Estados e Municípios, que integram o Sistema Nacional de Vigilância Sanitária.

O projeto TACO (Tabela de Composição dos Alimentos) desenvolvido pelo Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação – NEPA/UNICAMP estuda e gera novos dados sobre a composição dos alimentos que são consumidos no Brasil e a CODEX Alimentarius (Programa da Organização das Nações Unidas para a Agricultura e a Alimentação - FAO e da Organização Mundial da Saúde – OMS), com propósito de normalizar os alimentos com a finalidade de proteger a saúde da população, assegurando práticas justas no comércio regional e internacional de alimentos, criando mecanismos internacionais dirigidos à remoção de barreiras tarifárias, promovendo e coordenando todos os trabalhos que se realizam em normalização (CODEX, 1998 e OLESZCZUK, 2008).

UNDERWOOD em 1977 define 26 elementos como essenciais ao ser humano. Na faixa de gramas/100 g de produto, os seguintes elementos: C, H, N, O, P, Ca, S, Cl, K, Mg e Na; na faixa de $\mu\text{g g}^{-1}$ e ng g^{-1} os elementos: Fe, I, Zn, Se, Mn, Cu, Cr, Mo, Co, Ni, F, Sn, Si, V e As. Esses elementos estão relacionados à saúde humana e às doenças, uma vez que sua deficiência ou excesso podem induzir mudanças fisiológicas nos indivíduos (GIBSON, 1989).

Os elementos traço foram distribuídos em 3 grupos pela OMS (WHO, 1996), em função de sua significância nutricional em humanos: elementos

essenciais: I, Zn, Se, Cu, Mo, Cr, Fe e Co; elementos provavelmente essenciais: Mn, Si, Ni, B, V; elementos potencialmente tóxicos, alguns dos quais podem contudo apresentar algumas funções essenciais em níveis baixos de concentração: F, Pb, Cd, Hg, As, Al, Li, Sn.

Do ponto de vista de saúde pública é importante assegurar à população que a ingestão de todos os nutrientes seja adequada numa dieta normal. Ao mesmo tempo, a dieta não deve conter elementos tóxicos acima dos níveis permissíveis. Com exceção da exposição ambiental, a maior entrada desses elementos, essenciais e tóxicos, no organismo humano, ocorre via cadeia alimentar (COZZOLINO, 2000).

1.4.1 ARSÊNIO

O Arsênio (As) é um elemento tóxico, sua ocorrência na natureza se encontra em diversas formas químicas, incluindo espécies orgânicas e inorgânicas, em minérios formados por enxofre (S), sob as formas As_4S_4 e As_2S_3 . É encontrado como resultado de sua participação em complexos biológicos, processos químicos e algumas aplicações industriais, como a manufatura de certos vidros, materiais semicondutores e fotocondutores (BARRA, *et al.*, 2000). Os compostos contendo arsênio são utilizados no tratamento de determinadas doenças e, na agricultura, também é encontrado nos defensivos agrícolas, fungicidas, herbicidas, inseticidas e usados em alimentos para aves e suínos (MCKENZIE, *et al.*, 1998 e SANTA MARIA, *et. al.*, 1986). Longas exposições a compostos inorgânicos de arsênio podem provocar diversos problemas à saúde, destacando-se: conjuntivite, hiperqueratose, hiperpigmentação, doenças cardiovasculares, distúrbios no sistema nervoso central

e vascular periférico, câncer de pele e gangrena nos membros (BARRA, *et al.*, 2000). O As se encontra em duas formas de oxidação, o As^{+3} (arsenito) e o As^{+5} (arseniato), sendo a forma trivalente 60 vezes mais tóxico do que a pentavalente (CERVERA e MONTORO, 1994).

Segundo a FAO, OMS e a Codex Alimentarius, estabeleceram As como um elemento que em presença não controlada em alimentos poderia ser potencialmente tóxico e estabeleceram um limite máximo de ingestão permitida em $2,1 \text{ mg de As Kg}^{-1}$.

1.4.2 CÁDMIO

O cádmio é um metal que causa efeitos tóxicos nos organismos vivos, mesmo em concentrações muito pequenas. A sua exposição ocorre geralmente por via oral (por água e ingestão de alimentos contaminados) e por inalação. Os fumantes são os mais suscetíveis a contaminação por cádmio, devido aos cigarros conter este elemento (AZEVEDO e CHASIN, 2003). A contaminação de cádmio é devido ao uso de certos fertilizantes ou de excrementos de animais no solo que podem causar acúmulo nos alimentos cultivados, a queima de combustíveis fósseis (como carvão e petróleo) e pela incineração de lixo doméstico. Entra na corrente sanguínea por absorção no estômago ou nos intestinos a ingestão do alimento ou da água, ou por absorção nos pulmões após a inalação. Muito pouco cádmio entra no corpo através da pele. Usualmente só é absorvido pelo sangue cerca de 1 a 5% do cádmio ingerido por via oral, entretanto é absorvido de 30 a 50% quando inalado. A maior fonte de cádmio nos alimentos é encontrada nos grãos e cereais (AZEVEDO e CHASIN, 2003). No Brasil, a ANVISA, segundo a Portaria nº 5, 5.871, de 26 de

Março de 1965, para alimentos em geral, a concentração permitida é de $1,0 \text{ mg kg}^{-1}$ (BRASIL, 1990).

1.4.3 COBRE

O cobre é um elemento essencial para diversas funções orgânicas, como a mobilização do ferro para a síntese da hemoglobina, a síntese do hormônio da adrenalina e a formação dos tecidos conjuntivos. Sua presença é essencial para processos fisiológicos normais como respiração celular, síntese de melanina, biossíntese de tecido conectivo, defesa de radicais livres e metabolismo de ferro intracelular. Maiores concentrações de cobre são encontrados no fígado, cérebro, coração e rim, pequenas quantidades de cobre é absorvido no estômago, e a máxima absorção se encontra no intestino delgado, com quantidades variando entre 25 e 60%. Esta absorção vai diminuindo de acordo com o aumento da ingestão. É excretado pela bile no trato intestinal e eliminado nas fezes. Já a concentração em alimentos varia de país para país de acordo com o tipo de produto, as condições de cultivos (solo, água, uso de fertilizante e fungicidas que contenham este metal), o tipo de processamento e a utilização do produto (AZEVEDO e CHASIN, 2003). A maior fonte de cobre se encontra nos alimentos, destacando-se: ostras, fígado, rim, chocolate, nozes, leguminosas secas, cereais, frutas secas, carne, aves, ovos, e mariscos, que fornecem 75% da entrada de cobre (respectivamente 32, 28 e 15%) (GOLDHABER, 2003 e FRANCO, 1999).

A deficiência de Cu pode causar anemia, neutropenia, leucopenia e desmineralização óssea, já o excesso causa náusea, vômito, hemorragia gastrointestinal, diarreia, anemia hemolítica, cirrose hepática crônica e icterícia

(BASU e DICKERSON, 1996; KATHLEEN, *et al.*, 1998, FRANCO, 1999 e DANKS, 1988). A Organização Mundial de Saúde estima a cota de ingestão de cobre (em alimentos) entre 1-3 mg dia⁻¹. A IDR brasileira para cobre é de 0,9 mg dia⁻¹ para adultos (ANDERSON, *et al.* 1992).

1.4.4 CHUMBO

O chumbo é um elemento tóxico não essencial, o qual acumula-se no organismo. Dependendo do nível e duração da exposição pode afetar vários sistemas orgânicos.

A contaminação de chumbo em alimentos pode ser proveniente da absorção por plantas presentes em solos com concentrações elevadas desse elemento ou tratadas com pesticidas à base de arseniato de chumbo; deposição de Pb na superfície de vegetais consumidos por animais empregados no consumo humano ou consumidos pelo homem diretamente; adição inadvertida de Pb no processamento de alimentos; liberação de Pb de latas de conservas e cerâmicas usadas como utensílios na alimentação (SAPUNAR-POSTRUZNIK *et al.*, 1996).

A Organização Mundial de Saúde (OMS), do inglês A WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) propõe que a tolerância de ingestão semanal seja de 3 mg de Pb para adultos (400 a 450 µg dia⁻¹). Os alimentos (incluindo água potável e bebidas alcoólicas) são as maiores fontes de exposição da população ao chumbo. Crianças podem ter exposição adicional vindas de solo e poeiras. O chumbo, mesmo em baixas concentrações, é estranho ao metabolismo humano, podendo interferir em diversas partes do metabolismo e causar intoxicações. A intoxicação do chumbo a longo prazo denomina-se saturnismo ou plumbismo.

A OMS afirmou em 1994 que para cada aumento de $0,1\text{mg L}^{-1}$ de Pb no sangue das crianças significaria uma queda de 1-3 pontos no quociente de inteligência - QI (OLIVEIRA, 2002).

Conforme a OMS, o limite máximo permitido para alimentos de chumbo é de $10\ \mu\text{g g}^{-1}$, enquanto que a Portaria 685 da ANVISA (BRASIL, 1998) tolera limites de $0,05$ a $2,0\ \text{mg kg}^{-1}$.

1.4.5 ZINCO

O zinco é o segundo microelemento mais encontrado no organismo humano, sendo conhecido como essencial para os microrganismos. São encontrados de 2 a 3 g no organismo de um adulto, com as maiores concentrações no fígado, pâncreas, rins, ossos e músculos voluntários e também partes dos olhos, glândula prostática, espermatozóides, pele, cabelos e unhas. Este elemento participa de reações na síntese ou degradação de carboidratos, lipídeos, proteínas e ácidos nucléicos. Também está envolvida nos processos de transporte, função imune e expressão da informação genética (MORAES, *et. al.*, 2010).

Estudos consideram que o homem está principalmente exposto ao zinco através da ingestão de alimentos, sendo que 10-30% do valor do elemento é absorvido pelo homem (GOLDHABER, 2003 e REIS, *et al*, 2002). É distribuído por todo o reino vegetal e animal em abundância em segundo lugar em relação ao ferro. Algumas das principais fontes desse mineral são: carnes bovinas, peixes, aves, leite e derivados, ostras, mariscos, grãos, cereais, nozes e feijão (DRIs, 2002). Outros alimentos podem conter na faixa entre $2,0\ \text{mg Kg}^{-1}$ (vegetais) a $29,0\ \text{mg Kg}^{-1}$ (em carnes, peixes e aves). Dentre os alimentos, o grupo dos carne-ave-ovos fornece 58% da entrada dietética total do zinco (GOLDHABER, 2003). A alta deficiência do

zinco leva ao desenvolvimento lento ou à má formação congênita. A RDA deste elemento é de 11,0 mg dia⁻¹ para homens e 8,0 mg dia⁻¹ para mulheres (não gestantes ou lactantes) (AZEVEDO e CHASIN, 2003) A IDR recomendada pela ANVISA é de 7,0 mg dia⁻¹ (GOLDHABER, 2003).

A Tabela 5 destaca as recomendações de nutrientes necessárias para um bom desempenho de um bom funcionamento de um indivíduo, incluindo os lactantes, crianças, homens e mulheres.

Segundo a Tabela Brasileira de Composição dos Alimentos, a concentração de zinco em farinha de mandioca crua é de 0,08 mg por 100 g de amostra analisada e para a farinha de mandioca torrada foi encontrado apenas traços.

Tabela 5. Recomendações nutricionais diárias de minerais para lactantes, crianças, mulheres e homens.

Elementos	Lactantes (0 a 12 meses)	Crianças (até 8 anos)	Homens	Mulheres
Ca	270 mg dia ⁻¹	500-800 mg dia ⁻¹	1000-1300 mg dia ⁻¹	1000-1300 mg dia ⁻¹
P	275 mg dia ⁻¹	500 mg dia ⁻¹	700-1250 mg dia ⁻¹	700-1250 mg dia ⁻¹
Fe	0,27-11 mg dia ⁻¹	7-10 mg dia ⁻¹	8-11 mg dia ⁻¹	8-15 mg dia ⁻¹ 27* mg dia ⁻¹
K	0,5-0,7 g	3-4,5 g	4,7 g	4,7-5,1 g
Zn	2-3 mg dia ⁻¹	3-5 mg dia ⁻¹	8-11 mg dia ⁻¹	8-9 mg dia ⁻¹

Fonte: *Dietary Reference Intakes Table, Food and Nutrition Board, National Academy of Sciences, 2002.*

*para gestantes

1.5 *Objetivos*

1.5.1 **Objetivo Geral**

Propor estratégias analíticas para a determinação de nutrientes e contaminantes em amostras de farinha de mandioca empregando diferentes técnicas espectrométricas, como também, contribuir para a caracterização mineral da farinha produzida e consumida no estado da Bahia.

1.5.2 **Objetivos Específicos**

- Propor procedimento analítico para determinação multielementar simultânea de macro-elementos (Ca, Mg, K e P) e micro-elementos (Al, Ba, Cu, Fe, Mn, Ni e Zn) em amostras de farinha de mandioca, empregando espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado, de forma a contribuir para a tabela de composição de alimentos regionais.
- Propor procedimento analítico para determinação multielementar de Br, Cl e I em amostras de farinha de mandioca empregando digestão em forno de micro-ondas com cavidade e espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado.
- Propor procedimento analítico para determinação de As, Cd, Pb e Se em amostras de farinha de mandioca empregando digestão em forno de micro-ondas com cavidade e espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica e detecção simultânea.

- Caracterizar os tipos de farinha de mandioca produzidas e consumidas pela população da região, a partir da análise da composição mineral empregando ferramentas quimiométricas.

Capítulo II

Avaliação de Procedimentos para Preparo das Amostras de farinha de mandioca

2.0 Avaliação de Procedimentos para Preparo das Amostras de farinha de mandioca

2.1 Procedimentos para preparo de amostras

O pré-tratamento de amostra é a etapa que envolve a digestão, a extração ou a preparação do analito antes da sua determinação, sendo a etapa mais crítica, pois é a que mais se cometem erros e que se gasta mais tempo, requerendo cerca de 61% do tempo total necessário para a emissão dos resultados (FLORES *et al.* 2004).

O pré-tratamento das amostras de alimentos antes da quantificação por técnicas espectroanalíticas geralmente é realizado através da mineralização com ácidos inorgânicos empregando aquecimento condutivo ou aquecimento por micro-ondas. O aquecimento condutivo, empregando chapa ou bloco digestor, apresenta a vantagem do baixo custo e os fornos com radiação por micro-ondas apresentam as vantagens de serem mais rápidos e proporcionarem digestões mais eficientes (KRUG, 2006).

Nas análises de rotina em laboratórios devem-se considerar diversos fatores na escolha de um método de digestão de amostra, tais como: níveis de contaminação introduzida durante a preparação de amostra; grau de volatilização ou processo de retenção do analito; possibilidade para se dar com uma amostra representativa da população. Isso significa que, a menos de certas pequenas discrepâncias inerentes à aleatoriedade sempre presente, em maior ou menor grau, no processo de amostragem, a amostra deve possuir as mesmas características básicas da população, no que diz respeito à(s) variável(is) que desejamos pesquisar; integridade da digestão e reprodutibilidade em recuperar o analito da matriz;

adequação da técnica analítica empregada; tempo necessário para a preparação da amostra e aspectos econômicos, incluindo o trabalho e o consumo de reagentes e o custo dos equipamentos (SAPKOTA, *et al.*, 2005, KRACHLER, *et al.*, 2002 e ORODUSHKIN, *et al.*, 1999).

A escolha de um método de digestão de amostra adequada deve considerar uma manipulação mínima de amostra para que venha diminuir os níveis de contaminação durante a etapa de preparo de amostra.

2.2 Validação do método.

O processo de validação do método tem como objetivo confirmar se os métodos são apropriados para o uso pretendido (WALSH, 1999, ABNT, 2005, LEITE, 1998 e RIBANI, *et al.*, 2004), garantindo que a metodologia analítica seja exata, reproduzível e flexível sobre uma faixa específica que uma substância será analisada através de estudos de laboratório, de que realiza aquilo para o qual é indicado para fazer. O processo de validação é um processo contínuo que começa no planejamento da estratégia analítica e continua ao longo de todo o seu desenvolvimento e transferência (RIBANI, *et al.*, 2004).

