

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:

"Avaliação de micro-nutrientes e contaminantes inorgânicos em alimentos industrializados por técnicas espectrométricas"

ELANE SANTOS DA BOA MORTE

Salvador

2010



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA



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

# "Avaliação de micro-nutrientes e contaminantes inorgânicos em alimentos industrializados por técnicas espectrométricas"

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

# ELANE SANTOS DA BOA MORTE

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Maria das Graças Andrade Korn

19 de maio de 2010

Morte, Elane Santos da Boa

Avaliação de micro-nutrientes e contaminantes inorgânicos em alimentos industrializados por técnicas espectrométricas / Elane Santos da Boa Morte. – Salvador: E.S.B.M, 2010

136f

Orientadora: Professora Dr.ª Maria das Graças Andrade Korn

Tese (doutorado) – Universidade Federal da Bahia. Instituto de Química, 2010.

I. Universidade Federal da Bahia. Instituto de Química. II. Korn, M.G.A. II. Título

Á minha família: meu pai, minha mãe e minha irmã, as pessoas que mais amo nesse mundo.

"Não se preocupe em entender, viver ultrapassa qualquer entendimento."

Clarice Lispectror

#### AGRADECIMENTOS

A Deus, sem Ele, nada aconteceria...

Aos membros da Comissão Examinadora: Prof. Dr. José Luís Fontes da Costa Lima, Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Letícia Malta Costa, Prof. Dr. Leonardo Sena Gomes Teixeira e a Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Deusdélia Teixeira de Almeida pelas sugestões e discussões.

À minha orientadora Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Marias das Graças Andrade Korn, pelos 10 anos de amizade, companheirismo e aprendizado

Aos professores Antônio Celso Spínola e Sérgio Luís Costa Ferreira.

Aos professores Joquim de Araújo Nóbrega, Ivo Raimundo, Célio Pasquini, Paula C. A.G. Pinto e Maria Lúcia M.F.S. Saraiva pela orientação durante a realização dos estágios sanduíche.

À todos os professores do Instituto de Química da UFBA, pela contribuição na minha formação.

À todos os funcionários do Instituto de Química da UFBA que estão sempre dispostos a colaborar em especial aos funcionários da Biblioteca e à Cristóvão.

Às minhas amigas companheiras de trabalho Dani, Jaci, Wagna, Dea, Su, Pessoa e Vanessa.

Aos meus amigos professores Anderson, Denis, Fábio Alan, Erik, Rennan e Raildo pela grande e valorosa amizade.

À Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Márcia Bispo pela amizade e pela co –orientação na Iniciação Científica.

Ao pessoal do GPQA: Cássia, Euliane, Fernanda, Gabriel, Geysa, Leandro, Mauro, Taís, Thiago,

Às minhas fofíssimas: ICs, Isa, Janja, Karine, Paulinha e Lívia.

Ao pessoal do lab 408: Daniel, Geovani, João Vitor, Lindomar, Samuel, Robson

A todos os meus amigos de graduação em especial a Érica Larusa, Ilton e Rosiene e a todos os amigos do doutorado que sempre me apoiaram.

Aos meus novos amigos do GAIA (Grupo de Análise Instrumental Aplicada) na UFSCar, São Carlos, São Paulo

Aos meus novos amigos do GIA (Grupo de Instrumentação e Automação em Química Analítica) na UNICAMP, Campinas, São Paulo

Aos meus novos amigos do REQUIMTE na Universidade do Porto, Portugal

A CAPES pelo apoio concedido na forma de bolsa de estudo

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

A toda a minha família.

A todos os meus amigos, não citarei nomes, pois são muitos...

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

Muito Obrigada!

#### RESUMO

Os alimentos enlatados possuem grande importância tanto no cenário nacional como no cenário mundial devido a praticidade que eles oferecem. A determinação de constituintes inorgânicos neste tipo de alimento é importante, pois é crescente a preocupação da população e da comunidade científica em estar ciente do que é ingerido e é importante também avaliar a possível contaminação destes alimentos por componentes existentes na constituição da lata. Neste trabalho, foram avaliadas técnicas espectrométricas para a determinação de constituintes inorgânicos em diferentes alimentos industrializados. Para amostras de extrato de tomate, consumidas na cidade de Salvador, Ba empregou-se a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES). Na avaliação dos constituntes inorgânicos após o tempo de consumo em geladeira as amostras foram digeridas em forno de micro-ondas com cavidade com 7,0 mL de HNO<sub>3</sub> 50 % vv<sup>-1</sup>e 1,0 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Foi possível perceber para todas as embalagens, ou seja, vidro, caixa e lata um aumento no teor de Cr, Ni, Fe e Sn durante os 30 dias de consumo em geladeira. Para a avaliação do estanho com o tempo de prateleira, o mesmo tratamento de amostra foi empregado. As condições experimentais do ICP OES foram avaliadas. O sinal analítico do estanho não foi afetado com o uso de Cs ou La como supressor de ionização nem com o uso de Y, Ga, In e Sc como padrões internos. A linha de emissão 283,998 nm foi a empregada para a determinação de Sn pois esta se mostrou livre de interferentes para as condições estudadas. O teor de estanho aumentou quase 100% para uma das amostras com a vida de prateleira num período de 5 meses. Para a avaliação de Al, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, P e Zn com o tempo de prateleira ferramentas quimiométricas (PCA) foram utilizadas para distinguir entre três marcas de extrato de tomate (A, C e Q). Os resultados demonstraram que Al, Ca, Cr, Cu, Mn e Ni foram os principais elementos para a discriminação entre as amostras. Amostras de azeite de oliva enlatado e em vidro consumidas na cidade de São Carlos, São Paulo foram digeridas em forno de micro-ondas com cavidade (0,250 mg de amostra, 5,0 mL de HNO<sub>3</sub> e 3,0 mL de  $H_2O_2$ ). Estanho foi determinado por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite usando Pd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> como modificador químico, corretor Zeemam, e tubo de grafite pirolítico nas temperaturas de 1200 e 2500°C, pirólise e atomização respectivamente. Das sete amostras analisadas, foi possível quantificar Sn em apenas duas amostras enlatadas ( $6,16 \pm 0,15$  e  $11,18 \pm$ 1,03 µg g<sup>-1</sup>). Para as amostras de doces em calda consumidas na cidade do Porto, Portugal foi determinado estanho nas caldas por análise de inejção seguencial (SIA) com detecção fluorimétrica sem tratamento prévio da amostra. As amostras foram diluídas em solução de cloreto de cetil tetra amonio (CPYC) 10-3 mol L-1 em HCI 0,05 mol L<sup>-1</sup> e o estanho foi determinado através da formação do complexo fluorimétrico com o ácido 8- hidroxiquinolina- sulfônico (8-HSQA) com máximos de excitação e emissão 324 e 510 nm respectivamente. Parâmetros químicos da reação e parâmetros físicos do sistema SIA foram otimizados. O teor de estanho nas amostras de caldas de doces de frutas variou de  $25.7 \pm 0.6$  a  $269.8 \pm 2.5$  mg L<sup>-1</sup>.

#### ABSTRACT

The canned foods have great importance on the national scene as the world stage because of the convenient consumition. The determination of inorganic constituents in this type of food is important, because there is growing public concern and the scientific community to be aware of what is ingested and also, it is also important to evaluate the possible contamination of food by existing components in the formation of the can. In this study we investigated spectrometric techniques for the determination of inorganic constituents in different processed foods. For samples of tomato sauce, eaten in the city of Salvador, Bahia hired to Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (ICP OES).In the evaluation of inorganic constituents in time of consumption in the refrigerator, the samples were digested in a microwave cavity with 7.0 mL 50% HNO<sub>3</sub> vv<sup>-1</sup> and 1.0 mL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. It was possible to see in all packaging, glass, can and box increase in the content of Cr, Ni, Fe and Sn during the 30 days of consumption in the refrigerator. For the evaluation of the tin with the time of shelf, the same treatment sample was employed. The experimental conditions were analyzed by ICP OES. The analytical signal of tin wasn't affected by the use of Cs or La as ionization suppresser or through the use of Y, Ga, In and Sc as internal standards. The emission line 283.998 nm was used for the determination of Sn because this seems free of interference for the conditions studied. The tin content increased almost 100% for samples with a shelf life over a period of five months. For the evaluation of AI, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, Zn and P with the time of shelf chemometric tools (PCA were used to distinguish between three brands of sauce tomato (A, C and Q). The results showed that AI, Ca, Cr, Cu, Mn and Ni were the main elements for the discrimination between samples. The samples of olive oil and in canned and in glass were consumed in Sao Carlos, Sao Paulo were digested in microwave oven (0.250 mg of sample, 5.0 mL HNO<sub>3</sub> and 3.0 mL of  $H_2O_2$ ). Tin was determined by graphite furnace atomic absorption spectrometry using  $Pd(NO_3)_2$  as chemical modifier, broker Zeeman, and pyrolytic graphite tube at temperatures of 1200 and 2500 °C, pyrolysis and atomization respectively. Of the seven samples analyzed, it could be quantified only in two samples of canned (6.16  $\pm$  0.15 and 11.18  $\pm$  1.03 g g<sup>-1</sup>). For samples juices of canned fruits consumed in the city of Oporto, Portugal tin was determined by sequential injection analysis (SIA) with fluorimetric detection without prior sample treatment. The samples were diluted in a solution of ammonium chloride, cetyl tetra (CPYC) 10<sup>-3</sup> mol L-1 HCl in HCl 0.05 mol L<sup>-1</sup> and tin forms a complex with fluorimetric 8 - hydroxyquinoline-sulfonic acid (8 - HSQA) with maximum excitation and emission 324 and 510 nm respectively. Chemical parameters of reaction and physical parameters of the SIA system were optimized. The tin content in the samples ranged from  $25.7 \pm 0.6$ to  $269.8 \pm 2.5 \text{ mg L}^{-1}$ .

### ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Programa de aquecimento para o procedimento de digestão assistida
por micro-ondas em forno com cavidade Ethos EZ e ácido nítrico concentrado
(65% m/m)16
Tabela 2. Condições experimentais utilizadas no ICP OES com configuração
axial17
Tabela 3. Avaliação da sensibilidade para determinação de Sn para os sistemas
de introdução de amostras empregados na determinação de estanho por ICP
OES20
Tabela 4. Avaliação de In, Sc, Y e Ga como padrões internos para a determinação
de Sn por ICP OES26
Tabela 5. Limites de detecção e quantificação de Sn, em µg g⁻¹, para todas as
linhas de emissão estudadas32
Tabela 6. Estimativa do limite de quantificação para a metodologia proposta:
emprego do forno de micro-ondas e ICP OES33
Tabela 7. Comparação dos valores certificados SRM NIST 1570a com a
metodologia proposta34
Tabela 8. Teor de estanho em 3 amostras de extrato de tomate enlatado com o
tempo de estocagem para todas as linhas estudadas. (média ± desvio, n=5) (μgg <sup>-</sup>
<sup>1</sup> )36
Tabela 9. Avaliação do teor de estanho em amostras de extrato de tomate em
diferentes embalagens38
Tabela 10. Avaliação do teor de constituintes inorgânicos em extrato de tomate
consumidos em diferentes embalagens com o tempo de estocagem sob
refrigeração após abertura para consumo. Amostra P. (média ± desvio, n=3, mg
Kg <sup>-1</sup> )40
Tabela 11. Avaliação do teor de constituintes inorgânicos em extrato de tomate
consumidos em diferentes embalagens com o tempo de estocagem sob
refrigeração após abertura para consumo. Amostra A. (média ± desvio, n=3, mg
Kg <sup>-1</sup> )41
Tabela 12. Peso das variáveis na diferenciação entre as amostras de extrato de
tomate de diferentes fornecedores56
Tabela 13. Peso das variáveis na diferenciação entre as amostras de extrato de
tomate de diferentes fornecedores58