Para registros de novos produtos, existem órgãos no Brasil e em outros países, que exigem a validação de metodologia analítica e para isso definem documentos oficiais que são diretrizes a serem adotadas no processo de validação. Esses registros podem definir se os métodos e os sistemas são adequados para o uso desejado, dentre os órgãos, pode-se citar a Alimentarius Commission on Methods of Analysis and Sampling (CODEX), o ICH (*International Conference on Harmonization*), a ANVISA, US-FDA (*United States Food and Drug Administration*),

Comissão Européia e o INMETRO (Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial).

No Brasil, há duas agências credenciadoras para verificar a competência de laboratórios de ensaios, a ANVISA e o INMETRO. Estes órgãos disponibilizam guias para o procedimento de validação de métodos analíticos, respectivamente, a Resolução ANVISA RE nº 899, de 29/05/2003 e o documento INMETRO DOQ-CGCRE-008, de março/2003. Suas similaridades e diferenças podem ser melhor visualizadas na Tabela 6.

Tabela 6. Parâmetros de validação do INMETRO e ANVISA.

INMETRO	ANVISA
Especificidade/Seletividade	Especificidade/Seletividade
Faixa de trabalho e Faixa linear de trabalho	Intervalos de curva de calibração
Linearidade	Linearidade
	Curva de calibração
Limite de Detecção (LD)	Limite de Detecção (LD)
Limite de Quantificação (LQ)	Limite de Quantificação (LQ)
Sensibilidade (Inclinação da curva)	-
Exatidão e tendência	Exatidão
Precisão	Precisão
Repetitividade	Repetibilidade (Precisão intra-corrída)
Precisão intermediária	Precisão intermediária (Precisão inter-corrída)
Reprodutibilidade	Reprodutibilidade
Robustez	Robustez
Incerteza de medição	-

Fonte: * Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial.

** Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

Para isso, encontram-se algumas características para confirmar a validação, tais como: especificidade e seletividade; faixa de trabalho e faixa linear de trabalho; linearidade; sensibilidade; limite de detecção; limite de quantificação; exatidão e tendência; precisão; robustez e incerteza de medição (INMETRO, 2003, SOUZA, 2007). Esses termos também podem ser encontrados como parâmetros de desempenho (SWARTZ e KRULL, 1998), características de desempenho (THOMPSON, 2002 e INMETRO, 2003) e como Figuras analíticas de mérito (SWARTZ e KRULL, 1998). Esses parâmetros analíticos devem ser baseados na intenção do uso do método, por exemplo, se este for analisado qualitativamente em nível de traços, não há necessidade de se testar e validar a linearidade sobre toda a faixa linear dinâmica do equipamento (RIBANI, et al., 2004).

Os parâmetros analisados neste trabalho foram o limite de detecção (LD), o limite de quantificação (LQ) e a exatidão do método.

O LD é o menor valor de concentração do analito ou da propriedade que pode ser detectado pelo método (INMETRO, 2003 e RUELA, *et. al.*, 2005). O valor de LD pode ser encontrado se baseando no método dos parâmetros da curva analítica e é expresso como 3,3 vezes o valor da estimativa do desvio padrão (s) da resposta, que pode ser a estimativa do desvio padrão do branco, da equação da linha de regressão ou do coeficiente linear da equação dividido pela inclinação ("*slope*") ou coeficiente angular da curva analítica (S).

Para calcular estes dados, uma curva analítica deverá ser feita utilizando a matriz contendo o composto de interesse na faixa de concentração próxima ao LD. Softwares como Microsoft Excel[®] ou Microcal Origin[®], entre outros podem calcular os parâmetros da curva e a estimativa do desvio padrão relativo destes parâmetros.

O LQ é definido como a menor concentração do analito que pode ser determinada com um nível aceitável de precisão. Corresponde ao padrão de calibração de menor concentração, exceto o branco. Essa característica é avaliada para verificar se a exatidão e precisão encontradas são satisfatórias (INMETRO, 2003 e RUELA, et. al., 2005).

Os mesmos critérios de LD podem ser adotados para o LQ, que é expressa como 10 vezes o desvio padrão da resposta (s) (que pode ser a estimativa do desvio padrão do branco, da equação da linha de regressão ou do coeficiente linear da equação) e a inclinação da curva analítica (S), em níveis próximos ao LQ.

O melhor caminho para resolver este problema do cálculo do LD e LQ é utilizar o método baseado nos parâmetros da curva analítica, que é estatisticamente mais confiável. A curva analítica deve conter a concentração correspondente ao LQ (RIBANI, et. al., 2004).

A exatidão do método é a concordância entre o resultado de um ensaio e o valor de referência aceito como valor verdadeiro (ICH, 1995 e INMETRO, 2003). A ICH e a ANVISA estabelecem que um mínimo de nove determinações envolvendo um mínimo de três diferentes níveis de concentração deve ser seguido, por exemplo, ensaios em triplicata para três níveis de concentração. Para avaliar a exatidão do método, podem-se utilizar os processos: análise de materiais de referências, comparação de métodos, ensaios de adição e recuperação do analito (RIBANI, et. al., 2004).

O material de referência certificado (CRM) possui um valor de concentração, ou outra grandeza, para cada parâmetro e uma incerteza associada, que são reconhecidas e confiáveis por certos órgãos responsáveis, como por exemplo, a NIST (*National Institute of Standards and Technology* - USA), LGC

(Laboratory of the Government Chemist - UK), USP, FAPAS (Food Analysis Performance Assessment Scheme – UK), etc. (INMETRO, 2003).

Estes materiais são considerados ferramentas úteis para alcançar a rastreabilidade em medidas analíticas, para calibrar equipamentos e métodos, para monitorar a performance do laboratório, validar métodos e permitir a comparação entre métodos (TAVERNIERS, *et al*, 2004).

A comparação de métodos é um processo que consiste na análise entre os resultados obtidos empregando-se o método em desenvolvimento e os resultados obtidos através de um método de referência, avaliando o grau de proximidade entre os resultados obtidos pelos dois métodos, ou seja, o grau de exatidão do método testado em relação ao de referência. Esta abordagem assume que a incerteza do método de referência é conhecida. Essas análises são realizadas em replicata, utilizando os dois métodos, sobre as mesmas amostras, em uma faixa de concentrações em que se pretende validar o método (RIBANI, *et al.*, 2004).

Os valores obtidos pelo laboratório (a média e a estimativa do desvio padrão de uma série de replicatas) da mesma amostra padrão devem ser comparados com os valores certificados do material de referência, para verificar a exatidão do método (RIBANI, *et al.*, 2004). Para esta comparação pode ser utilizado o ER (erro relativo), que é obtido através do cálculo na Equação 1, através da recuperação analítica (valor encontrado/valor esperado) x 100% (INMETRO, 2003).

$$ER = \frac{X_{experimental} - X_{verdadeiro}}{X_{verdadeiro}} \times 100 \quad (\text{Equação 1})$$

A literatura dispõe de vários trabalhos publicados em artigos e revisões que relatam a validação de métodos analíticos definindo os critérios que devem ser seguidos durante seu desenvolvimento, os quais descrevem definições, procedimentos, parâmetros e estratégias de validação. Em 2003, JUNQUEIRA, *et al.* encontraram um estudo para a validação de um método de ensaio para determinação de aflatoxina M1 em leite. Foram realizados os ensaios de recuperação com soluções padrões e amostras artificialmente contaminadas, tendo sido avaliados os parâmetros de linearidade, especificidade, exatidão, precisão e limites de detecção e quantificação. Em 2009, ROCHA *et al.*, otimizou e validou um método por Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-MS), para determinação de As, Cd, Pb, Sb, Co, Cr, Mo, Ni, Se e V em algas comestíveis. As algas foram digeridas após secagem, por digestão ácida em forno de micro-ondas e analisadas por ICP-MS. Os resultados foram comparados com amostras certificadas de alface do mar, chá e folhas de pêra, de forma a avaliar a exatidão e precisão do método. Foram observados que em todos os casos, os valores encontrados tinham boa concordância com os do CRM.

2.3 Análise Multivariada

A Quimiometria é uma área especificamente destinada à análise de dados químicos de natureza multivariada. Consistindo na aplicação de métodos matemáticos e estatísticos para planejar experimentalmente ou selecionar experimentos de forma otimizada e ainda fornece o máximo de informação química com análise dos dados obtidos (FERREIRA, *et al.*, 1999 e SOUZA, 2003).

Os métodos quimiométricos mais utilizados para reconhecimento de padrão são: Análise dos Componentes Principais (PCA) e Análise Hierárquica de Agrupamento (HCA) e (SOUZA, 2003). Segundo Borges Neto, 2001, os métodos de reconhecimento de padrões possibilitam encontrar e/ou prognosticar uma propriedade de um conjunto de amostras, a qual não é diretamente mensurável, mas que são relacionadas com as medidas analíticas que são obtidas.

A PCA constitui a base fundamental para tratamentos de dados multivariados. É uma poderosa técnica de reconhecimento de padrão que tenta explicar a variância de um grande conjunto de variáveis inter-relacionadas (FERREIRA, *et al.*, 1999). Neste método, agrupam-se os dados multivariados com similaridades encontradas utilizando recursos matemáticos (SOUZA, 2003).

A HCA encontra grupos nos dados multivariados. A partir de uma matriz de dados originais, um algoritmo atribui valores de similaridade às amostras, através de cálculos de distância entre essas amostras, no espaço multidimensional, obtendo-se uma matriz de similaridade. Os dados da matriz de similaridade são inspecionados e as amostras de similaridade máxima são selecionadas, somadas e formam um centro de gravidade. Em seguida, outro par de amostras com maior similaridade é selecionado, e o processo continua até que todas as amostras sejam

contidas num único agrupamento. O resultado da HCA é representado na forma de um gráfico bidimensional, chamado de dendrograma (BORGES, 2001).

2.4 Objetivos:

- Avaliar diferentes procedimentos de digestão de amostras, comparando a decomposição por via seca (calcinação) e por via úmida (aquecimento condutivo em bloco digestor e assistido por radiações microondas).
- Selecionar os elementos que serão determinados, assim como as linhas de emissão e as condições operacionais visando determinação por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES).
- Validar o procedimento selecionado para determinação dos elementos em amostras de farinha de mandioca empregando espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES).
- Caracterizar a farinha de mandioca consumida no estado da Bahia em termos da composição mineral empregando ferramentas quimiométricas.

2.5 Procedimento Experimental:

2.5.1 Seleção dos elementos e das condições operacionais do equipamento

A seleção dos elementos que foram determinados neste trabalho foi feita usando um programa que consiste na determinação de todos os elementos pelo método “*rapid quanti for axial*” nas amostras de farinha de mandioca digeridas e quantificadas por ICP OES. Posteriormente, foi feita a seleção das linhas de emissão de cada elemento selecionado.

As condições operacionais otimizadas do espectrômetro foram a potência do equipamento e a vazão do gás de nebulização. Os valores se encontram na Tabela 7. Foram selecionadas as seguintes linhas de emissão em nm: Al 396,152 (I), Ba 233,527 (II), Ca 396,847 (II), Cd 226,502 (II), Cu 327,395 (I), Fe 259,94 (II), K 766,491 (I), Mg 280,27 (II), Mn 257,61 (II), Na 589,592 (I), Ni 216,555 (II), P 213,618 (I), Pb 220,353 (II) e Zn 213,857 (I). Sendo (I) linha atômica e (II) linha iônica.

Tabela 7. Parâmetros instrumentais para as medidas por ICP OES axial, Varian.

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

2.5.2 Teste de Umidade:

O teste de umidade da amostra de farinha de mandioca foi feito, pesando-se cerca de 60g em um frasco e levados no dessecador por 24 horas com sílica gel, logo após este período, foi pesada novamente a amostra, encontrando-se e através da diferença das massas (Equação 2). Foi obtido o teor de umidade em torno de 3,2%, estando dentro da faixa de composição centesimal das farinhas segundo Dias, 2006, que é de 3,10 % a 11,57 %.

$$\%Umidade = ((M_1 - M_2) / M_1) \cdot 100$$

(Equação 2)

2.5.3 Determinação de carbono residual e acidez residual:

Algumas técnicas utilizadas para decomposição de amostras, não são totalmente eficientes. Para os procedimentos de digestão ácida por via úmida, são utilizados agentes oxidantes e aquecimento a fim de destruir a matéria orgânica. Porém, alguns compostos orgânicos presentes nas amostras ou formados durante a decomposição pode acarretar em uma digestão incompleta, isso é devido a elevada estabilidade de alguns compostos orgânicos presentes em amostras ou formados durante a digestão, incompleta oxidação é geralmente observada. O teor de carbono residual (RCC) é usado para avaliar e quantificar o carbono residual no processo de digestão em todos os experimentos. O RCC é um parâmetro importante para as análises e mede a eficiência do procedimento de digestão de amostra (GOUVEIA, *et al.*, 2001).

Foi pesado uma massa de 0,125 g de uréia ($\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$), Reagen, RJ, Brasil) em balão de 25 mL, e posteriormente construiu-se uma curva de calibração analítica de carbono a partir de uma solução de uréia 1 % (m/v) diluída nas concentrações de 5, 10, 25, 50, 75 e 100 mg L^{-1} em solução de HNO_3 a 10% v/v em balões de 10 mL. Para a determinação foi empregada a técnica ICP OES e a linha de emissão do carbono utilizada foi a 193,026 nm (I).

A acidez residual também foi avaliada, através da titulação de uma alíquota da amostra digerida com uma solução de NaOH 0,1 mol L^{-1} recentemente padronizada.

2.5.4 Procedimentos de preparo das amostras

Neste trabalho foram comparados três procedimentos de digestão: (a) Por via seca (calcinação); (b) Por via úmida (aquecimento condutivo com bloco digestor); (c) Por via úmida (aquecimento assistido por radiação microondas empregando forno de microondas com cavidade).

O procedimento experimental empregado para a digestão por via seca foi o recomendado pela ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC), 2000, que consistia em pesar cerca de 0,5 g de amostra em cadinho de porcelana, que em seguida foi aquecido em forno mufla a 450°C por 12 horas, com uma razão inicial de aquecimento de 50°C/30 minutos. Após este tempo, adicionou-se 2,0 mL de H₂O, levado a placa de aquecimento até evaporar, levando novamente a mufla a 450°C durante 2 horas, com a razão de aquecimento de 50°C por hora. Após este período, adicionou-se 5,0 mL de HCl 6 mol L⁻¹, deixando evaporar na placa de aquecimento, em seguida, dissolveu-se o resíduo com HNO₃ 0,5 mol L⁻¹ para balão de 10 mL. Este procedimento é bem lento, demorado e requer cuidados para se obter alta precisão. Este fato também deve ser destacado quando se aplica o método oficial (AOAC), que é mais complicado por possuir muitos passos, mais demorado e consome maior quantidade de reagentes. Além disso, o método é aberto e sujeito a contaminações e em alguns passos é preciso adicionar reagentes logo após a calcinação, o que torna o procedimento muito tedioso (EGE & DONER, 2004). Além disso, esta técnica é associada a perdas por volatilização e ou problemas de retenção do analito (MOMEN, A. *et al.*, 2006).

Para a digestão utilizando bloco digestor, pesou-se cerca de 0,5 g de amostra em um tubo digestor, e foram adicionados 4,0 mL de HNO₃ 14 mol L⁻¹, 1,0

mL de H₂SO₄ concentrado e 2,0 mL de H₂O₂ 30% v/v. Os tubos foram aquecidos em bloco digestor a uma temperatura até 200 °C, por aproximadamente 2 horas. Logo após a digestão, os digeridos foram transferidos para balão de 10 mL e o volume foi ajustado com solução de HNO₃ 0,5 mol L⁻¹. Utilizou para esta análise o padrão interno ítrio.

Para a digestão em forno de microondas com cavidade, pesou-se cerca de 0,5 g da amostras em tubo apropriado para o forno de microondas, adicionou-se 3,5 mL de HNO₃ 14,0 mol L⁻¹, 3,5 mL de H₂O e 1,0 mL de H₂O₂ 30% v/v e deixou-se em pré digestão por aproximadamente 30 minutos. Após este período as amostras foram submetidas ao programa de aquecimento mostrado na Tabela 8. Este procedimento reduz o risco de contaminação, o tempo de execução é menor e o consumo de reagentes é mais baixo (EGE & DONER, 2004).