Tabela 14. Peso das variáveis na diferenciação entre as amostras de extrato de
tomate de da marca A para seis meses de estocagem59
Tabela 15. Peso das variáveis na diferenciação entre as amostras de extrato de
tomate do fornecedor A para seis meses de estocagem62
Tabela 16. Peso das variáveis na diferenciação entre as amostras de extrato de
tomate da fornecedor Q para seis meses de estocagem64
Tabela 17. Peso das variáveis na diferenciação entre as amostras de extrato de
tomate de da marca Q para seis meses de estocagem66
Tabela 18. Programa de aquecimento para o procedimento de digestão assistida
por micro-ondas em forno com cavidade Ethos EZ79
Tabela 19. Condições operacionais do GFAAS para a determinação de Sn81
Tabela 20. Programa de aquecimento do GFAAS para a determinação de Sn $\_$ 81
Tabela 21. Avaliação do uso de diversos modificadores químicos sobre o sinal
do estanho85
Tabela 22. Teste de adição e recuperação em amostras de azeite de oliva
enlatado87
Tabela 23. Teor de estanho total em amostras de azeite de oliva consumidas na
cidade de São Carlos, São Paulo, Brasil após digestão ácida assistda por
radiação micro – ondas90
Tabela 24. Procedimento em fluxo para a determinação de Sn em líquidos de
conserva de frutas em calda enlatadas105
Tabela 25. Condições Operacionais para a determinação de Sn por GF AAS _106
Tabela 26. Parâmetros químicos estudados para a reação entre o Sn e a 8-HSQA
em SIA. (Faixa e melhores condições)111
Tabela 27. Parâmetros físicos estudados para a reação entre o Sn e a 8-HSQA
em SIA. (Faixa e melhores condições)112
Tabela 28. Resultados da análise da concentração de Sn para amostras de
líquidos de conserva de doces de frutas em calda114
Tabela 29. Estudo de adição e recuperação de Sn para amostras de líquidos de
conserva de doces de frutas em calda115

# ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Disposição das camadas na folha de flandres (CSN, 2002)[]	_3
Figura 2. Efeito da concentração de ferro sobre o sinal do estanho. (Sn 242,950	e
Fe 242,939 nm.)	23
Figura 3. Efeito da concentração do alumínio sobre o sinal do estanho. (S	Sn
226,893 e Al 226,910 nm.)2	23
Figura 4. Efeito da concentração do ferro sobre o sinal do estanho. (Sn 235,4	B5
nm, Fe 235,489 nm)	24
Figura 5 Efeito da concentração do cromo sobre o sinal do estanho. (Sn 283,9	98
nm, Cr 284,001 nm)2	24
Figura 6. Curvas analítcas para o estanho em HCI 2,0 mol L <sup>-1</sup> para duas faixas o	de
concentração (a) μgL <sup>-1</sup> e (b) mgL <sup>-1</sup>	30
Figura 7. Variação do teor de constituintes inorgânicos em extrato de toma	te
consumido em embalagens de vidro com o tempo de estocagem so	b
refrigeração após abertura para consumo. Amostra K. (mg Kg <sup>-1</sup> )4	12
Figura 8. Variação do teor de constituintes inorgânicos em extrato de toma	te
enlatado com o tempo de estocagem sob refrigeração após abertura pa	ra
consumo. Amostra K. (mg Kg <sup>-1</sup> )	12
Figura 9. Variação do teor de constituintes inorgânicos em extrato de toma	te
enlatado com o tempo de estocagem sob refrigeração após abertura pa	ra
consumo. Amostra T. (mg Kg <sup>-1</sup> ) ،	43
Figura 10. Variação do teor de constituintes inorgânicos em extrato de toma	te
em embalagem caixa com o tempo de estocagem sob refrigeração após abertu	ra
para consumo. Amostra T. (mg Kg <sup>-1</sup> )4	14
Figura 11. Variação do teor de constituintes inorgânicos em extrato de toma	te
em embalagem de vidro com o tempo de estocagem sob refrigeração apo	όs
abertura para consumo. Amostra T. (mg Kg <sup>-1</sup> )4	44
Figura 12. Variação do teor de constituintes inorgânicos em extrato de toma	te
em embalagem com o tempo de estocagem sob refrigeração após abertura pa	ra
consumo. Amostra G. (mg Kg <sup>-1</sup> )	45
Figura 13. Variação do teor de constituintes inorgânicos em extrato de toma	te
enlatado com o tempo de estocagem sob refrigeração após abertura pa	ra
consumo. Amostra G. (mg Kg <sup>-1</sup> )	46

Figura 14. Variação do teor de constituintes inorgânicos em extrato de tomate
em embalagem de vidro com o tempo de estocagem sob refrigeração após
abertura para consumo. Amostra G. (mg Kg <sup>-1</sup> )46
Figura 15. Avaliação da concentração de Fe (mg Kg <sup>-1</sup> ) em extrato de tomate
(amostra T) em diferentes embalagens com o tempo de estocagem sob
refrigeração após abertura para consumo durante 30 dias 47
Figura 16. Avaliação da concentração de Fe (mg Kg <sup>-1</sup> ) em extrato de tomate
(amostra K) em diferentes embalagens com o tempo de estocagem sob
refrigeração após abertura para consumo durante 30 dias48
Figura 17. Avaliação da concentração de Fe (mg Kg <sup>-1</sup> ) em extrato de tomate
(amostra G) em diferentes embalagens com o tempo de estocagem sob
refrigeração após abertura para consumo durante 30 dias48
Figura 18. Avaliação da concentração de Fe (mg Kg <sup>-1</sup> ) para todas as 6 amostras
de extrato de tomate enlatadas durante 30 dias de estocagem 49
Figura 19. Gráficos de PC1 versus PC2, (a) scores e (b) loadings para amostras
de extrato de tomate enlatados dos três diferentes fornecedores com todas as
variáveis55
Figura 20. Gráficos de PC1 versus PC2, (a) scores e (b) loadings para amostras
de extrato de tomate enlatados dos três diferentes fornecedores usando as
variáveis que obtiveram os maiores pesos58
Figura 21. Gráficos de PC1 versus PC2, (a) scores e (b) loadings para amostras
de extrato de tomate enlatados do fornecedor A60
Figura 22. Gráficos de PC1 versus PC2, (a) scores e (b) loadings para amostras
de extrato de tomate enlatados do fornecedor A63
Figura 23. Gráficos de PC1 versus PC2, (a) scores e (b) loadings para amostras
de extrato de tomate enlatados do fornecedor Q65
Figura 24. Gráficos de PC1 versus PC2, (a) scores e (b) loadings para amostras
de extrato de tomate enlatados do fornecedor C67
Figura 25. Curva de pirólise e atomização para uma solução 70 $\mu$ g L <sup>-1</sup> de Sn em
$HNO_3 0,1\% vv^{-1}$ empregando Pd como modificador químico83
Figura 26. Curva de pirólise e atomização para uma solução 70 $\mu$ g L <sup>-1</sup> de Sn em
$HNO_3 0,1\% v v^{-1}$ sem modificador químico84
Figura 27. Curva analítica de calibração para estanho em $HNO_3$ 1,0 v v <sup>-1</sup> 87