Em todos os três métodos de digestão, as amostras foram digeridas em triplicadas e foram avaliados 10 brancos para determinação do LD e do LQ.

Tabela 8. Programa de aquecimento para o procedimento de digestão assistida por radiação microondas em forno com cavidade *Multiwave*.

Etapa	Potência inicial (W)	Tempo (min)	Potência final (W)	Ventilação (%)	Descrição
1	400	4	400	25	Pré-aquecimento
2	850	2	850	25	Aquecimento
3	1000	6	1000	25	Aquecimento
4	0	10	0	100	Resfriamento

2.5.5 Amostras de farinha de mandioca

A Tabela 9 mostra todas as 24 amostras de farinha de mandioca adquiridas, as localidades de aquisição, a sua classificação, assim como as siglas que serão citadas posteriormente.

Tabela 9. Amostras adquiridas em diversas localidades da Bahia.

Amostra	Descrição	Localidade
VCA1	São João/amarela	Vitória da Conquista
VCA2	Coceal/amarela	Vitória da Conquista
VCB1	São João/branca	Vitória da Conquista
VCB2	Coceal/branca	Vitória da Conquista
VC	Copioba/amarela	Vitória da Conquista
BU	Saco/branca	Buerarema
ITA	Saco/branca	Itamaraju
LA	Saco/branca	Lafaiete Coutinho
FS	Saco/branca	Feira de Santana
MA1	Saco/branca	Maracás
MA2	Saco/branca	Maracás
CAF	Saco/fina/branca	Cachoeira
CAG	Saco/grossa/branca	Cachoeira
ER1	Saco/branca	Entre Rios
ER2	Saco/branca	Entre Rios (5 estradas)
ER3	Saco/branca	Entre Rios
ALF	Saco/fina/branca	Alagoinhas
ALG	Saco/grossa/branca	Alagoinhas
GM	Saco/branca	Governador Mangabeira
TB	Saco/branca	Cruz das Almas (Três Bocas)
TA	Saco/branca	Cruz das Almas (Tapera)
PO	Saco/branca	Cruz das Almas (Porções)
CO	Saco/branca	Cruz das Almas (Combé)
PA	Saco/branca	Paraná (*)

* Amostra adquirida em Cruz das Almas, porém fabricada no Estado do Paraná.

2.5.6 Validação dos procedimentos

Os procedimentos estudados foram validados através dos limites de detecção e de quantificação e da verificação da exatidão e precisão com material de referência certificado de farinha de trigo SRM 1567A da NIST (National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, Maryland, USA).

2.6 Apresentação e Discussão dos Resultados

2.6.1 Determinação do teor de Umidade

O teor de umidade encontrado para as amostras de farinha de mandioca foi cerca de 3,20%, estando de acordo com a Composição Centesimal das Farinhas Secas, segundo Dias e Laionel (2006) Tabela 10.

Tabela 10. Características Físico-Químicas da Farinha de Mandioca Seca.

Características Físico-Químicas	% Umidade
Umidade	3,19 – 11,57
Cinzas	0,48 - 1,12
Fibras	0,57 - 2,75
Proteína	0,57– 1,08
Matéria-graxa	0,15 – 1,39
Açúcares solúveis totais	0,26 - 2,46
Amido	81,92 – 91,55

Fonte: DIAS e LEONEL, 2006.

2.6.2 Avaliação dos procedimentos de digestão

A eficiência de digestão foi avaliada em termos de RCC ($\% \text{ m m}^{-1}$) e acidez residual (mol L^{-1}) na solução final. Na Tabela 11 encontram-se os valores do estudo do teor de carbono residual (RCC) e da acidez final ao fim das digestões pelos três métodos estudados. Considerando o RCC, o procedimento de decomposição de amostra que apresentou maior eficiência para eliminação da matéria orgânica presente na farinha de mandioca foi a calcinação, pois obteve-se o menor valor deste parâmetro, apenas 0,5% de carbono residual, o que já era

esperado. No entanto, este procedimento apresenta maior risco de contaminação e perdas de analito por adsorção e/ou volatilização, como já foi comentado em resultados anteriores. Os valores de RCC para os outros procedimentos são também considerados baixos comprovando a eficiência da digestão.

Os valores de acidez residual obtidos para os três procedimentos investigados foram bastante semelhantes, não existindo nenhuma diferença significativa entre eles, considerando o intervalo de confiança.

Tabela 11. Comparação dos procedimentos de digestão de farinha de mandioca.

Parâmetro	Calcinação	Bloco digestor	Micro-ondas com cavidade
Carbono residual (RCC %)	0,50 ± 0,03	2,16 ± 0,28	3,81 ± 0,08
Acidez Final (mol L ⁻¹)	2,2 ± 0,01	2,0 ± 0,01	2,0 ± 0,01

Foram calculados os valores de LD e LQ para todos os procedimentos de digestão em estudo de acordo com as expressões citadas anteriormente para os elementos determinados a partir do desvio padrão de 10 medidas consecutivas do branco, e estes valores estão demonstrados na Tabela 12. Os valores de LD e LQ encontrados foram considerados adequados para o propósito deste trabalho exceto para o procedimento de digestão por via seca, para o qual foram obtidos valores de LD e LQ mais altos. Apesar deste método ser relativamente simples, problemas de

contaminação ou perdas de analito que podem ocorrer durante este procedimento, o que por sua vez acarreta em desvios mais altos (KRUG, 2008).

Tabela 12. Valores de LD e LQ para os três procedimentos de digestão investigados ($n = 11$). Valores em $\mu\text{g g}^{-1}$.

Elementos	<i>Calcinação</i>		<i>Bloco digestor</i>		<i>Micro-ondas</i>	
	LD	LQ	LD	LQ	LD	LQ
Al	2,94	9,81	0,11	0,37	0,06	0,21
Ba	0,006	0,0190	0,001	0,004	0,001	0,005
Cd	0,03	0,09	0,01	0,04	0,0006	0,0021
Ca	0,21	0,71	0,001	0,004	0,07	0,23
Cu	0,36	1,21	0,34	1,14	0,29	0,96
Fe	0,17	0,58	0,04	0,12	0,04	0,12
K	0,74	2,48	0,41	1,36	0,04	0,14
Mg	0,13	0,43	0,07	0,24	0,04	0,12
Mn	0,09	0,30	0,002	0,006	0,001	0,003
Na	0,04	0,12	0,004	0,014	0,002	0,005
Ni	0,03	0,10	0,02	0,07	0,003	0,011
P	0,38	1,28	0,23	0,76	0,04	0,12
Pb	0,04	0,15	0,01	0,04	0,006	0,020
Zn	0,20	0,67	0,09	0,31	0,30	0,99

Os procedimentos também foram aplicados para o preparo da amostra de CRM NIST de farinha de trigo e os resultados estão mostrados nas Tabelas 13 e 14. Pode-se verificar que os valores de concentração encontrados para os procedimentos empregando aquecimento em bloco digestor e assistidos por radiação micro-ondas não apresentam diferenças significativas com os obtidos na amostra certificada, para o nível de confiança de 95%, aplicando teste t-pareado. O valor de t calculado foi de 1,927, comparando-se os resultados obtidos por bloco digestor com os valores certificados. Efetuando-se a comparação dos resultados obtidos por radiação de micro-ondas com os valores certificados obteve-se um valor de t de 1,486. Em ambos os casos foi obtido um valor de t calculado menor que o t tabelado, o qual foi de 2,228. Entretanto, diferenças significativas foram observadas entre os valores de concentração obtidos pelo método da calcinação e os valores certificados, para a maioria dos elementos, considerando o intervalo de confiança. Essas diferenças são provavelmente devido ao maior nível de contaminação ou perda de analitos que podem ocorrer neste procedimento.

Tabela 13. Comparação dos resultados para os microelementos, em $\mu\text{g g}^{-1}$, na amostra CRM NIST 1567a farinha de trigo, para os procedimentos de digestão investigados ($n = 3$).

Elemento	Calcinação	Bloco Digestor	Micro-ondas	Valor certificado
Al	8,9 ± 0,7	5,7 ± 1,1	6,0 ± 0,8	5,7 ± 1,3
Ba	0,65 ± 0,23	0,66 ± 0,23	0,69 ± 0,06	*
Cd	0,039 ± 0,002	0,026 ± 0,007	0,026 ± 0,006	0,026 ± 0,002
Cu	1,9 ± 0,7	2,2 ± 0,3	2,4 ± 0,3	2,1 ± 0,2
Fe	16,4 ± 0,6	14,0 ± 0,2	14,7 ± 0,6	14,1 ± 0,5
Mn	7,2 ± 0,8	9,4 ± 0,9	8,7 ± 0,1	9,4 ± 0,9
Na	5,5 ± 1,2	6,1 ± 0,5	5,7 ± 0,3	6,1 ± 0,8
Ni	0,60 ± 0,30	0,40 ± 0,02	0,34 ± 0,002	*
Pb	0,081 ± 0,003	0,018 ± 0,008	0,032 ± 0,008	<0,020
Zn	12,7 ± 0,4	11,6 ± 0,4	11,4 ± 0,5	11,6 ± 0,4

* Não quantificado

Tabela 14. Comparação dos resultados para os macroatomos, em $\mu\text{g g}^{-1}$, na amostra CRM NIST, 1567a farinha de trigo, para os procedimentos de digestão investigados ($n = 3$).

Elemento	Calcinação	Bloco digestor	Micro-ondas	Valor certificado
Ca	19,7 \pm 1,8	19,1 \pm 1,3	19,4 \pm 1,4	19,1 \pm 0,4
K	143 \pm 24	134 \pm 3	136 \pm 4	133 \pm 3
Mg	46 \pm 6	41 \pm 2	40 \pm 3	40 \pm 2
P	145 \pm 5	135 \pm 2	137 \pm 6	134 \pm 6

Os procedimentos investigados também foram aplicados para determinação de macro e elementos traço nas amostras de farinha de mandioca e os resultados obtidos estão mostrados na Tabela 15 e nas Figuras 3 e 4. Pode-se verificar que para os procedimentos de digestão utilizando bloco digestor e assistido por micro-ondas os valores de concentração são próximos para a maioria dos elementos analisados. Aplicando-se teste t-pareado, ao nível de confiança de 95%, foi obtido um valor de t de 1,929, comparando-se os resultados obtidos por estes dois procedimentos; enquanto que o t tabelado foi de 2,160. Além disso, pode-se constatar menores valores para os desvios padrões para estes procedimentos.

Tabela 15. Comparação dos procedimentos de digestão de amostra de farinha de mandioca, em $\mu\text{g g}^{-1}$, para macro e microelementos (média \pm desvio padrão, $n = 3$).

<i>Elemento</i>	<i>Calcinação</i>	<i>Bloco</i>	<i>Micro-ondas</i>
Al	15 \pm 2	6,6 \pm 2,3	5,0 \pm 1,3
Ba	5,2 \pm 0,6	1,1 \pm 0,1	1,4 \pm 0,2
Cd	0,15 \pm 0,02	0,034 \pm 0,001	0,035 \pm 0,002
Ca	25,6 \pm 5,4	11,7 \pm 4,7	14,5 \pm 2,7
Cu	2,16 \pm 0,63	2,1 \pm 0,1	2,6 \pm 0,09
Fe	14,4 \pm 2,1	11,8 \pm 0,6	11,8 \pm 1,8
K	173 \pm 19	212 \pm 6	214 \pm 3
Mg	39,9 \pm 2,4	37 \pm 0,6	39,7 \pm 0,5
Mn	1,9 \pm 0,2	1,64 \pm 0,01	1,76 \pm 0,03
Na	9,8 \pm 1,2	6,3 \pm 0,3	7,1 \pm 0,4
Ni	1,07 \pm 0,08	0,22 \pm 0,03	0,08 \pm 0,02
P	196 \pm 23	154 \pm 3	157 \pm 5
Pb	0,33 \pm 0,001	0,004 \pm 0,001	< LQ
Zn	5,1 \pm 1,3	4,2 \pm 1,3	3,7 \pm 0,4

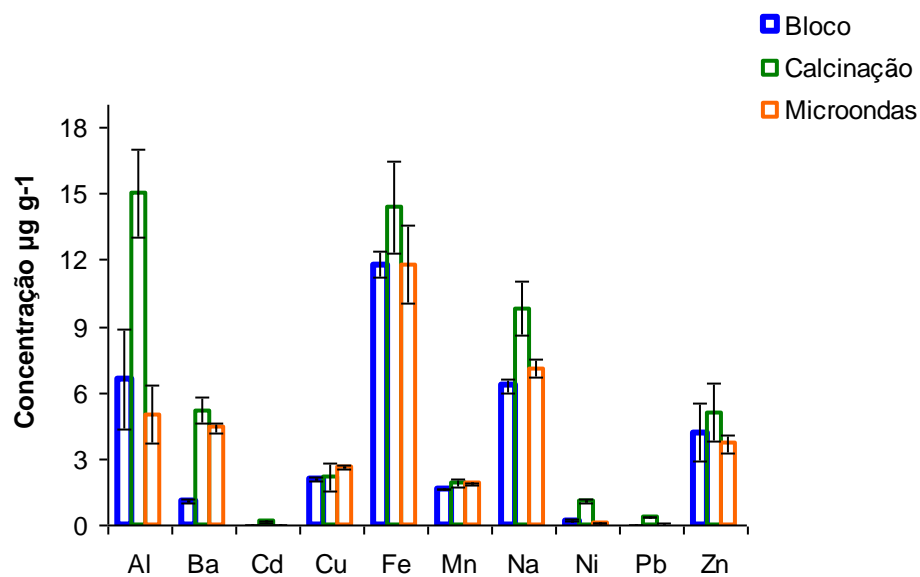


Figura 3. Comparação de métodos de digestão de farinha de mandioca para os microelementos.

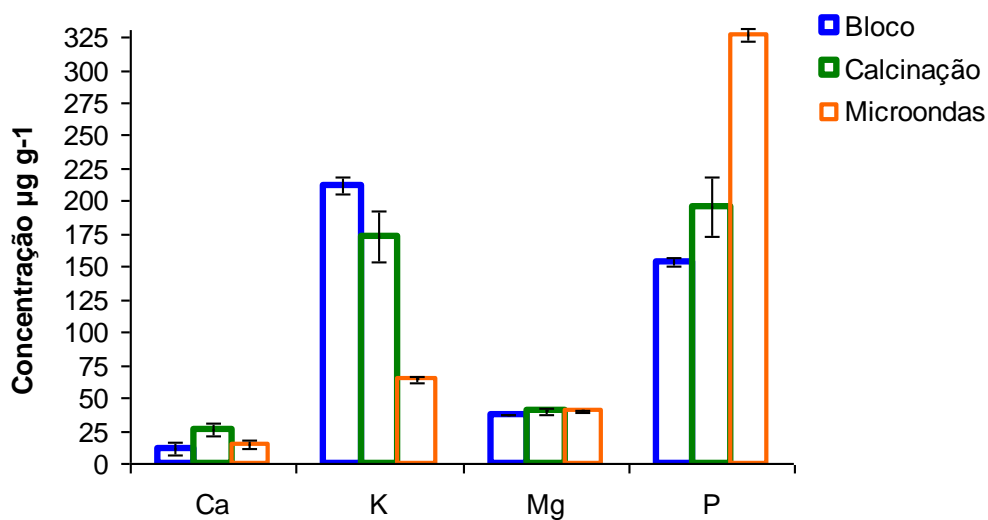


Figura 4. Comparação de métodos de digestão de farinha de mandioca para os macroelementos.

Desta forma, considerando as figuras de mérito avaliadas, para caracterização das amostras de farinha de mandioca foi selecionado o procedimento assistido por radiação micro-ondas.

2.7 Aplicação do procedimento de digestão em forno de micro-ondas com cavidade utilizando análise multivariada

O procedimento proposto em forno de micro-ondas com cavidade foi aplicado em 24 amostras de farinha de mandioca, adquiridas em diferentes regiões do estado da Bahia como mercados locais e em casas de farinha da região e do Estado do Paraná estas amostras constituem dados multivariados. Foram avaliadas as concentrações dos seguintes elementos: Al, Ca, Fe, K, Mg, Na, P e Zn, esses resultados estão na Tabela 16.

Para este trabalho utilizou-se HCA e PCA, que são métodos quimiométricos de classificação. Este método pode encontrar um conjunto de amostras que é mensurável se combinando com as medidas analíticas que são obtidas (BEEBE, *et al.*, 1998). Desta forma, as análises químicas de alimentos combinadas com a interpretação de dados multivariados fornecem uma interessante ferramenta de trabalho para o estudo da qualidade e da origem dos alimentos (MORGANO *et al.*, 2000).

Tabela 16. Concentração de Al, Ba, Ca, Cd, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, P, Pb e Zn em $\mu\text{g g}^{-1}$ de 24 amostras de farinha de mandioca.

<i>Amostras</i>	<i>Al</i>	<i>Ca</i>	<i>Fe</i>	<i>K</i>	<i>Mg</i>	<i>Na</i>	<i>P</i>	<i>Zn</i>
VCA1	10,6±0,7	108,7±1,8	10,7±0,7	358,2±19,1	24,4±1,4	5,9±1,4	231,1±2,5	4,5±0,9
VCA2	10,6±2,9	148,1±11,8	27,1±0,8	320,1±26,3	28,2±4,1	4,5±1,1	222,1±2,6	4,1±0,5
VCB1	12,3±1,4	93,2±5,4	20,3±0,3	555,4±33,8	22,5±10,1	4,5±0,2	226,2±14,2	4,7±3,2
VCB2	17,6±1,7	114,1±6,1	17,1±1,1	517,1±2,1	26,1±2,1	4,5±0,8	249,9±3,1	4,1±0,2
VC	41,5±1,6	104±1	24,5±2,8	543±4	31±3	5,2±0,6	182,9±1,4	2,6±0,2
BU	9,5±2,3	87±2	11,4±0,4	500±10	30±3	37,7±2,1	294±1	3,5±0,1
ITA	5,9±0,2	75±1	14,3±0,3	428±7	22±1	24,5±1,8	265,6±3,5	2,6±0,2
LA	15,6±4,3	92,8±1,7	6,9±1,3	470,8±14,1	79,4±12,1	25,5±4,7	131,9±15,2	1,0±0,3
FS	8,4±1,8	103,5±7,1	8,6±0,6	106,5±4,6	15,3±5,5	6,6±1,3	226,1±20,7	0,5±0,1
MA1	8,4±0,8	109,2±3,4	23,6±2,4	195,4±7,4	16,1±2,8	2,9±0,2	224,9±9,6	1,2±0,1
MA2	7,6±0,6	74,7±4,2	14,5±2,8	140,7±27,7	17,2±7,7	2,5±0,4	223,7±8,8	0,5±0,1
CAF	8,7±0,4	114,4±4,2	8,5±1,4	172,5±23,4	31,5±5,5	10,4±1,4	337,9±16,9	0,7±0,2

CAG	14,7±1,7	100,2±15,1	11,1±1,3	227,7±6,6	45,1±8,4	14,3±3,4	274,7±9,9	1,1±0,4
ER1	11,2±1,3	82,7±14,4	14,9±1,3	222,8±22,7	22,8±1,5	4,6±1,2	286,7±0,9	0,3±0,1
ER2	3,7±0,9	75,1±3,7	12,1±1,5	189,1±23,8	26,2±3,2	6,4±0,3	222,1±13,3	0,5±0,1
ER3	6,5±1,5	73,9±7,4	14,1±1,1	177,6±32,4	19,7±6,6	4,3±1,3	279,4±13,7	0,9±0,2
ALF	6,8±0,8	61,7±4,3	8,1±0,8	134,1±13,1	12,1±3,9	6,6±0,3	325,5±12,1	0,6±0,1
ALG	15,2±2,1	80,7±0,5	11,5±1,1	262,4±21,7	23,4±4,2	6,6±0,4	252,1±7,6	0,6±0,2
GM	17,6±1,7	104,1±6,1	17,1±1,1	171,1±2,1	27,1±2,1	4,5±0,5	247,9±3,1	2,1±0,2
TB	10,1±0,7	94,1±3,1	14,1±0,1	271,1±2,1	22,1±1,3	4,8±0,2	249,9±3,1	2,6±0,2
TA	10,2±0,9	84,5±3,5	15,1±0,5	255,1±2,1	20,5±3,1	6,5±0,6	255,9±6,1	2,9±0,2
PO	6,1±0,5	90,5±3,6	8,5±0,2	166,1±1,1	20,5±2,1	4,1±0,5	225,1±8,1	2,1±0,1
CO	6,6±0,8	73,1±5,7	8,7±0,1	175,1±2,6	22,1±1,2	5,7±0,8	255,8±9,2	2,5±0,3
PA	7,6±1,5	79,9±4,4	15,1±0,9	262,4±20,5	31,7±0,5	6,6±0,7	269,9±10,1	2,3±0,1

2.7.1 – Análise de Componentes Principais

A PCA foi aplicada aos resultados obtidos após a análise de 24 amostras de farinha envolvendo 8 variáveis (Al, Ca, Fe, K, Mg, Na, P e Zn), sob os dados auto-escalados. O primeiro passo após a análise foi escolher o número de componentes principais PC's. Os componentes principais são novos eixos criados a partir das variáveis iniciais. Para este trabalho foram escolhidos as três primeiras PC's porque juntas elas acumulam 75,11% da variância. A tabela 17 apresenta os dados sobre a variância acumulada. Sendo assim, foi possível reduzir a dimensionalidade da matriz original dos dados de 8 (8 variáveis/dimensões) para 3 (3 PC). As componentes principais residuais de 4 a 10 explicam apenas 24,90% da variância dos dados originais.

Tabela 17. Tabela de variância acumulada.

PC	Autovalor	% variância Total	Autovalor Cumulativo	% Variância acumulada
1	2,95351	36,91887	2,95351	36,9189
2	1,880607	23,50758	4,834116	60,4265
3	1,174281	14,67852	6,008398	75,105
4	0,729035	9,11293	6,737432	84,2179
5	0,613078	7,66348	7,35051	91,8814
6	0,366064	4,5758	7,716574	96,4572
7	0,198385	2,47981	7,914959	98,937
8	0,085041	1,06301	8	100

A Tabela 18 traz a informação dos pesos das variáveis que contém a mesma informação que um gráfico de pesos. Em negrito se destacam as variáveis que possuem o maior peso para PC1 e PC2.

Tabela 18. Tabela de peso das variáveis.

Variável	PC 1	PC 2	PC 3	PC 4	PC 5	PC 6	PC7	PC8
Al	0,70525	-0,05012	-0,32382	-0,40400	0,41823	0,20177	-0,10380	-0,07506
Ca	0,62208	-0,33401	-0,04877	0,65084	0,22926	0,05153	-0,12489	0,06839
Fe	0,60999	-0,63558	0,00719	-0,09136	0,06890	-0,43815	0,12551	-0,05544
K	0,83138	0,28128	0,33893	-0,25690	-0,04079	0,00464	0,05668	0,20960
Mg	0,43727	0,73351	-0,34408	0,24453	0,06847	0,02887	0,29057	-0,05118
Na	0,15368	0,83282	0,37884	0,05655	0,13893	-0,26502	-0,20196	-0,07585
P	-0,59557	-0,12452	0,56587	0,01821	0,52814	0,06450	0,16157	0,00711
Zn	0,66057	-0,19061	0,60827	0,06750	-0,27618	0,23552	0,04151	-0,13894

A tabela 18 apresenta o peso das variáveis para cada componente principal. As variáveis com maiores pesos em PC1 e em PC2 foram destacadas em negrito. Observa-se que as variáveis dominantes em PC1 são Al, Ca, K, P e Zn e para PC2 as variáveis dominantes são Fe, Mg e Na.

O resultado da Análise de Componentes Principais é apresentado nas figuras 5 e 6, gráficos de pesos e escores, respectivamente. Observando-se o gráfico de escores mostrado na figura 6, verifica-se uma separação entre as amostras de Vitória da Conquista e as amostras das demais cidades. Para facilitar a visualização os grupos foram destacados com círculos coloridos, sendo o grupo de Vitória da Conquista representado por um círculo verde, um segundo grupo formado pelas demais amostras destacado por um círculo azul e um terceiro grupo formado por uma amostra do município de Buerarema e outra do município de Lafaiete Coutinho representado por um círculo laranja. Avaliando conjuntamente o gráfico de escores e o gráfico de pesos é possível entender quais as variáveis estão

influenciando a separação entre as amostras. Observa-se que as amostras de Vitória da Conquista estão posicionadas no eixo positivo de PC1, enquanto que as demais amostras estão deslocadas para o eixo negativo de PC1 no gráfico de escores. Analisando-se o gráfico de pesos segundo o eixo de PC1 observa-se que a maior parte das variáveis que possuem pesos elevados (Al, Ca, K, P e Zn) está no eixo positivo de PC1, apenas o fósforo possui peso negativo. Dessa forma, pode-se concluir que as amostras de Vitória da Conquista possuem maiores concentrações de Al, Ca, Zn e, principalmente, potássio porque este elemento possui o maior peso dentre eles. Em contra partida, as amostras de farinha de Vitória da Conquista possuem menores concentrações de P que as demais amostras. O terceiro grupo, formando apenas por duas amostras dos municípios de Buerarema e Lafaiete Coutinho, está separado das demais amostras porque possuem altas concentrações de Na e Mg. Avaliando-se o gráfico de escores segundo o eixo de PC2 observa-se que as referidas amostras estão localizadas no eixo positivo de PC2, e quando se observa o eixo PC2 no gráfico de pesos verifica-se que o Na e Mg são as variáveis com os maiores pesos positivos e o Fe a variável com o maior peso negativo. Por essa razão, estas amostras foram separadas das demais por possuírem altas concentrações de Na e Mg e baixa concentração de Fe.

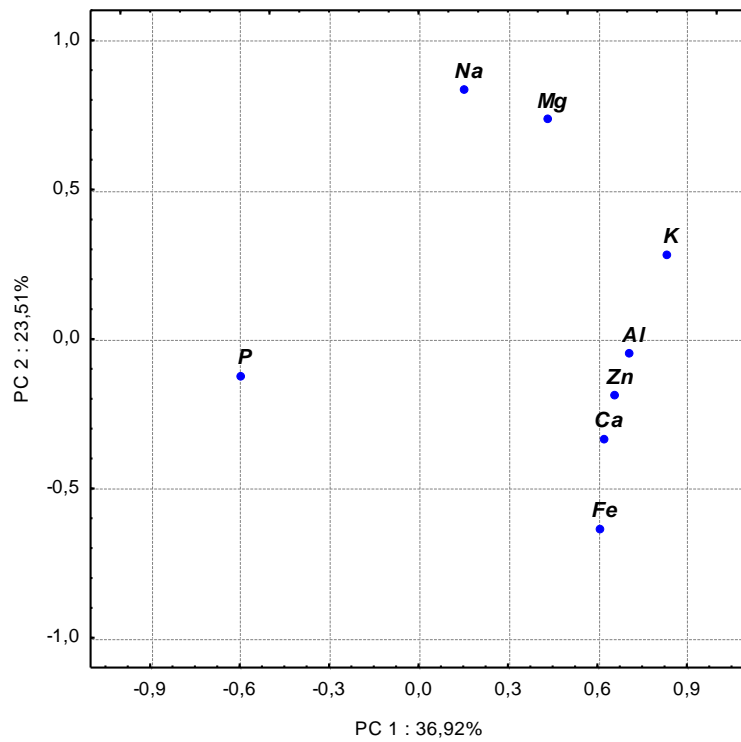


Figura 5: Gráfico de Pesos PC1 x PC2

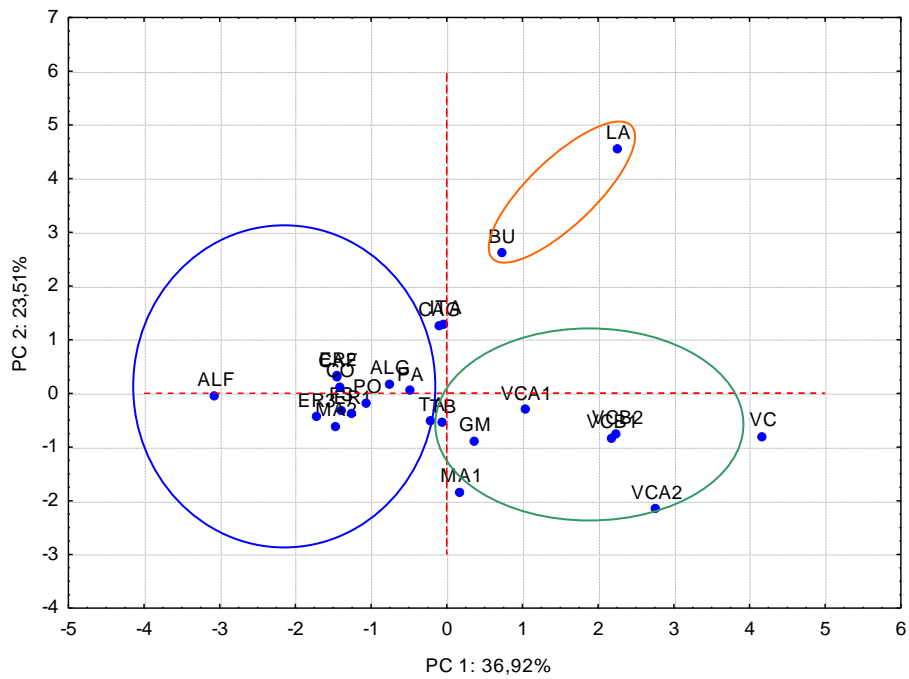


Figura 6: Gráfico de escores PC1 x PC2

2.7.2 – Análise de Agrupamento Hierárquico

A fim de avaliar os resultados obtidos pela PCA, realizou-se uma Análise de Agrupamento Hierárquico (HCA). A análise foi aplicada aos dados auto-escalados. A distância Euclidiana foi usada para calcular a similaridade entre as amostras. O método de ligação usado foi o método de Ward. O dendograma obtido é apresentado na Figura 7. A partir da análise do dendograma verifica-se que a HCA corrobora com os resultados obtidos para a PCA, uma vez que ao se atribuir um corte a distância de ligação de 8, pode-se observar que existem 3 grupos, um formado pelas amostras de VC, um segundo grupo pelas amostras LA, BU e ITA, e o terceiro grupo é formado pelas demais amostras como, na PCA.

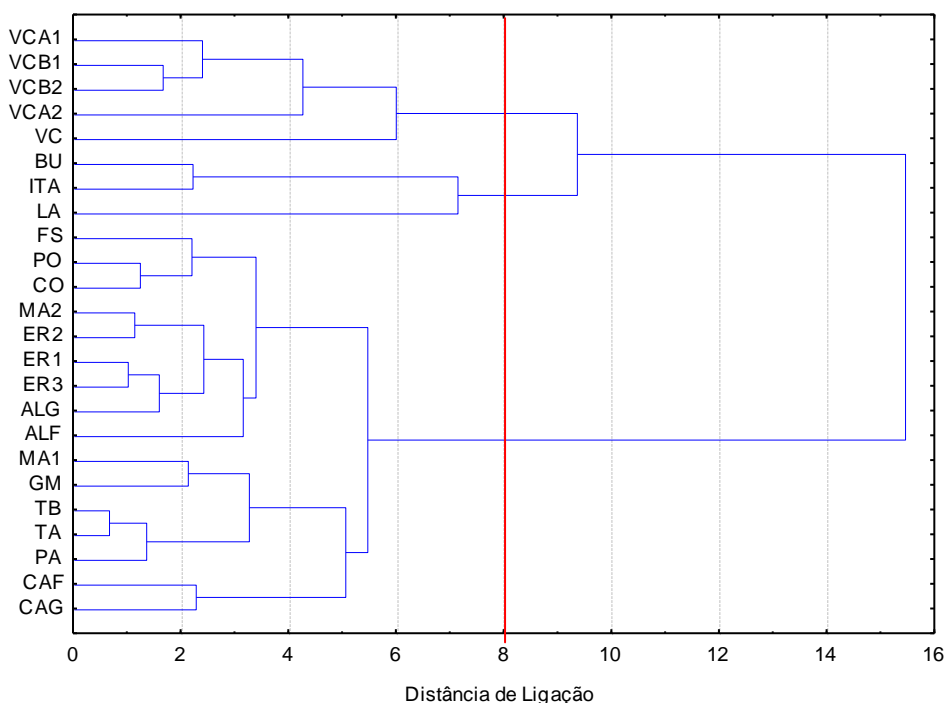


Figura 7: Agrupamento das 24 amostras de farinha de mandioca do Estado da Bahia.