#### LISTA DE ABREVIATURAS

8 HSQA	8-Hydroxy Quinoline 5-Sulphonic Acid. Ácido 8-hidroxiquinolina- 5-sulfónico
AAS	Atomic Absorption Spectrometry (Espectrometria de absorção atômica)
CCD	Charged Coupling Device. Dispositivo de carga acoplada
СМС	Critical micelle concentration. Concentração micelar crítica
СТАВ	<i>Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide.</i> Brometo de cetil tetra amômio
CPYC	Cetylpyridinium chloride. Cloreto de cetilpiridínio
DMSO	Dimethyl Sulfoxide. Dimetil Sulfóxido
ET AAS	<i>Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry</i> (Espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica)
F AAS	Flame Atomic Absorption Spectrometry (Espectrometria de absorção atômica com chama)
FIA	Flow Injection Analysis. Análise por injeção em fluxo
HCA	<i>Hierarchical Cluster Analysis</i> . Análise de grupamento hierárquico
ICP OES	Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado).

- PCA Principal Components Analysis. Análise de componente principal
- PEBD Polietileno de baixa densidade
- SIA System Injection Analysis. Análise por injeção em fluxo

# SUMÁRIO

Capítulo I1
1.0 JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS DO TRABALHO2
1.1 JUSTIFICATIVA2
1.1 OBJETIVOS DO TRABALHO6
1.1.1 OBJETIVO GERAL6
1.1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS6
Capítulo II7
2.0 Emprego da técnica ICP OES na determinação de constituintes inorgânicos em amostras de extrato de tomate8
2.1 Extrato de tomate8
2.2 Estratégias para a determinação de constituintes inorgânicos em alimentos enlatados por ICP OES11
2.3 Parte Experimental13
2.3.1 Reagentes e Soluções13
2.3.2 Amostras e materiais de referência certificados14
2.3.3 Instrumentação14
2.3.3.1 Pré-tratamento das amostras14
2.3.3.2 Preparo das amostras em sistemas com aquecimento condutivo15
2.3.3.3 Preparo das amostras em sistemas assistidos por radiação micro-ondas 15
2.3.3.5 Determinação dos analitos16
2.4 Apresentação e Discussão dos Resultados18
2.4.1 Avaliação das condições operacionais do ICP OES para a determinação de estanho em amostras de extrato de tomate18
(A) Avaliação do sistema de introdução da amostra18
(B) Escolha das linhas espectrais para determinação de estanho por ICP OES
(C) Avaliação do uso do padrão interno e tampão de ionização25

2.4.2 Características Analíticas para o emprego do ICP OES
2.4.3 Avaliação do teor de estanho em amostras de extrato de tomate em diferentes embalagens e com o tempo de estocagem
2.4.4 Determinação da composição mineral de extrato de tomate em diferentes embalagens, após aberto sob refrigeração39
2.4.5 UTILIZAÇÃO DE FERRAMENTAS QUIMIOMÉTRICAS PARA AVALIAÇÃO DOS CONSTITUINTES INORGÂNICOS DURANTE 6 MESES DE ESTOCAGEM50
2.4.5.1 PCA considerando todos os analitos53
Capítulo III70
3.0 Determinação de Sn em azeite de oliva por Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite71
3.1 Azeite de Oliva71
3.2 Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite
3.3 Estratégias para o tratamento de amostras oleosas por GF AAS74
3.4 Estratégias para a determinação de estanho por GF AAS75
3.5 Parte Experimental77
3.5.1 Equipamentos77
3.5.2 Reagentes e amostras78
3.5.3 Digestão das amostras em sistemas assistidos por radiação micro-ondas78
3.5.4 Determinação de estanho total80
3.6 Apresentação e Discussão dos Resultados para GF AAS82
3.6.1 Programa de Aquecimento: Curvas de Temperatura de Pirólise e Atomização para Sn82
3.6.2 Características Analíticas85
3.7 Determinação do teor de estanho em amostras de azeite de oliva
3.7.1 Procedimento de preparo de amostra: emulsão e micro emulsão88
3.7.2 Procedimento de preparo de amostra: digestão ácida em forno de micro- ondas com cavidade
3.8. Considerações Finais90

Capítulo IV92
4.0 Determinação de Sn em calda de doces de frutas enlatadas por fluorimetria93
4.1 Análise por Injeção Sequencial93
4.2 Métodos espectrofotométricos e fluorimétricos para determinação de Estanho94
4.3 Parte Experimental102
4.3.1 Reagentes102
4.3.2 Amostras
4.3.3 Instrumentos
4.4 Procedimento de injeção seqüencial104
4.5 Método de Comparação105
4.6 Resultados e discussão107
4.6.1 Otimização dos parâmetros químicos108
4.6.2 Otimização dos parâmetros físicos110
4.6.3 Características Analíticas112
4.7 Aplicação113
4.8 Considerações finais115
5.0 Conclusões
6.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS118

Capítulo S

# Justificativa e Objetivos

Elane Santos da Boa Morte

#### **1.0 JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS DO TRABALHO**

#### 1.1 JUSTIFICATIVA

A avaliação e o controle da concentração de nutrientes e contaminantes em alimentos têm sido de grande interesse da comunidade científica e entidades governamentais. Tal fato se deve a necessidade de conhecimento e controle dos efeitos causados à natureza, em conseqüência da presença do homem e sua incapacidade de interagir neste meio sem causar danos. Os elementos químicos que participam do metabolismo dos organismos vivos devem ser monitorados, mesmo que estejam presentes em baixas concentrações, devido à necessidade do controle da ingestão diária dos elementos essenciais ou não, e sua correlação com a saúde destes organismos.

Os alimentos enlatados apresentam demanda crescente de consumo na alimentação da população mundial devido a sua praticidade. É cada vez mais comum as pessoas recorrerem às facilidades dos alimentos congelados, enlatados e semiprocessados. Esses alimentos são embalados a vácuo ou atmosfera modificada, processo de embalagem cujo ar do interior é substituído por outros gases que garantem maior tempo de vida para certos alimentos. No processo de envasilhamento, estes alimentos passam por um processo controlado de cozimento que mantém ao máximo os nutrientes dos alimentos.

As embalagens metálicas garantem a integridade do produto em seu interior, facilitam a distribuição, armazenamento e manuseio, como também, resistem a choques, quedas e ao empilhamento já que são fabricadas dentro de altíssimos padrões de tecnologia. A lata de aço, produto metálico muito utilizado para embalar os mais diversos tipos de alimentos, é revestida por estanho, que impede a passagem de luz e ar. A folha de flandres, nome dado ao produto laminado plano constituído por aço de baixo teor de carbono, revestido em ambas as faces com estanho comercialmente puro por eletrodeposição impede a passagem de luz e ar (a luz prejudica os alimentos em embalagens transparentes, porque permitem a penetração do oxigênio atmosférico, causando oxidação, um dos principais fatores envolvido na deterioração das gorduras dos alimentos), e também é protegida por uma membrana elástica, que

evita o contato do alimento com o metal. Após a camada de estanho é comum a utilização de vernizes internos nestas latas que servem para evitar a oxidação atmosférica [1] e o contato direto do metal com o produto (Figura 1). Atualmente, as latas são revestidas por vernizes elásticos protetores que resistem a deformações. Os vernizes mais utilizados nas embalagens metálicas são os da classe epóxi-fenólica, isso porque além da excelente barreira física têm um custo competitivo.



Figura 1. Disposição das camadas na folha de flandres (CSN, 2002)[2]

O consumo de alimentos enlatados que utilizam as chamadas folhas de flandres correspondem a 76% no ano de 2008 [3]. A contaminação dos alimentos pode ocorrer em qualquer estágio da sua fabricação, tanto na produção de matérias-primas quanto no produto final, ou até mesmo, no caso de enlatados, após o seu acondicionamento. No caso de alguns contaminantes inorgânicos como estanho, cromo e níquel, por exemplo, a contaminação pode vir de fontes naturais, poluição ambiental, pesticidas e/ou das embalagens de enlatados que contenham esses constituintes em sua composição. Como resultado do uso do estanho recobrindo o aço em embalagem para

alimentos e bebidas, quantidades de estanho poderá se dissolver nos alimentos, particularmente quando superfícies internas não revestidas são utilizadas [4]. No entanto, a questão ainda é saber se há indícios de que esses altos níveis de estanho nos alimentos, de alguma forma, constituem um risco para a saúde humana. A legislação, através da Portaria SVS/MS nº 685 de 27 de agosto de 1998 (ANVISA, 1998), [5] estabelece que o máximo permitido de estanho é de 150 mg Kg<sup>-1</sup> no caso de sucos de frutas cítricas (enlatados). A referida portaria estabeleceu limites para algumas classes de alimentos e reduziu alguns dos limites anteriormente definidos pelo Decreto Lei 55871 de 26/03/1965 com o objetivo de igualar os limites máximos permitidos de contaminantes inorgânicos em produtos comercializados entre os países membros do MERCOSUL. Desta forma, o limite máximo de 250 mg Kg<sup>-1</sup> de estanho foi estabelecido para qualquer alimento.

Os efeitos destes contaminantes podem aparecer em longo prazo (crônicos), como os produtos carcinogênicos ou em curto prazo (agudos), como os produzidos por alimentos alergênicos. Nos últimos tempos, os perigos químicos despertaram maior atenção dos consumidores pelos seus efeitos, ainda não totalmente conhecidos e por, habitualmente, acarretarem conseqüências, em longo prazo. O conhecimento da composição química em termos das concentrações de macro e micro nutrientes e também de contaminantes inorgânicos nos alimentos é importante sob o ponto de vista nutricional e da saúde, especialmente quanto à contaminação por metais não essenciais.

Este trabalho está dividido em quatro capítulos sendo que em três dele serão abordados a avaliação de alguns micro-nutrientes em três diferentes alimentos. O capítulo 2 aborda a avaliação de alguns micro-nutrientes em amostras de extrato de tomate consumidas em três diferentes embalagens (lata, vidro e caixa) após aberta e consumida em geladeira, a avaliação de estanho em amostras enlatadas com o tempo de prateleira (seis meses) e a avaliação de elementos macro e micro em extrato de tomate enlatados com o tempo de prateleira por análise de componentes principais. Para todos esses estudos os analitos foram quantificados por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES). O capítulo 3 aborda a determinação de estanho em amostras de azeite de oliva enlatados e em embalagens de vidro por espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica e por

fim, o capítulo 4 trata da determinação de estanho em amostras de doces de frutas em calda por análise de injeção seqüencial com detecção fluorimétrica.

#### 1.1 OBJETIVOS DO TRABALHO

#### **1.1.1 OBJETIVO GERAL**

Avaliar estratégias analíticas para determinar o teor de constituintes inorgânicos, com destaque para estanho, em amostras de alimentos industrializados, por diferentes técnicas espectrométricas.

#### **1.1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

• Propor estratégias analíticas para determinação de estanho e outros constituintes inorgânicos em alimentos industrializados, comercializados em diferentes tipos de embalagem.

• Avaliar o emprego da técnica ICP OES para a determinação de Sn e outros constituintes inorgânicos em amostras de extrato de tomate em diferentes tipos de embalagens com o tempo de estocagem em geladeira e para determinação de estanho em extrato de tomate enlatado com o tempo de estocagem, comercializadas na cidade de Salvador, Bahia, Brasil.

 Avaliar o emprego da técnica GF AAS para a determinação de estanho em amostras de azeite de oliva enlatadas consumidas na cidade de São Carlos, São Paulo, Brasil.