Capítulo III

Determinação de As, Pb, Cd e Se empregando espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica e detecção simultânea

3.1 Considerações sobre a espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica e detecção simultânea

A determinação de elementos traços e ultra traços pode ser realizados por espectrometria de absorção atômica, seja com atomização em chama (FAAS) ou eletrotérmica (ETAAS), devido à alta especificidade, seletividade, sensibilidade, baixa interferência espectral e de fácil operação, porém é uma técnica monoelementar, e devido a isso, restringe a frequência analítica (NOMURA, *et. al.* 2004 e AMORIM, *et. al.* 2008).

A Espectrometria de Absorção Atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite (GF AAS) é uma técnica que proporciona maior sensibilidade devido à possibilidade de introdução direta de amostra e por suspensão no atomizador e limites de detecção baixos. Diversos trabalhos vêm sendo publicados na literatura para a determinação de elementos-traço em diferentes matrizes empregando esta técnica (CERVERA e MONTORO, 1994; DABEKA, *et. al.*, 1993; SOARES, *et. al.*, 1995). A GF AAS apresenta limites de detecção da ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$ e, além da sensibilidade, apresenta vantagens em relação à FAAS pelo reduzido volume de amostra requerido e também pelo baixo consumo de gases (Ar(g)). Além disso, apresenta capacidade de análise direta de amostras sólidas. No passado, GF AAS era considerada uma técnica afetada por severas interferências químicas e espectrais, que gradativamente foram sendo corrigidas com o uso de estratégias combinadas, tais como o sistema de correção de fundo e modificadores químicos (VANDERCASTEELE, 1993).

A espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica e detecção simultânea (SIMAAS) possui as vantagens de reduzir o tempo e o custo

das análises e geram menores resíduos. Este equipamento permite analisar até 6 elementos simultaneamente. A configuração do atomizador envolvendo aquecimento transversal (THGA) é o mais usado em determinações simultâneas (FRECHI, *et. al.*, 2000). É equipado com corretor de fundo baseado no efeito Zeeman longitudinal, tubo de grafite com aquecimento transversal, policromador de Echelle e um arranjo de 60 fotodiodos como detector simultâneo. Tem alta sensibilidade, baixo LD e requer redução de quantidades de amostras. Um modificador químico permanente permite aumentar o tempo de vida do tubo de grafite, elimina voláteis impuros durante o processo de aquecimento, estabiliza termicamente os analitos, diminui o LD, reduz o tempo total do programa de aquecimento e minimiza o consumo de reagentes (HOENIG e CILISSEN, 1997 e NOMURA, *et. al.*, 2004). Alguns trabalhos que empregam esta técnica estão listados na Tabela 19.

Tabela 17. Métodos analíticos desenvolvidos utilizando SIMAAS.

Elementos	Amostra	Modificador químico	Ref.
Al, Cd, Pb	Sangue total	Pd	Tsay e colaboradores, 2009
As, Cd, Pb e Se	Soluções de eletrólitos	250 ug W + 200 ug Rh	Nomura <i>et. al</i> , em 2004
Cd, Co,Cu e Pb	Materiais de referência ambiental	Ausência de modificador	Hoenig <i>et. al</i> , em 1997
Cd e Pb	Vinhos branco	Pd + Mg	Gomes Neto e colaboradores, 2001
Se	Leite	W	Freschia e colaboradores, 2005
Pb	Vinho	$\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$	Correia e colaboradores, 2003
Cd	Peixe	W + Rh	Lima e colaboradores, 1999
As, Cd, Pb e Se	Soluções salinas	$\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$ e $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ - $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$	Sneddon e colaboradores, 1994

Hoenig e Cilissen em 1997, determinaram simultaneamente Cd, Co, Cu e Pb em amostras ambientais certificadas (solos, sedimentos, amostras de plantas e tecidos animais), avaliando as figuras de mérito do SIMAA em termos de sensibilidade e detecção, definindo assim, as vantagens e limitações das determinações multielementares simultâneas por ET AAS. Como resultado verificou-se que o SIMAAS é capaz de determinar simultaneamente até 6 elementos

reduzindo o tempo de análise e custos com substituições de peças de grafite. Por possuir baixos ruídos, foi permitido se encontrar baixos valores de LD.

Sneddon e Farah em 1994, investigaram o melhor modificador químico para determinação simultânea de As, Cd, Pb e Se em soluções salinas, os modificadores utilizados foram: $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$ e $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2\text{-Mg}(\text{NO}_3)_2$. O modificador $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$ forneceu melhor resultado para As e Se, já a mistura de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2\text{-Mg}(\text{NO}_3)_2$ promoveu melhora na sensibilidade para todos os metais em comparação com $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$, porém a temperatura de pirólise foi baixa (350°C).

Nas determinações por SIMAAS pode-se encontrar alguns desafios, como por exemplo, as condições para o programa de aquecimento, a busca de novos modificadores químicos e de estratégias que permitam compatibilizar diluição com a concentração dos elementos na amostra e o intervalo linear de calibração (CORREIA, *et. al.* 2003).

Para o programa de aquecimento, deve-se realizar o ajuste dos parâmetros (temperaturas de pirólise e atomização, modificador químico, tempo de pirólise e diluição da amostra) que irá garantir o sucesso das determinações multielementares por SIMAAS, comprometendo a sua sensibilidade. Ao contrário das determinações monoelementares, os procedimentos analíticos devem ser elaborados respeitando-se as características térmicas de todos os elementos de interesse quando se utiliza um equipamento simultâneo. Sugere-se que a temperatura de pirólise seja definida em função daquela do analito mais volátil, sensibilidade e menor desvio padrão. As temperaturas de pirólise e atomização são escolhidas para que se obtenha a melhor condição para a determinação multielementar, mesmo que estas condições sejam diferentes daquelas utilizadas

nos equipamentos monoelementares (CORREIA, *et. al.* 2003 e FRECHI, *et. al.*, 2000).

Os modificadores químicos são substâncias químicas co-injetadas com as soluções analíticas e amostras. São utilizados para permitir o aumento do tempo de vida do tubo de grafite, aumentar a estabilidade térmica do analito ou a volatilidade dos concomitantes presentes na matriz, ainda permite a diminuição do LD, simplificação do programa de aquecimento, reduzindo assim, o tempo de aquecimento, minimização do consumo de reagentes e a eliminação de impurezas voláteis durante o processo de modificação (NOMURA, *et. al.*, 2004, CORREIA, *et. al.* 2003 e LIMA, *et. al.* 1998).

O modificador químico mais utilizado nas determinações multielementares por SIMAAS é a mistura $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ devido a essa mistura ter se mostrado ser eficiente para estabilizar termicamente 21 elementos em ETAAS e por isso vem sendo preconizada como modificador químico universal (WELZ, *et. al.* 1992). Porém modificadores misturados com Ródio também podem ser usados como modificador químico para determinações simultâneas multielementares (NOMURA, *et. al.*, 2004).

Na literatura foram descritos alguns trabalhos realizados utilizando a mistura 250 μg W + 200 μg Rh. Lima e colaboradores em 1998, preparou esta mistura de modificador revestidos na plataforma integrada de um atomizador do tubo de grafite aquecido transversalmente para a determinação de Cd, Pb e Se em materiais de referência de água, que foram utilizados para testar o modificador proposto. Em outro trabalho, Lima e colaboradores, em 2002, determinaram Cu em amostras biológicas por ETAAS utilizando W-Rh como modificador químico permanente, analisou também Cd e Pb para comprovação do

modificador comparando os resultados com os modificadores convencionais (Pd + Mg(NO₃)₂). O desempenho e a precisão do método empregando W-Rh é melhor que com o modificador convencional podendo substituir em análises de rotina. Zanão e colaboradores em 2002 usou uma plataforma de grafite revestida com W-Rh, demonstrando que há uma melhora considerável no desempenho, aumentando a vida útil do atomizador. Barbosa e colaboradores determinaram Arsênio em sedimentos e solos por ETAAS usando W-Rh como modificador permanente comparando com o modificador convencional Pd + Mg(NO₃)₂, encontrando menores desvios padrões na análise de 10 medidas para as amostras analisadas. O método foi otimizado comparando amostras certificadas de solos em suspensão utilizando as duas misturas de modificadores e amostras digeridas e os resultados apresentados estão de acordo com os valores certificados.

Nomura e colaboradores em 2004 estudaram as interferências de Na⁺, K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, Cl⁻, NO₃⁻, SO₄²⁻ e PO₄³⁻ na atomização simultânea de As, Cd, Pb e Se, nas determinações em GF AAS, utilizando W e Rh como modificadores químicos permanentes. Foi verificada a minimização destas interferências devido ao uso de 250 ug W + 200 ug Rh como modificadores químicos. Os resultados indicaram a sua eficácia para As, Cd, Cu, Pb e Se e o seu desempenho é igual ou superior do que o verificado para o modificador químico universal.

Em outro trabalho foi proposto um método para determinação simultânea das concentrações de Cd e Pb em amêndoas e mesocarpo de babaçu. As determinações foram feitas utilizando o modificador químico 0,5% v v⁻¹ NH₄H₂PO₄ + 0,03% v v⁻¹ Mg(NO₃)₂ e considerando a necessidade de manter as condições de compromisso entre os elementos analisados, para a determinação simultânea, a melhor temperatura de pirólise foi 1100 °C. A temperatura de atomização escolhida

foi 2100 °C. Na escolha dessa temperatura foram considerados os perfis dos sinais analíticos de absorvância e de fundo e os menores desvios padrões entre as medidas (n=3). Com essa temperatura o tempo de atomização foi de 3 s. (SOUZA & OLIVEIRA, 2009)

Recentemente foi avaliada a biodisponibilidade de Cu e Fe na castanha de caju usando um método in vitro. Extrações com fluidos gástricos simulados e intestinais e procedimentos de diálise foram aplicados para esta finalidade. A separação de proteínas e quantificação foi realizada por cromatografia de exclusão de tamanho (SEC) acoplado em linha ultra-violeta (UV) e off-line para determinação empregando a técnica SIMAAS. As soluções multielementares para calibração do espectrômetro foram preparadas em meio a solução tampão de Tris-HCl 0,2 mol L⁻¹ na faixa de 10–50 µg L⁻¹ para Cu e Fe. Para estas determinações não foi necessário utilizar modificador químico. (NASCIMENTO, 2010).

3.2 *Objetivos*

- Propor procedimento analítico para determinação de As, Cd, Pb e Se em amostras de farinha de mandioca empregando digestão em forno de micro-ondas com cavidade e espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica e detecção simultânea (SIMAAS).
- Validar o procedimento para determinação dos elementos em amostras de farinha de mandioca empregando espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica e detecção simultânea (SIMAAS).
- Determinar As, Cd, Pb e Se em amostras de farinha de mandioca consumidas no estado da Bahia.

3.3 Parte experimental

3.3.1 Instrumentação:

Para a digestão das amostras foi empregado o forno de microondas fechado: Microwave Sample Preparation System, Multiwave 3000 Anton Paar.

A determinação dos analitos foi realizada empregando espectrometria de absorção atômica com atomização por forno de grafite Perkin-Elmer, Modelo SIMAA 6000, equipado com corretor de fundo por efeito Zeeman longitudinal, tubo de grafite pirolítico com aquecimento transversal com plataforma integrada, policromador de Echelle e um arranjo de 60 fotodiodos como detector simultâneo e lâmpada de descarga sem eletrodo (EDL) para As ($\lambda = 193,7$ nm, $i=290$ nm), Cd ($\lambda = 228,8$ nm, $i=200$ nm), Pb ($\lambda = 283,3$ nm, $i=450$ nm) e Se ($\lambda = 96,0$ nm, $i=290$ nm). Argônio 99,999% v/v (Air Liquide Brasil S/A, São Paulo, SP, Brazil) foi usado como gás de purga.

3.3.2 Reagentes, Soluções e Amostras:

Todas as soluções foram preparadas com água deionizada de alta pureza (resistividade $18 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$) originadas do sistema de purificação de água Milli-Q (Millipore Corp., Bedford, MA, USA). Para a digestão das amostras de farinha foram utilizados reagentes de grau analítico como o H_2O_2 (Merck, Darmstadt, Alemanha) e HNO_3 Merck. As curvas de calibração foram preparadas a partir da solução de referência de As, Cd, Pb e Se 1000 mg L^{-1} , levadas a balões e aferidas com 0,1 % HNO_3 Merck para 10 mL. As soluções com os modificadores químicos foram obtidas a partir de $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Merck) e RhCl_3 Aldrich).

As amostras de farinha de mandioca foram adquiridas em diferentes cidades do Estado da Bahia: Entre Rios (ER), Oliveira (O), Tancredo Neves (TN), Santo Antônio de Jesus (SAJ), Lorianos (LO) e Murutuba (MU).

3.3.3 Procedimento:

3.3.3.1 Preparo das amostras:

Uma massa de cerca de 500 mg das amostras foi transferida para o frasco de politetrafluoretileno (PTFE), em seguida da adição de 3,5 mL de HNO₃, 3,5 mL de H₂O e 1 mL de H₂O₂. O frasco foi devidamente fechado e levado ao forno de micro-ondas, utilizando o programa de aquecimento em quatro etapas, descrito na Tabela 20. Os digeridos foram transferidos para balões e aferidos com solução de HNO₃ a 0,5%.

Tabela 18. Programa de aquecimento para o forno de micro-ondas com cavidade.

Etapa	Tempo (min)	Potência (W)	Temperatura (°C)
1	4	750	90
2	2	750	90
3	6	1000	180
4	10	1000	180

3.3.3.2 Modificação do tubo de grafite:

O tubo de grafite foi modificado de acordo com procedimento previamente descrito na literatura (LIMA, 1998) conforme descrito a seguir. Primeiramente o tubo foi modificado com tungstênio da seguinte forma:

1. Pipetando 50 μL de $1,0 \text{ g L}^{-1}$ de W para a plataforma;
2. Em seguida houve a corrida do programa de aquecimento (Tabela 21):

Tabela 19. Programa de aquecimento utilizado para modificar o tubo de grafite para W.

Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Rampa (s)	Patamar (s)
120	5	25
150	10	60
600	20	15
1000	10	15

O procedimento foi realizado três vezes, repetindo as etapas 1 e 2. Em seguida o programa foi modificado, de acordo com a Tabela 22.

Tabela 20. Programa de aquecimento utilizado para modificar o tubo de grafite para W.

Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Rampa (s)	Patamar (s)
120	5	25
150	10	60
600	20	15
1000	10	15
1400	10	5
2000	3	2

Após efetivado o programa descrito na Tabela 22, foram realizadas quatro rodadas sem adição de W, com a finalidade de condicionar o carbeto de tungstênio a baixas temperaturas (Tabela 23).

Tabela 21. Programa de aquecimento utilizado para modificar o tubo de grafite para W.

Temperatura (°C)	Rampa (s)	Patamar (s)
150	1	10
600	10	15
1100	10	5
1400	10	10

A seguir, para condicionar o carbeto de tungstênio a altas temperaturas, foram realizadas mais quatro rodadas, desta vez seguindo o programa descrito na Tabela 24.

Tabela 22. Programa de aquecimento utilizado para modificar o tubo de grafite para W.

Temperatura (°C)	Rampa (s)	Patamar (s)
150	1	10
600	10	15
1100	10	5
1400	10	10
1500	3	5
1600	1	1
1700	1	1
1800	1	1
1900	1	1
2000	1	1

Após o tubo ser modificado com tungstênio, este foi revestido com Ródio (Rh), e as etapas são descritas abaixo:

3. Pipetando 50 μL de 1 g L^{-1} de Rh para a plataforma;
4. Em seguida foi utilizado o programa de aquecimento, (mostrado na Tabela 25).

Tabela 23. Programa de aquecimento utilizado para modificar o tubo de grafite para Rh.

Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Rampa (s)	Patamar (s)
120	1	25
150	5	60
1000	10	10
1400	1	5

As etapas 3 e 4 foram repetidas por mais três vezes. Em seguida, mudou o programa (Tabela 26) rodando uma vez.

Tabela 24. Programa de aquecimento utilizado para modificar o tubo de grafite para Rh.

Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Rampa (s)	Patamar (s)
120	1	25
150	5	60
1000	10	10
1400	1	5
2000	1	3

3.3.3.3 Otimização do programa de aquecimento:

Essa etapa do trabalho foi baseada nas variações das temperaturas de pirólise e atomização e tempo de duração dessas etapas. O programa de aquecimento está descrito na Tabela 27.

Tabela 25. Programa de aquecimento para a determinação simultânea de As, Cd, Pb e Se por SIMAAS 6000 com modificador permanente.

Etapa	Temperatura (°C)	Rampa (s)	Patamar (s)	Vazão de Ar (mL min⁻¹)
Secagem I	110	10	5	250
Secagem II	130	10	10	250
Pirólise	650	10	15	250
Atomização	2200	0	4	0
Limpeza	2200	1	4	250

As análises foram realizadas adicionando as amostras o padrão de maior concentração da curva analítica Cd ($2 \mu\text{g L}^{-1}$) e Pb, As e Se ($40 \mu\text{g L}^{-1}$) e também com as amostras sem adicionar este padrão de maior concentração. O procedimento realizado nesta etapa consistiu em retirar uma alíquota de $750 \mu\text{L}$ de cada amostra e logo em seguida adicionou $250 \mu\text{L}$ deste padrão, neste caso o fator de diluição foi de 4 vezes, ou seja, foi adicionado o maior padrão da curva para Cd ($0,5 \mu\text{g L}^{-1}$) e Pb, As e Se ($10 \mu\text{g L}^{-1}$). As curvas analíticas de calibração foram preparadas e a faixa de trabalho para Cd foi de $0,2$ a $2 \mu\text{g L}^{-1}$, para As, Pb e Se foi de 5 a $40 \mu\text{g L}^{-1}$.

3.4 Apresentação e Discussão dos Resultados:

O procedimento proposto para determinação de As, Cd, Pb e Se em farinha de mandioca foi validado através dos seguintes parâmetros de desempenho: LD e LQ, testes de adição e recuperação e análise de CRM de farinha de trigo.

Os valores obtidos para a recuperação das concentrações destes elementos em 6 amostras digeridas se encontram na Tabela 28. Alíquotas do maior padrão foram adicionadas a estas amostras e foram obtidas as seguintes recuperações: As (71 a 95%), Cd (100 a 120%), Pb (94 a 131%) e Se (74 a 93%). Pode-se observar maiores recuperações para os elementos Pb e Cd. Percentuais de recuperação maiores que 120% podem ser creditadas a possível contaminação e os valores menores que 80% a perdas por volatilização.

Tabela 26. Porcentagem de Recuperação de As, Cd, Pb e Se.

Amostra	As %Rec	Cd %Rec	Pb %Rec	Se %Rec
ER	71	100	108	77
O	79	120	111	78
TN	83	100	131	93
BA	85	100	94	81
L	95	120	120	78
MU	84	120	116	74

Os valores calculados para LQ foram: 0,126 mg Kg⁻¹ As; 0,003 mg Kg⁻¹ Cd; 0,03 mg Kg⁻¹ Pb e 0,084 mg Kg⁻¹ Se.

As concentrações obtidas nas amostras analisadas para Cd e Pb, em mg Kg⁻¹, estão apresentadas na Tabela 29. Para todas as amostras as concentrações de As e Se foram menores que o LQ.

Concentrações de Cd abaixo do LQ foram encontradas nas amostras ER, TN, SAJ, L e MU. As concentrações de Pb variaram de 0,029 a 0,326 mg Kg⁻¹ para as amostras avaliadas. As concentrações encontradas estão abaixo do valor estabelecido pela Legislação Brasileira para alimentos em geral, que é de 1 mg kg⁻¹ para Cd e 0,8 mg Kg⁻¹ de Pb (BRASIL, 1990). Além disso, as concentrações de Cd e Pb também estão abaixo dos valores máximos recomendados pelo Codex Alimentarius em todas as amostras. De acordo com as recomendações do Codex, a concentração máxima permitida de Cd e Pb em alimentos é de 7 e 50 µg kg⁻¹ de peso corpóreo para ingestão semanal, respectivamente.

Tabela 27. Concentração de Cd e Pb em amostras de farinha de mandioca em mg kg⁻¹.

Amostra	Cd	Pb
ER	< LQ	0,089±0,003
O	0,03±0,01	0,158±0,003
TN	< LQ	0,326±0,006
SAJ	< LQ	0,029±0,006
L	< LQ	0,288±0,005
MU	< LQ	0,170±0,01
CRUZ	0,030±0,002	0,34±0,03
CACHO	0,017±0,005	0,13±0,01
CAEM	0,012±0,002	1,12±0,01
IARAS	0,010±0,004	0,38±0,03
ILHEUS	0,021±0,001	<LD
ITAB	0,014±0,004	0,19±0,06
SMM	0,015±0,002	0,67±0,03
VÁRZEA	0,011±0,001	0,47±0,05
SRM	0,029±0,001	<LD

Pode-se concluir que o emprego de técnicas de alta sensibilidade, como a espectrometria de absorção atômica com atomização em forno de grafite, tornou possível a avaliação das concentrações desses elementos considerados tóxicos e que não têm, até o momento, relatos que confirmem as essencialidades dos mesmos. Os resultados obtidos indicaram para concentrações abaixo dos limites estabelecidos pela legislação e estudos complementares devem ser desenvolvidos para um maior número de amostras, de forma a estabelecer um perfil mais completo deste tipo de amostra.

CAPITULO IV

DETERMINAÇÃO DE CLORO, BROMO E IODO EM FARINHA DE MANDIOCA POR ESPECTROMETRIA DE EMISSÃO ÓPTICA COM PLASMA INDUTIVAMENTE ACOPLADO

4.1 Considerações sobre a determinação de halogênios por técnicas espectrométricas

A importância da determinação de alguns halogênios em alimentos está associada a aspectos relacionados ao controle de qualidade e à saúde. Nos últimos anos tem sido crescente a pesquisa sobre compostos de bromo em decorrência do aumento da incorporação deste elemento no meio ambiente. Atualmente, resíduos de bromo provenientes de fumigação (controle de pragas) de alimentos estão inseridos na cadeia alimentar, essencialmente no que se refere ao cultivo de grãos, frutas e tabaco (NARDA *et al.*, 2001). Este elemento não é considerado essencial, no entanto, pesquisas reportam a utilização de bromo como agente antiepiléptico em alguns tratamentos pediátricos (LYON *et al.*, 2005).

O elemento cloro é um micronutriente não metálico que pode ser encontrado em sua forma livre (Cl_2 , HOCl , OCl^-) ou combinada (NH_2Cl , NHCl_2 , RNHCl). Estudos relatam que o Cl é um micronutriente aniônico essencial na vida vegetal, sendo absorvido por algumas espécies de plantas em quantidades elevadas. A toxicidade de cloro é mais comum do que a deficiência. Nos seres humanos é um dos minerais mais importantes na regulação da pressão osmótica juntamente com o sódio. A deficiência deste elemento causa alcalose metabólica e o excesso do mesmo pode provocar acidose metabólica e cefaleia. O índice de ingestão diária para este elemento em adultos corresponde a $1,5 \mu\text{g dia}^{-1}$ (BARBOSA, 2012).

O iodo é um micromineral nutriente importante para o nosso organismo. A maior concentração do iodo se encontra na glândula tireóide, onde participa da formação dos hormônios tireoidianos (tiroxina e triiodotiroxina), que são responsáveis por acelerar reações celulares em quase todo o organismo e ainda atua diretamente sobre a maioria dos órgãos, bem como, de suas funções orgânicas

(HALDIMANN, *et. al.*, 2000). A quantidade necessária de ingestão de I é de grande relevância para a população, pois ajuda no bom desenvolvimento do cérebro e dos neurônios; na reprodução humana; na conversão de betacaroteno em vitamina A, síntese de proteínas e absorção intestinal de carboidratos, dentre outras. A dose diária vai depender da idade e estado fisiológico da pessoa (OLIVEIRA, 2009). Segundo a OMS um adulto deve consumir $150 \mu\text{g dia}^{-1}$, já crianças de 0 a 7 anos $90 \mu\text{g dia}^{-1}$ e de 7 a 12 anos $150 \mu\text{g dia}^{-1}$ e ainda grávidas ou lactantes $200 \mu\text{g dia}^{-1}$ (DRI, 2000). A deficiência deste elemento é devido ao consumo de alimentos pobres em I ou ainda problemas de saúde que levam a uma baixa absorção do mesmo no organismo. Doenças da glândula tireóide (bócio), cretinismo, retardo mental, aumento da mortalidade perinatal e desenvolvimento de anomalias, são problemas de saúde que podem ser causadas devido a esta deficiência (COZZOLINO, 2005). Já o excesso, pode causar aumento das doenças auto-imunes da tireóide (PEREIRA, 2005).

As técnicas espectroanalíticas são comumente usadas para determinações de diversos elementos. Porém, sua aplicação para determinações de elementos não metálicos, tais como, cloro, bromo e iodo é dificultada, devido a esses elementos possuírem características químicas e propriedades espectroscópicas particulares, como por exemplo, alta volatilidade, dificuldade de dissociação e alta excitação de energia (BERMEJO-BARRERA, *et.al.*, 1999). Devido a essas características, a determinação de cloro, bromo e iodo por métodos espectrométricos requerem condições especiais. Estes elementos apresentam linhas de ressonância que se encontram na região do ultravioleta de vácuo (VUV), que correspondem comprimentos de onda abaixo de 190 nm, passando a ser um grande desafio para determinação por estas técnicas. A técnica ICP OES possibilita uma

alta sensibilidade nesta região, facilitando a determinação de elementos ametálicos. Outra vantagem é que devido o desenvolvimento de sistemas ópticos purgados dos gases como Ar ou N₂ que fazem com que sejam removidas as espécies que absorvem radiação nesta região por componentes do ar, como por exemplo, o oxigênio e o vapor de água (OLIVEIRA, 2009, SCHULZ & HEITLAND, 2001).

A determinação indireta para halogênios baseia-se em uma ou mais reações químicas, como por exemplo, com Al, Ga, In ou Tl, podendo depois ser diretamente determinado por AAS. Em muitos casos a seletividade torna-se uma questão crítica, pois não são espectros diatômicos com comprimento de onda específico como espectros atômicos (DONATI, *et. al.*, 2009).

O preparo de amostras é um passo bem crítico quando se quer determinar estes elementos, pois podem formar espécies voláteis, tais como HI, HCl e HBr. Podem ainda causar baixa estabilidade, efeito de memória, e pH baixo (HALDIMANN, *et. all.* 2000).

Nas determinações de Cl, Br e I é necessária a adição de nitrato de prata na etapa do preparo de amostras, pois pode haver perda por volatilização do analito e efeito de memória (OLIVEIRA, 2009). O nitrato de prata é um sal solúvel em água, usado em muitas reações, formando substâncias insolúveis, chamados de precipitados. Cloretos, brometos e iodetos reagem com a prata formando um precipitado, AgCl, AgBr e AgI, sendo que os íons de NO₃⁻ permanecem na solução sobrenadante.

Diversos trabalhos foram realizados para determinações desses elementos. Dentre estes, Parvinen e Lajunen, em 1999, determinaram cloreto em águas potável e subterrânea, através do monitoramento da absorbância da molécula

de AlCl (monocloreto de alumínio) vaporizada, por espectrometria de absorção atômica equipado com uma lâmpada de deutério e sistema de correção de fundo.

Naozuca *et al.*, em 2003, determinaram cloro, bromo e iodo em amostras de leite por ICP OES. Durante o processo de mineralização em fornos de micro ondas com cavidade e focalizado, ânions são precipitados como sais de produtos de baixa solubilidade (AgCl, AgBr e AgI). Após a separação a partir da solução digerida, os precipitados são dissolvidos com amônia, resultando em um de solução 20% v v-1. A solução final foi introduzida diretamente no ICP OES sem qualquer dano para o sistema de introdução de amostras e sem interferência espectral. Três materiais de referência biológicos foram utilizados para validar a metodologia: Non-Fat Milk Powder SRM 1549 e Whole Egg Powder RM 8415, da NIST, e Skim Milk Powder RM-151 do BCR. Os resultados demonstraram a eficiência do procedimento.

Donati, *et al.*, em 2009, determinou indiretamente o iodo com filamento de tungstênio por espectrometria de emissão atômica. Uma alíquota de 25 µL de uma solução contendo uma quantidade conhecida de índio é depositada sobre o filamento de tungstênio e, secou-se com um programa de aquecimento simples. Após secagem, 25 µL de uma solução de iodeto é adicionado no filamento. A solução é seca e vaporizado sob corrente elevada. A intensidade de emissão do índio é medido na linha 451,1 nm. O iodeto reage com o índio formando o InI, e a intensidade de emissão é atenuada. Esta atenuação é proporcional à concentração de iodeto, com um limite de detecção do método de 0,6 mg L⁻¹ de iodeto usando uma concentração de In de 10 mg L⁻¹, e 3 mg L⁻¹ de iodeto usando uma concentração de In de 50 mg L⁻¹. O método proposto foi aplicado em amostras de águas dopadas (deionizada e de torneira).

Recentemente foi proposto um procedimento para determinação de F em amostras de chá através da medida do composto CaF empregando espectrometria de absorção molecular com fonte contínua e alta resolução. As amostras foram submetidas a três procedimentos de preparo: (a) digestão com 7,0 mL de ácido nítrico concentrado em forno de micro-ondas com cavidade; (b) solubilização com 1,5 mL de TMAH (Hidróxido de tetrametilamônio) 25% em banho maria por 40 min; e (c) extração com água quente a 90 °C por 5 min. A maior vantagem é que apenas cálcio tem de ser adicionado em uma razão molar de 20 vezes em excesso em relação ao flúor e nenhum outro modificador é necessário. A única desvantagem é que os tubos de grafite duram apenas cerca de 100 determinações devido a bem conhecida reação de cálcio com grafite com a formação de carbetos, que se decompõem com a adição de água (CARASEK e WELZ, 2011).

Nas determinações de cloro por ICP OES utilizando um sistema de nebulização convencional é difícil se obter alta sensibilidade devido à sua alta energia de excitação, uma vez que apenas 5% do volume total da amostra contribuem para a intensidade de emissão. Em trabalho recente, foi proposto um novo método de vaporização, a partir da introdução de cloro gasoso no plasma. Foi obtida alta sensibilidade na análise de cloro, em torno de 20 vezes maior, devido a uma conversão de quase 100% de cloro dissolvido na amostra no estado gasoso. Os resultados obtidos pelo novo método foram confirmados utilizando amostras de água mineral e de rio (Hashimoto e colaboradores, 2010).

Em outro trabalho, Hashimoto e colaboradores propôs um procedimento para solubilização de amostras de algas utilizando TMAH para extração de determinação de iodo e bromo por espectrometria de massa com indutivamente

acoplado plasma (ICP-MS). Variáveis que afetam a extração/ solubilização assistida por microondas (temperatura, volume de TMAH, tempo de rampa e tempo de espera) foram avaliadas empregando estratégias multivariadas. O procedimento proposto consistiu de pesagem de 0,25 g de algas comestíveis em pó para dentro dos vasos de microondas, e adição de 10 mL de água ultrapura e 10 mL de TMAH. Após a digestão, extratos de amostras foram centrifugadas durante 10 min a 3000 rpm e o sobrenadante foi transferido para frascos de 50 mL. O resíduo sólido foi lavado com um pequeno volume de água e após a centrifugação, as águas das lavagens de foram combinados com o sobrenadante. Finalmente, os extratos foram filtrados com filtros de 0,45 µm (Millipore), antes das medições no ICP-MS. As figuras de mérito exatidão e a precisão do método foram avaliadas através da análise do material de referência certificado (CRM) -NIES-09 (Sargasso, *Sargassum fulvellum*) e os resultados apresentaram boa concordância.