• Propor um sistema de análise por injeção seqüencial (SIA) para a determinação fluorimétrica de Sn, empregando o reagente ácido 8-hidroxiquinolina-5-sulfônico (8-HQSA) em amostras de doces enlatados em conserva sem tratamento prévio, consumidos na cidade do Porto, Portugal.

Capítulo 99

# Emprego da técnica ICP OES na determinação de constituintes inorgânicos em amostras de extrato de tomate

# 2.0 Emprego da técnica ICP OES na determinação de constituintes inorgânicos em amostras de extrato de tomate

Nesta etapa do trabalho será abordado o emprego da técnica ICP OES para a determinação de constituintes inorgânicos em amostras de extrato de tomate. Primeiramente, serão abordados alguns aspectos gerais sobre a técnica ICP OES como características e aplicações para a determinação de constuintes inorgânicos em alimentos industrializados. Em seguida, será discutida a otimização das condições operacionais da técnica para a determinação dos constituintes com destaque para o estanho, a aplicação da metodologia para as amostras em questão e o uso de ferramentas quimiométricas para avaliação do teor dos constituintes com o tempo de armazenamento das amostras em embalagens enlatadas.

#### 2.1 Extrato de tomate

A resolução CNNPA nº 12 de 1978, [6] define extrato de tomate como produto resultante da polpa de frutos maduros e sãos do tomateiro *Solanum lycoperaicum* por processo tecnológico adequado. O produto é designado por "extrato de tomate", podendo também ser denominado "massa de tomate" ou "concentrado de tomate". O extrato de tomate deve ser preparado com frutos maduros, escolhidos, sãos, sem pele e sementes. É tolerada a adição de 1,0 % mm<sup>-1</sup> de açúcar e de 5,0 % mm<sup>-1</sup> de cloreto de sódio. O produto deve estar isento de fermentações e não indicar processamento defeituoso. Suas características sensoriais são: massa mole; cor vermelha; cheiro e sabor próprios. De acordo com a mesma resolução, após 14 dias de incubação a 35°C, não se deve observar sinais de alterações das embalagens (estufamentos, alterações, vazamentos, corrosões internas bem como, quaisquer modificações de natureza física, química ou sensorial do produto).

O extrato de tomate é um produto classificado como ácido por apresentar pH inferior a 4,3 e, portanto, de relativa agressividade ao material de embalagem. A acidez nos produtos derivados de tomate é devido ao ácido cítrico livre e aos citratos presentes no tomate [7].

Nos produtos à base de tomate, um dos principais parâmetros de qualidade é a cor. Com as alterações de cor ocorrem ainda alterações de odor e sabor do produto, deteriorando suas características iniciais. O escurecimento do produto de vermelho para marrom é atribuído à formação de compostos poliméricos insaturados de várias composições, ocorrendo geralmente, através da reação de Maillard. Esta reação é função, principalmente, da temperatura de estocagem, pH e atividade de água do produto [8]. Por outro lado, os carotenóides perdem cor, passando do vermelho para o incolor, devido às reações oxidativas dependentes da temperatura de estocagem, disponibilidade de oxigênio, exposição à luz, atividade de água e acidez do produto.

Dependente do tipo do material e das características de hermeticidade do sistema de embalagem utilizado no acondicionamento do extrato de tomate, associado às condições de distribuição e estocagem do produto, em especial, sob condições de temperatura adversas, poderá ser desencadeada uma maior ou menor alteração das características iniciais do produto. Em geral, os extratos de tomate exigem um material de embalagem que ofereça boa proteção contra a oxidação, contra a perda de umidade e a contaminação microbiológica. As embalagens devem evitar as alterações das características sensoriais do produto, além de satisfazer as necessidades de marketing, custo, disponibilidade entre outras.

Os produtos industrializados derivados de tomate são tradicionalmente comercializados no Brasil, tendo atingido cerca de 56 mil toneladas em 2009. Ligado ao conceito de conveniência, os extratos de tomate vem se destacando no mercado nacional com 20% desta participação, podendo ser encontrados em diversos embalagens como metálicas (66%), vidro (6%) e cartonada (28%) [3].

O elevado percentual (66%) dos produtos atomatados acondicionados em embalagens metálicas, se deve pelo fato desta embalagem oferecer vantagens como: resistência mecânica (ao empilhamento, transporte e impacto) e térmica, impermeabilidade (proteção à luz e oxigênio), ser 100% reciclável e também degradável (retorna ao meio ambiente na forma de minério de ferro em cinco anos), alta produtividade e baixo investimento na linha de produção. Verifica-se, entretanto, que o material metálico é vulnerável à corrosão dependendo das suas características e das condições de estocagem, devido à presença do ácido cítrico e nitratos presentes no extrato de tomate. Estas substâncias atuam como aceleradores de corrosão do

estanho e do ferro da folha-de-flandres e da folha cromada, materiais usualmente empregados na fabricação das embalagens metálicas [9]

Para a minimização das reações de interação entre o material metálico e o produto, as embalagens metálicas são revestidas internamente por um verniz orgânico, compatível com o tipo de produto a ser acondicionado. O revestimento orgânico aplicado deverá assim, impedir qualquer ocorrência de reações de interação entre o material metálico e o produto,que poderão provocar alterações sensoriais e redução de sua vida útil. Esta proteção, conferida pelo verniz, nem sempre é efetiva uma vez que o revestimento orgânico poderá apresentar porosidade e permitir uma maior interação na interface produto/material metálico. No processo de fabricação da lata os vernizes são mais exigidos que nos amassamentos ocorrentes desde o transporte até o consumidor final. Atualmente, as latas são revestidas por vernizes protetores elásticos que resistem a deformações. Na fixação da tampa, por exemplo, o produto sofre uma deformação de 180°, sem que isso comprometa a sua integridade [10].

As embalagens de vidro são também utilizadas no acondicionamento de produtos de tomate, especialmente, em copos de vidro, que apresentam como aspectos positivos a sua transparência, permitindo a visualização do produto pelo consumidor, sua diversidade de formatos e tamanhos, com grande apelo visual e, ainda, a sua possível reutilização. Estas garantem uma baixa permeabilidade a gases e ao vapor de água, desde que utilizados sistemas de fechamento adequados. Para o extrato de tomate em vidro são utilizados sistemas de fechamento de fácil abertura, agregando valor e conveniência ao produto.

A embalagem cartonada (caixa) é outra forma de comercialização dos produtos derivados de tomate. É geralmente constituída por um laminado que apresenta, do exterior para o interior, a seguinte estrutura: PEBD/cartão duplex/PEBD/folha de alumínio/poliolefinas. O PEBD - Polietileno de Baixa Densidade externo é responsável pela proteção à impressão (feita no cartão) e pela termossoldagem e fixação das abas. O cartão, normalmente de celulose de fibra longa, além de possibilitar a impressão, é o responsável pela rigidez e resistência mecânica da embalagem. O PEBD intermediário promove a adesão entre o cartão e o alumínio. A folha de alumínio é a principal responsável pelas características de barreira a gases, vapores orgânicos e à luz, enquanto as camadas de poliolefinas internas promovem a termossoldagem e a

resistência a líquidos. Normalmente, a poliolefina interna é composta por duas camadas como PEBD/PEBD ou uma poliolefina modificada/ PEBD sendo que a opção adotada depende das características do produto. Para produtos relativamente ácidos, como os derivados de tomate, a opção é usar a poliolefina modificada para proteger o alumínio de compostos agressivos presentes no produto. É uma embalagem de menor custo e menor peso, uma vez que anteriormente ao uso é transportada em bobinas.Pelo fato das embalagens cartonadas não possuírem um sistema de refechamento, sua praticidade encontra-se no consumo do produto de uma única vez, ideal para o uso culinário [9].

## 2.2 Estratégias para a determinação de constituintes inorgânicos em alimentos enlatados por ICP OES

A Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma de Argônio Indutivamente Acoplado (ICP OES) é uma poderosa técnica de análise. O plasma é fonte de alta temperatura que minimiza efeitos de matriz e produz sensibilidade adequada à maioria dos metais e alguns não-metais, em diversas ordens de grandeza de concentração (de µg L<sup>-1</sup> a %) e é amplamente utilizado em análises de matrizes complexas como é o caso dos alimentos [11,12] sendo aplicável à análise de sólidos, líquidos e gases. A técnica ICP OES oferece como características: elevada sensibilidade, amplo intervalo linear dinâmico, análise multielementar simultânea, rapidez, ampla faixa dinâmica linear, elevadas precisão e exatidão e baixos limites de detecção.

A técnica da ICP OES tem sua aplicabilidade nos mais diversos campos da análise química, para as mais diversas amostras. Em relação à configuração radial, o plasma orientado horizontalmente (axial) apresenta maior sensibilidade e menores limites de detecção. Com estas vantagens, a vista axial tem sido preferencialmente escolhida para análise de elementos ultra-traço e para elementos de baixa sensibilidade. O sucesso da espectrometria atômica depende, freqüentemente, do procedimento de introdução da amostra, sendo que o modo mais comum baseia-se na formação de um aerossol líquido, por meio de nebulizadores pneumáticos. Para tanto, as amostras devem estar na sua forma líquida, ou, dependendo do tipo do nebulizador, a introdução pode ser feita com o uso de suspensões. O pré-tratamento das amostras de alimentos anteriormente a quantificação por técnicas espectroanalíticas geralmente é realizado através da mineralização com ácidos inorgânicos empregando aquecimento condutivo ou aquecimento por microondas. 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 [13].

A determinação de estanho em alimentos enlatados ocorre na maioria das vezes por espectrofotometria molecular [14] ou espectrofluorimetria [15]devido a sua simplicidade, praticidade e, no caso da fluorescência baixos limites de detecção. Para as técnicas espectrométricas, limitações como baixa sensibilidade são fatores que contribuem para a sua pouca aplicabilidade. Porém a encontra-se na literatura trabalhos que relatam o uso da FAAS para a determinação de estanho em amostras de extrato de tomate [16, 17, 18], sopas de tomate, sucos [19, 20] e da ET AAS para alimentos marinhos [21]. A seguir estão mostrados alguns trabalhos empregando a ICP OES para a determinação de estanho em alimentos.

Allen *et al* [22] estudaram procedimentos de decomposição por via úmida para a determinação de As, Cd, Cu, Pb e Sn em amostras de adoçante e milho em calda. As amostras foram digeridas em placa de aquecimento e em forno de micro-ondas com cavidade, sendo que ambos os procedimentos utilizaram ácido nítrico e peróxido de hidrogênio e os analitos foram quantificados por ICP OES. Arsênio e estanho não foram determinados após digestão em placa de aquecimento, pois os teores estavam abaixo do limite de detecção do método, muito provavelmente devido a perda destes analitos. A digestão com forno de micro-ondas mostrou melhores resultados para todos os elementos estudados e estes resultados foram validados com estudo de adição e recuperação.

A determinação de estanho por ICP OES é dificultada devido a baixa sensibilidade. Assim, Perring *et al* [23] fizeram um estudo detalhado sobre as melhores condições experimentais para a determinação de estanho total em amostras de alimentos enlatados. As amostras foram digeridas com HNO<sub>3</sub>, HCI e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em forno de micro-ondas. A determinação de estanho foi feita com ICP OES com configuração axial com câmera de nebulização ciclônica e com césio como supressor de ionização. Índio e estrôncio foram avaliados como padrão interno. Duas faixas de concentração

foram estudadas para as três linhas mais sensíveis para estanho. Todas as faixas, para todas as linhas, forneceram uma boa correlação linear. Para a faixa de 0 a 200  $\mu$ g L<sup>-1</sup>, as linhas de emissão 189,927 e 283,998 nm deram sensibilidade similar e maior que a 235,485 nm. Para a faixa de 0 a 10 mg L<sup>-1</sup>, a ordem de sensibilidade foi: 189,927 > 283,998 > 235,485 nm. O estudo de interferentes mostrou o mesmo resultado, com ou sem o uso de padrão interno. Para a concentração de 50 mg L<sup>-1</sup> dos possíveis elementos interferentes, a linha de emissão em 189,927 nm mostrou-se ser menos afetada do que as outras duas. Na presença de elevadas concentrações de ferro ou de titânio, as linhas de emissão 283,998 e 235,485 nm apresentam interferências e são inadequadas para quantificar estanho. Os testes de adição e recuperação deram recuperações quantitativas para todas as amostras analisadas. O método mostrou boa precisão e exatidão. Os autores concluíram que a linha de emissão 189,927 nm apresenta-se mais robusta, principalmente para baixos níveis de concentração de estanho.