Em análises por ICP OES podem ocorrer erros na medida analítica devido à interferência de matriz, as quais estão relacionadas ao processo de nebulização da amostra e atomização do analito. Com a finalidade de compensar esses erros, o método da padronização interna pode ser utilizado em ICP OES para melhorar a exatidão e a precisão das medidas, garantindo a qualidade dos resultados analíticos (CORREIA & OLIVEIRA, 2005 e MUTIC, *et al.*, 2011). É um método simples e eficiente que consiste na adição de uma quantidade conhecida de um elemento tomado como referência (padrão interno (PI)) em todas as soluções em análise. O princípio do método se baseia na comparação do sinal analítico com o sinal do PI. Todos os cálculos efetuados para a correção do sinal analítico se baseiam na suposição de que tanto analito como o PI sejam igualmente influenciados pela matriz

da amostra e similarmente perturbados pelas alterações nas condições instrumentais ou operacionais. Pode-se, então, obter uma razão entre o sinal do analito e o PI a qual permite compensar as variações positivas ou negativas do sinal do analito que podem ocorrer durante a leitura das soluções. O elemento ítrio é largamente empregado como padrão interno em análises de amostras ambientais, biológicas e de alimentos por ICP OES (C. VOGIATZIS & G. ZACHARIADIS, 2011).

4.2 Objetivos

- Investigar o uso da padronização interna nas determinações de Br, Cl e I em amostras de farinha de mandioca empregando ICP OES.

4.3 Parte Experimental

4.3.1 Instrumentação:

As amostras de farinha foram digeridas no forno de microondas com cavidade Multiwave 3000 da Anton Paar.

A determinação dos analitos foi realizada empregando ICP OES, Spectro Ciros^{CCD} (Spectro Analytical Instruments Kleve, Germany) com visão axial. As condições utilizadas na determinação destes elementos estão descritas na Tabela 30.

Tabela 28. Condições operacionais do ICP OES.

Gerador	
Potência	1400
Nebulizador	Fluxo cruzado
Câmara de Spray	Duplo passo, tipo Scott
Outros gases/L min ⁻¹	12
Gás Intermediário/L min ⁻¹	1.0
Gás nebulizador/L min ⁻¹	1.0
Taxa de amostra absorvida/mL min ⁻¹	1.5
Comprimento de onda/nm	Br (I) (154.065, 153.174, 148.845) Cl (I) (134.724, 135.165 e 136.345) I (I) (183.038 e 178.276) Ir (I) (203.357) Y (II) (224.306 e 320.332)

* (I) Linha Atômica e (II) Linha iônica.

4.3.2 Reagentes e Soluções

As soluções de bromo, iodo e cloro 1000 mg L⁻¹ foram preparadas a partir dos seus sais: brometo de sódio, iodeto de potássio e cloreto de sódio, respectivamente, pesando-se uma massa cerca de 0,06 g de NaBr e KI e cerca de 0,07 g de NaCl. A solução de nitrato de prata 1 mol L⁻¹ foi preparada dissolvendo quantidades adequadas do seu sal. Todas as soluções foram completadas para seu respectivos volumes com água Milli-Q.

No final do procedimento de digestão e da centrifugação, utilizou-se solução amoniacal 20% v v⁻¹. As soluções dos padrões internos Irídio e Ítrio foram preparados a partir da solução de referência 1000 mg L⁻¹ para 1 mg L⁻¹.

4.3.3 Procedimento:

O procedimento de digestão de amostras de farinha para determinação de Cl, Br e I foi o mesmo descrito no item 3.3.3.1, sendo que após a digestão foi adicionada uma alíquota de 1 mL de AgNO_3 1 mol L^{-1} . A solução de AgNO_3 foi adicionada também nos brancos digeridos. Os digeridos foram transferidos para tubos volumétricos de polipropileno e levados para centrifugação por 15 minutos a 2500 rpm (rotação por minuto). A camada líquida foi descartada e o precipitado foi lavado com água milli-Q para remoção de resíduos ácidos, e levados para a centrífuga novamente com o mesmo intervalo de tempo. O precipitado foi dissolvido com 1,6 mL da solução amoniacal 20% v v⁻¹, foi adicionado 120 μL dos padrões internos Ir e Y em todos os digeridos e avolumado para tubos de 10 mL.

4.4 Apresentação e Discussão dos Resultados

Um experimento preliminar foi desenvolvido, visando investigar o efeito da adição de padrão interno Irídio e Índio na determinação de Cl, Br e I. Para isto foram utilizadas 2 amostras sendo uma de farinha de mandioca e o outro de CRM de farinha de trigo 1567a. Os resultados estão mostrados nas Tabelas 31 a 33. Naozuka e colaboradores em 2003, encontraram para a determinação de Cl, Br e I em amostras de leite por ICP OES os seguintes valores de LD: Cl ($30 \mu\text{g g}^{-1}$), Br ($40 \mu\text{g g}^{-1}$) e I ($280 \mu\text{g g}^{-1}$). Em um dos seus trabalhos, SCHULZ & HEITLAND em 2001, encontraram menor valor de LD para determinação de Cl na linha 134,724 nm.

Tabela 29. Parâmetros das curvas analíticas de calibração para Cl (mg L⁻¹) sem e com adição de padrão interno.

Parâmetro	Sem padrão Interno		Com padrão Interno			
			Y 224,306		Y 320,332	
λ (nm)	134,724	135,165	134,724	135,165	134,724	135,165
Equação da reta	y=340x+41420	y=145x+18799	y=0,0026x+0,26	y=0,0011x+0,12	y=0,0016x+0,17	y=0,0007x+0,07
R ²	0,9987	0,9989	0,9993	0,9990	0,9999	0,9992

Tabela 30. Parâmetros das curvas analíticas de calibração para Br (mg L⁻¹) sem e com adição de padrão interno.

Parâmetro	Sem padrão Interno		Com padrão Interno			
			Y 224,306		Y 320,332	
λ (nm)	154,065	153,174	154,065	153,174	154,065	153,174
Equação da reta	y=2054x+16672	y=538x+7185	y=0,015x+0,099	y=0,0039x+0,043	y=0,059x+0,06	y=0,0025x+0,028
R ²	0,9998	0,992	0,9998	0,9998	0,988	0,9998

Tabela 31. Parâmetros das curvas analíticas de calibração para I (mg L⁻¹) sem e com adição de padrão interno.

Parâmetro	Sem padrão Interno		Com padrão Interno			
			Y 224,306		Y 320,332	
λ (nm)	183,038	178,276	183,038	178,276	183,038	178,276
Equação da reta	y=1490x+7254	y=8044x+5304	y=0,011x+0,041	y=0,057x+0,013	y=0,0068x+0,026	y=0,03x+0,009
R ²	0,9998	0,9999	0,9997	0,9995	0,999	0,9995

Analisando a Tabela 31, pode-se verificar que maior sensibilidade para a determinação de Cl foi obtida para a linha 134,724 nm sem e com a adição de ítrio com padrão interno na linha de emissão 224,306 nm. A concentração obtida para a amostra de CRM de farinha de trigo nestas condições foi $541 \pm 5 \mu\text{g g}^{-1}$ que é próximo ao valor certificado para Cl ($565 \mu\text{g g}^{-1}$).

Para Br, a linha de emissão que apresenta maior sensibilidade é a 154,065 nm, que apresentou também coeficientes de determinação $> 0,9986$ para a determinação sem e com padrão interno Y usando as intensidades da linha 224,306 nm. Para a linha do Y 320,332 nm, verificou-se perda de linearidade ($R^2 = 0,988$). Não foi possível fazer a determinação de Br no CRM de farinha de trigo uma vez que os valores estavam abaixo do LQ do método.

Para I, a linha de emissão que apresenta maior sensibilidade é a 178,276 nm, que apresentou também coeficientes de determinação $> 0,9986$ para a determinação sem e com padrão interno Y usando as intensidades da linha 224,306 nm. Também não foi possível fazer a determinação no CRM de farinha de trigo uma vez que os valores estavam abaixo do LQ do método.

O elemento irídio também foi avaliado com o PI neste estudo, entretanto não foram obtidos bons resultados para as determinações de Cl, Br e I, portanto não pode-se comparar seus resultados com o padrão Ítrio.

Estudos complementares serão desenvolvidos visando determinação destes elementos nas amostras de farinha de mandioca, de forma a estabelecer o perfil para estes elementos.

CAPITULO V

Considerações Finais

5.0 – Considerações Finais

- ✓ Foi encontrado menor teor de carbono residual para os digeridos das amostras de farinha de mandioca resultantes do procedimento empregando bloco digestor, isso foi devido à mistura de ácido ($\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{SO}_4$) para a digestão destas amostras;
- ✓ Foram obtidos valores baixos de LD e LQ para os dois procedimentos de decomposição por via úmida, viabilizando a determinação de Al, Ba, Ca, Cd, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, P e Pb nas amostras de farinha de mandioca;
- ✓ Os resultados indicaram que os valores de concentração encontrados para a amostra de CRM de farinha de trigo 1567^a, empregando os procedimentos com aquecimento em bloco digestor e em forno de micro-ondas com cavidade foram bastante concordantes com os valores certificados, enquanto que para o procedimento por via seca (calcinação) os resultados foram pouco concordantes, para a maioria dos elementos. Problemas de contaminação ou perdas de analito que são comuns no procedimento da calcinação é a explicação mais provável para este resultado;
- ✓ Foi recomendado o procedimento assistido por radiação micro-ondas para determinação da composição elementar nas amostras de farinha de mandioca adquiridas em diferentes localidades do estado da Bahia devido a sua maior eficiência e menor possibilidade de contaminação;
- ✓ Pode-se concluir que a determinação de As, Cd, Pb e Se em amostras de farinha de mandioca é possível por ETAAS empregando o equipamento SIMAAS e a mistura W e Rh como modificador permanente. Foi possível determinar Pb em todas as amostras estudadas;

- ✓ Estudos visando avaliação do efeito da padronização interna nas determinações de Cl, Br e I indicaram as linhas 134,724 nm, 154,065 nm e 178,276, respectivamente, usando padrão interno Y na linha 224,306 como recomendadas devido a maior sensibilidade e adequados coeficientes de determinação.

CAPITULO VI

Referências Bibliográficas

Capítulo 6.0 Referências Bibliográficas

ABNT NBR ISO/IEC 17025. Requisitos gerais para competência de laboratórios de calibração e ensaio. Edição 2, 2005.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA); *Resolução RE nº 899*, de 29/05/2003.

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

ANDERSON, R.; WESTERLUND, E.; TILLY, A. C.; AMAN, P. Natural variations in the chemical composition of white flour. **Journal of Cereal Science**, v. 17, p.183-189, 1992.

ARAÚJO, A. M. **Brasil, Histórias, Costumes e Lendas**. São Paulo: Editora Três, 2000.

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

BARRA, C.M.; SANTELLI, R. E.; ABRÃO, J. J.; DE LA GUARDIA, M. Especificação de arsênio – uma revisão. **Química Nova**, v.23, n.1, p.58-70, 2000.

BASU, T.K.; DICKERSON, J. W. *Vitamins in Human Health and Disease*, CAB International, 1996.

BEEBE, K. R.; PELL, R. J.; SEASHOLTZ, M. B. *Chemometrics: A Practical Guide*, John Wiley & Sons: New York, 1998.

BERMEJO-BARRERA, P.; ABOAL-SOMOZA, M. & BERMEJO-BARRERA, A. "Atomic absorption spectrometry as an alternate technique for iodine determination (1968-1998)". **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v.14. p.1009-1018, 1999.

BIEGO, G. H.; JOYEUX, M.; HARTEMANN, P.; DEBRY, G. Daily intake of essential minerals and metallic micropollutants from foods in France. **Science of the Total Environment**, v. 217, n. 1-2, p. 27-36, 1998.

BORGES NETO, W. Aplicação de Métodos de Reconhecimento de padrões para classificação de óleos comestíveis. Dissertação de mestrado, UFG, Goiânia, Goiás, 2001.

BRASIL. Portaria n. 554, de 30 de agosto de 1995 da Secretaria de Agricultura da Bahia. Norma de identidade, qualidade, apresentação, embalagem, armazenamento e transporte da farinha de mandioca. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 01 set. 1995.

BRASIL, Leis, etc. Portaria nº 16 de 13 de Março de 1990, *Diário Oficial da união*, Brasília, Seção I, 5436, 1990.

CAMARGO, E. B.; BOTELHO, R. A. **Técnica Dietética, Seleção e Preparo de alimentos**, 7ª edição, 2005.

CARASEK, E.; WELZ, B. Determination of fluorine in tea using high-resolution molecular absorption spectrometry with electrothermal vaporization of the calcium mono-fluoride CaF. **Talanta**, v. 85 p. 2681– 2685, 2011.

CEREDA, M. P.; VILPOUX, O. F. **Tecnologia, usos e potencialidades de tuberosas amiláceas latino americanas**. São Paulo. Fundação Cargill, p.13-29, 711p, 2003.

CERVERA, M. L.; MONTORO, R. Critical, review of the atomic spectrometric analysis of arsenic in food. **Fresenius. Journal of Analytical Chemistry**, v.348, p.331-10, 1994.

CHISTÉ, R. C.; COHEN, K. O. **Estudo do Processo de Fabricação da Farinha de Mandioca**. EMBRAPA, 73 páginas, 2006.

CODEX alimentarius: general standard for contaminants and toxins in foods. p.45, 1998.

COZZOLINO, S. M. F.; FÁVARO D. I.T.; AFONSO C.; VASCONCELLOS M. B.A. Determinação de elementos minerais e traços por ativação neutrônica, em refeições servidas no restaurante da Faculdade de Saúde Pública/USP. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 20, n. 2, p. 176-182, 2000.

COZZOLINO, S. M. F. Biodisponibilidade de nutrientes, 1ª Ed., Manole, Barueri, SP, 2005.

CORREIA, P. R. M.; OLIVEIRA, P. V. Avaliação da padronização interna em espectrometria de absorção atômica utilizando gráficos de correlação. **Química Nova**, n. 28, p. 539-543, 2004.

CORREIA P. R. M., NOMURA, C. S., OLIVEIRA P. V. Espectrometria de Absorção Atômica Multielementar: desafios e perspectivas. **Revista Analytica**, n.5, p. 52-59, 2003.

DABEKA, R. W.; MCKENZIE, A. D.; LACROIX, G. M. A.; CLEROUX, C.; BOWE, S.; GRAHAM, R. A.; CONACHER, H. B. S.; VERDIER, P. Survey of arsenic in total diet food composites and estimation of the dietary intake of arsenic by canadian adults and children. **Journal of AOAC International**. v.76, n.1, p.14-25, 1993.

DAMASCENO, A. V. C. A cultura na produção de farinha: um estudo da matemática nos saberes dessa tradição, Tese, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, p.12-17, 2004-2005.

DANKS D. M. Copper deficiency in humans. **Revista Nutricional**, v. 8, p. 235-237, 1988.

DIAS, L. T.; LEONEL, M. Caracterização físico-química de farinhas de mandioca de diferentes localidades do Brasil. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 4, p. 692-700, 2006.

DIETARY REFERENCE INTAKES Table, Food and Nutrition Board, National Academy of Sciences, 2002.

DONATI, G. L., NÓBREGA, J. A., NASCENTE, C. C., B JONES, T. Indirect determination of iodine by tungsten coil atomic emission spectrometry. **Microchemical Journal**. v. 93, p. 242-246, 2009.

DIETARY REFERENCE INTAKES for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium and Zinc, Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, National Academy Press, Washington, D. C., 2000.

EGE, A.; DONER, G. Evaluation of digestion procedures for the determination of iron. **Analytica Chimica Acta**. v. 520 p. 217–222, 2004.

FERREIRA, M. M. C.; ANTUNES, A. M. A.; MEIGO, M. S.; VOLPE, P. L. O. Quimiometria I: Calibração variada, um tutorial. **Química Nova**, v.22, n.5,p. 724-731,1999.

- FRANCO, G. Tabela e Composição Química dos Alimentos. Ed. Atheneu, 1999.
- FLORES, E. M. M. ; BARIN, J.S.; PANIZ, J.N.G.; MEDEIROS, J.A.; KNAPP, G.; GOUVEIA, S. T.; SILVA, F.V.; COSTA, L. M.; NOGUEIRA, A. R.; NÓBREGA, J. A. Microwave-assisted sample combustion: A technique for sample preparation in trace element determination; **Analytical Chemistry**, v.76, p. 3525-3529, 2004.
- FAO/WHO Codex Alimentarius Commission; 31 Session Codex Committee on Food Additives and Contaminants, 1999.
- FRESCHI G. P. G.; DAKUZADU C. S.; MORAES M.; NETO J. A. G. Espectrometria de absorção atômica multielementar simultânea com atomização eletrotérmica em forno de grafite – uma revisão da técnica e aplicações. **Eclética Química** v. 25, p. 213-226, 2000.
- GIBSON, R.S. Assessment of trace element status in humans. , **Progress unfood & nutrition science**, v. 13, p. 67-111, 1989.
- GOLDHABER, S. B. Trace element risk assessment: essentiality vs. Toxicity. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v.38, n. 2, p. 232-24, 2003.
- GOUVEIA, S. T.; SILVA, F.V.; COSTA, L. M.; NOGUEIRA, A. R.; NÓBREGA, J. A. Determination of residual-carbon by inductively-coupled plasma emission spectrometry with axial and radial view configurations. **Analytical Chimica Acta**, v. 445, p. 269-275, 2001.
- HASHIMOTO, B.; DAIDOJI, H.; UCHIHARA, H. Determination of Chlorine by Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry Using the Oxidation Introduction Method, **Bunseki Kagaku**, v. 59 , n. 7 , p. 627-631, 2010.
- HOENIG, M.; CILISSEN, A. Performances and practical applications of simultaneous multi-element electrothermal atomic absorption spectrometry the case of the SIMAA 6000, **Spectrochimica Acta**, v. 52B, p.1433-1449, 1997.
- JOINT FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, 41^a, Geneva, 1993.
- HALDIMANN, M.; EASTGATE, A.; ZIMMERLI, B. Improved measurement of iodine in food samples using inductively coupled plasma isotope dilution mass spectrometry. **Analyst**, v. 125, p. 1977–1982, 2000.
- INMETRO. DOQ-CGCRE-008 – Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos. Ver. 01 - mar/2003.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION (ICH); *Validation of Analytical Procedures: Methodology*, Q2B (CPMP/ICH/281/95), 1995.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION (ICH); *Validation of Analytical Procedures: Definitions and Terminology*, Q2A (CPMP/ICH/381/95), 1995.

JUNQUEIRA, R. G.; SOUZA, S. V. C.; VARGAS, E. A.; CASTO, L. Validação Intralaboratorial de Método para Determinação de Aflatoxina M1 em Leite por Cromatografia em Camada Delgada. In: III Congresso Brasileiro de Metrologia, 2003, Recife. CD rom. Pernambuco: SBM, 2003.

KATHLEEN MABAN, L.; SYLVIA ESCOTT-STUMP. **Alimentos, Nutrição e Dietoterapia**, Ed. Roca, 1998.

KORN, M. G. A.; MORTE, E. S. B.; SANTOS, D. C. M. B.; CASTRO, J. T.; BARBOSA, J. T. P.; TEIXEIRA, A. P.; WELZ, B.; SANTOS, W. P. C.; FERNANDES, A. P.; SANTOS, E. B. G. N.; KORN, M. Sample Preparation for the Determination of Metals in Food Samples Using Spectroanalytical Methods - A Review. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 43, p. 67-92, 2008.

KRACHLER, M.; MOHL, C.; SHOTYK, W. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 17, p.844-851, 2002.

KRUG, F. J. Métodos de preparo de amostras: fundamentos sobre o preparo de amostras orgânicas e inorgânicas: VI Workshop sobre preparo de amostras, 6^a edição, Santa Maria. p. 282, 2006.

LANDSMAN, A.; LICHTSTEIN, D.; ILANI, A. Distinctive features of dietary phosphate supply. **Journal of Applied Physiology**, v. 99, n. 3, p. 1214-1219, 2005.

LEITE, F. **Validação em Análise Química**. Campinas. Ed. Átomo, 1998.

LIMA, E. C.; BARBOSA, J.R. F.; KRUG, F. J.; TAVARES, A. **Manual técnico de beneficiamento e industrialização da mandioca**. São Paulo: Secretaria de Ciência e Tecnologia, (Série Tecnologia Agroindustrial – Programa Adequação, 2), p.56, 1982.

LIMA E. C.; KRUG F. J.; JACKSON K. W. Evaluation of tungsten-rhodium coating on an integrated platform as a permanent chemical modifier for cadmium, lead, and selenium determination by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta** v. 53B. P. 1791-1804, 1998.

LIMA, E. C.; BARBOSA, JR. F.; KRUG, F. J.; TAVARES A. Copper determination in biological materials by ETAAS using W–Rh permanent modifier. **Talanta**. v.57, p. 177-186, 2002.

LUSTOSA, B. H. B.; LEONEL, M.; MISCHAN, M. M.; FILHO, J. D. Efeito das condições de extrusão sobre a cor de produtos expandidos de farinha de mandioca. **RAT - Revista Raízes e Amidos Tropicais**, v.3, p.01-04, 2007.

MCKENZIE, H. A.; SMYTHE, L. E. (Ed.) Quantitative trace analysis of biological materials. New York; **Elsevier**, p.573-93, 1998.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, DO ABASTECIMENTO E DA REFORMA AGRÁRIA, Portaria nº 244/1981. Dispõe novas especificações para padronização e classificação da farinha de mandioca, destinada à comercialização no mercado interno.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, DO ABASTECIMENTO E DA REFORMA AGRÁRIA, Portaria nº 554/1995. Dispõe de normas de identificação, qualidade, apresentação, embalagem, armazenamento e transporte da farinha de mandioca.

MORAES, M. L.; ALMEIDA, L. B.; SANTO, R. E.; BARBOSA, R. F.; CARMO, M. G. T. Elementos traço e complicações obstétricas na gestação na adolescência. **Revista de nutrição**, v. 23, n. 4, p. 621-628, 2010.

MORÉS, S.; MONTEIRO, G.C.; SANTOS, F.S.; ROMARÍS-HORTAS, V.; MOREDA-PIÑEIRO, A.; BERMEJO-BARRERA, P. Microwave assisted extraction of iodine and bromine from edible seaweed for inductively coupled plasma-mass spectrometry determination, **Talanta** v. 79 p. 947–952, 2009.

MOMEN A. A.; ZACHARIADIS G. A.; ANTHEMIDIS A. N.; STRATIS J. A. Investigation of four digestion procedures for multi-element determination of toxic and nutrient elements in legumes by inductively coupled plasma-optical emission spectrometry. **Analytica Chimica Acta**. v. 565, p. 81–88, 2006.

MORGANO, M. A.; FERREIRA, M. M. C.; MANTOVANI, D. M. B. Análise exploratória de diferentes cultivares de bananas. **XVI Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. único, p. 1055-1058, 2000.

MUTIC J.; MANOJLOVIC, D.; KOVACEVIC, R.; TRIFUNOVIC, J.; AMAIZAH, N. R.; IGNJATOVIC, L. Feasibility of the internal standardization in direct determination of

arsenic in wine samples by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. **Microchemical Journal**. v. 98, p. 11– 14, 2011.

NAOZUCA, J.; VEIGA, M. A. M. S.; OLIVEIRA, P. V.; OLIVEIRA, E. “Determination chlorine, bromine and iodine in Milk samples by ICP OES.” **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v.18, p.917-921, 2003.

NASCIMENTO, A. N.; NAOZUCA J.; OLIVEIRA, P. V. *In vitro* evaluation of Cu and Fe bioavailability in cashew nuts by *off-line* coupled SEC–UV and SIMAAS, **Microchemical Journal**. v. 96, n. 1, p. 58-63, 2010.

NOMURA, C. S.; CORREIA, P. R. M.; OLIVEIRA, P. V.; OLIVEIRA E. W + Rh as Pemanent Chemical Modifier in Simultaneous Atomic Absorption Spectrometry: Interference Studies on As, Cd, Pb and Se Determination. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.15, N. 1, p. 75-82, 2004.

OLESZCZUK, N. Desenvolvimento de métodos analíticos de rotina para análise de grãos de café verde utilizando amostragem sólida por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite. Universidade Federal do rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

OLIVEIRA, A. A. Determinação de iodo por espectrofotometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente com configuração axial, São Carlos- SP: Universidade Federal de São Carlos, 78 p, 2009.

OLIVEIRA, R. C. Avaliação do Movimento de Cádmio, Chumbo e Zinco em Solo Tratado com Resíduo-Calcário. Lavras, 2002. 84 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Solos e nutrição mineral de plantas) - Universidade Federal de Lavras.

ORODUSHKIN, RODUSHKIN, I.; RUTH, T.; HUHTASAARI. A. Comparison of two digestion methods for elemental determinations in plant material by ICP Techniques. **Analytica Chimica Acta**, v. 378, p. 191-200, 1999.

OTSUBO, A. A.; LORENZI, J. O. **Cultivo da mandioca na região centro-sul do Brasil**. Dourados: EMBRAPA Agropecuária Oeste; Cruz das Almas: EMBRAPA Mandioca e Fruticultura, 2004.

PADOVANI, R. M.; AMAYA-FARFAN, J.; COLUGNATI, F. A. Basile and DOMENE, S. M. Á. Dietary reference intakes: aplicabilidade das tabelas em estudos nutricionais. **Revista Nutricional**., v. 19, n. 6, p. 741-760, 2006.

PARVINEN, P.; LAJUNEN, L. H. J. Determination of chloride in drinking and ground water by AlCl₃ molecular, absorptionspectrometry using graphite furnace atomic absorption spectrometer. **Talanta**. v. 50, p. 67-71, 1999.

PEREIRA, A. Sal em excesso, Revista Pesquisa FAPESP, fevereiro, 2005.

RAUPP, D. S.; MOREIRA, S. S.; BANZATTO, D. A.; SGARBIERI, V. C. Composição e propriedades fisiológico – nutritivas de uma farinha rica em fibra insolúvel obtida do resíduo fibroso de fecularia de mandioca: **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.19, n.2, p. 205-210,1999.

RECOMMENDED DIETARY ALLOWANCES. National Research Council. 10^a edição. **National Academy of Sciences**. Washington (DC), p. 224–230, 1989.

REIS, M. A. B.; VELLOSO, L. A.; REYES, F. G. R. Alterações do metabolismo da glicose na deficiência de magnésio. **Revista Nutrição**, v.15, n.3, p.333-340, 2002.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C.B.G.; COLLINS, C.H.; JARDIM, I.C.S.F.; MELO, L.F.C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**. v.27, n. 5, p. 771-780, 2004.

ROCHA, S. R.; SÁNCHEZ-MUNIZ, F. J.; GÓMEZ-JUARISTI, M.; MARÍN, M. T. L. Trace elements determination in edible seaweeds by an optimized and validated ICP-MS Method. **Journal of Food Composition and Analysis**. v. 22, p. 330-336, 2009.

RUELA, I. C.A.; LIMA, J.A.; SOUZA, S.V.C.; JUNQUEIRA, R.G. Otimização e validação de método para determinação de resíduos de oxitetraciclina e clortetraciclina em leite por cromatografia líquida de alta eficiência. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.25, n.1, p. 139-146, 2005.

SANTA MARIA, I.; GONZALES, M.; LARA, W. A. Arsenic levels in chilean marine species. Bull. **Environmental Contamination and Toxicology**, v.37, p. 593-598, 1986.

SAPKOTA, A.; KRACHLER, M.; CHEBURKIN, N.; SHOTYK, W. **Analytica Chimica Acta**. v. 540, p. 247-256, 2005.

SAPUNAR-POSTRUZNIK, J.; BAZULIC, D.; KUBALA, H.; BALINT, L. Estimation of dietary intake of lead and cadmium in the general population of the Republic of Croatia. **The Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 177, n. 1, p. 31-35, 1996.

- SCHULZ, O.; HEITLAND, P. "Application of prominent spectral lines in the 125-180nm range for inductively coupled plasma optical emissionspectrometry." **Fresenius Journal Analytical Chemistry**, v. 371: p. 1070-1075, 2001.
- SEBECIC, B.; VEDRINA-DRAGOJEVIC, I. Wheat flour confectionery products as a source of inorganic: Zinc and cooper contents in hard biscuits. **Food/Narhung**, v. 48, n.2, p 141-144, 2004.
- SILVA, C. C.; TEIXEIRA, A. S.; GOLDBERG, T. B. L. Impacto da ingestão de cálcio sobre a mineralização óssea em adolescentes. **Revista Nutrição**,v.17, n.3, p.351-359, 2004.
- SNEDDON, J.; FARAH, K.S. Investigation of chemical modification in the simultaneous graphite furnace atomic absorption spectrometry detection of arsenic, cadmium, lead, and selenium, **Spectroscopy Letters**, v.27, p.257-67, 1994.
- SOARES, M. E.; BASTOS, M. L.; CARVALHO, F.; FERREIRA, M. Determination of As, Cd, and Pb in foodstuff by GFAAS. **Atomic Spectroscopy**, v.16, n.4, p.149-153, 1995.
- SOUZA, M. G.; OLIVEIRA. P. V. Determinação de As, Cd e Pb em amêndoas e mesocarpo de babaçu, sapucaia, xixá e castanha-do-pará por espectrometria de absorção atômica, **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1442-1446, 2009.
- SOUZA, R. A. "Uso da Espectrofotometria de Emissão Óptica em Plasma de Argônio com Acoplamento Indutivo na determinação de nutrientes e contaminantes inorgânicos em água de coco natural e industrializada.", Dissertação de mestrado, Campinas, SP, 2003.
- SOUZA, S. V. C. *Procedimento para validação intralaboratorial de métodos de ensaio: delineamento e aplicabilidade em análises de alimentos*. Belo Horizonte: Faculdade de Farmácia da UFMG, p. 296, 2007.
- SWARTZ, M. E.; KRULL, I. S. **Pharmaceutical Technology**, v.12, n.2, 1998.
- TAVERNIERS, I.; DE LOOSE, M.; VAN BOCKSTAELE, E. Trends in quality in the analytical laboratory. II. Analytical method validation and quality assurance. **Trends Analytical Chemistry** v.23, p.535-552, 2004.

THOMPSON, M.; ELLISON, S. L. R.; WOOD, R. Harmonized guidelines for singlelaboratory validation of methods of analysis. **Pure Applied Chemistry** v.74, n.5, p. 835-855, 2002.

TONG-SHUNG, T.; YEOU-LIH, H.; LEI-CHANG, T. Simultaneous Determination of Aluminum, Cadmium and Lead in Whole Blood by Simultaneous Atomic Absorption Spectrometry with Oxygen Charring, **Journal Of The Chinese Chemical Society**, v.56, n.1, p.135-141, 2009.

UNDERWOOD, E. **Trace elements in human and animal nutrition**. New York, N.Y.: Academic Press, 1977.

VANDERCASTEELE, C.; BLOCK, C. B. **Modern Methods for Trace Elements Determination**, John Wiley, Chichester, p.168, 1993.

VOGIATZIS, C.; ZACHARIADIS, G. An evaluation of the use of yttrium and beryllium as internal standards in inductively coupled plasma emission spectrometry for untreated aqueous solutions in presence of high concentrations of organic solvents and matrices. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 26, p. 2030-2038, 2011.

ZANAO, R. A.; BARBOSA, F.; SOUZA, S. S.; KRUG, F. J.; ABDALLA, A. L. Direct determination of selenium in whole blood by electrothermal atomic absorption spectrometry using W–Rh-coated platform and co-injection of Rh as thermal stabilizer. **Spectrochimica Acta**, v. 57B, p. 291-301, 2002.

WALSH, M. C. Moving from official to traceable methods. **Trends in Analytical Chemistry**, v.18, p.616-623, 1999.

WELZ B.; SCHLEMMER G.; MUDAKAVI J. R. Palladium nitrate magnesium-nitrate modifier for electrothermal atomic absorption spectrometry. Part 5: Performance for determination of 21 elements, **Journal Analytical Atomic Spectrometry**, v.7, v., p. 1257-1271, 1992.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Trace elements in human nutrition and health. Geneva: WHO; p.9-20, 1996.