#### 2.3 Parte Experimental

#### 2.3.1 Reagentes e Soluções

Foram preparadas soluções de trabalho a partir de soluções estoque contendo 1000 mg L<sup>-1</sup> Al, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, P, Sn e Zn (Merck, Alemanha), no mesmo meio dos digeridos ácidos obtidos. Na solução de trabalho a concentração de Al, Cd, Cu, Cr, Fe, Mn, Ni e Zn foi de 50,0 mg L<sup>-1</sup>. Para os macro elementos Ca, K, Mg, Na e P a concentração da solução de trabalho foi de 100 mg L<sup>-1</sup>.

Todas as soluções foram preparadas com reagentes de grau analítico e água ultrapura, com resistividade específica de 18,2 MΩ cm<sup>-1</sup>, de um sistema de purificação Milli-Q<sup>®</sup> (Millipore, Bedford, MA, USA). Foram utilizados os seguintes reagentes: ácido clorídrico (Carlo Erba, Itália), ácido nítrico (Merck, Alemanha) e peróxido de hidrogênio 30% mm<sup>-1</sup> (Merck, Alemanha).

A descontaminação de vidrarias, frascos plásticos e materiais em geral, foi realizada em banho ácido contendo  $HNO_3$  10% (v/v), por no mínimo 12 h.

Posteriormente, os materiais foram lavados abundantemente com água deionizada e enxaguados, finalmente, com água ultrapura. Quando necessário, os frascos de TFM<sup>®</sup>, utilizados no forno de micro-ondas com cavidade ETHOS EZ, foram submetidos à descontaminação rápida com ácido nítrico concentrado, empregando-se programa de aquecimento apropriado.

#### 2.3.2 Amostras e materiais de referência certificados

Foram adquiridas amostras de extrato de tomate em embalagens de vidro, caixa e lata compreendendo seis diferentes marcas. Para o estudo do tempo de estocagem para as amostras de extrato de tomate enlatados, teve-se o cuidado de adquirir 6 amostras de 3 marcas diferentes do mesmo lote, ou seja, com a mesma data e horário de fabricação. As amostras foram compradas em supermercados locais (Salvador, Bahia, Brasil). Todas as amostras foram identificadas por siglas.

Como não se encontram disponíveis no mercado materiais de referência certificados de extrato de tomate, um material de referência certificado de folhas de espinafre 1570a do NIST (*National Institute of Standards and Technology*, Gaithersburg, Maryland, USA) foi usado para avaliar a exatidão dos procedimentos analíticos propostos.

#### 2.3.3 Instrumentação

#### 2.3.3.1 Pré-tratamento das amostras

As amostras não sofreram nenhum tipo de pré-tratamento. As análises foram feitas diretamente nas amostras, para que o resultado final representasse o teor de minerais e ou contaminantes nas amostras da forma que elas são ingeridas pelo consumidor.

#### 2.3.3.2 Preparo das amostras em sistemas com aquecimento condutivo

As digestões das amostras usando sistemas condutivos abertos foram conduzidas empregando-se bloco digestor (TECNAL, São Paulo, Brasil).

As amostras de alimentos enlatados e dos materiais de referência certificados, ao longo de todo o trabalho experimental, foram pesadas com precisão de  $\pm$  0,0001g em balança analítica BL 210S SARTORIUS (Alemanha).

As soluções obtidas após digestão, para todos os procedimentos de preparo de amostra utilizados, foram transferidos para frascos de polietileno (CORNING, USA) de 50,0 ou 15,0 mL.

# 2.3.3.3 Preparo das amostras em sistemas assistidos por radiação microondas

Nos procedimentos assistidos por radiação micro-ondas foi empregado forno de micro-ondas com cavidade, modelo Ethos EZ (Milestone, Sorisole, Itália). O forno possui rotor para 10 frascos de 100 mL confeccionados em TFM<sup>®</sup> (PTFE modificado) e opera sob altas temperaturas e pressões. Esse sistema permite o acoplamento de sensores de temperatura e pressão que possibilitam o acompanhamento do sistema de digestão e promovem uma maior segurança operacional. O programa de aquecimento usando ácido nítrico 65% mm<sup>-1</sup> e peróxido de hidrogênio 30% v v<sup>-1</sup> está apresentado na Tabela 1.

Etapa	Tempo (min)	P <sub>máx</sub> (W)	T (ºC)	P (bar)
1	4	750	90	35
2	2	750	90	35
3	6	750	180	35
4	15	1000	180	35
Ventilação	10	0	-	-

Tabela 1. Programa de aquecimento para o procedimento de digestão assistida por micro-ondas em forno com cavidade Ethos EZ e ácido nítrico concentrado (65% m/m).

#### 2.3.3.5 Determinação dos analitos

Para a determinação de AI, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, P, Sn e Zn foi empregado o espectrômetro de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) simultâneo com visão axial VISTA PRO (Varian, Mulgrave, Austrália). Este instrumento é equipado com detector de estado sólido com arranjo CCD (dispositivo de carga acoplada) e opera em comprimentos de onda na faixa de 167 a 785 nm. Possui interface *end-on gas*, que com o fluxo frontal contra-corrente de gás, proteje a região pré-óptica de superaquecimento e remove a zona mais fria do plasma. O sistema óptico do ICP OES foi calibrado com solução de referência multielementar o alinhamento da tocha foi realizado com uma solução de Mn 5,0 mg L<sup>-1</sup>. As linhas espectrais foram selecionadas considerando-se as intensidades dos sinais de emissão dos analitos e do sinal de fundo, o desvio padrão das medidas, a sensibilidade adequada para a determinação dos elementos presentes em altas e baixas concentrações nas matrizes, bem como o perfil dos espectros e a possibilidade de interferências. As condições operacionais do espectrômetro de emissão óptica com plasma estão apresentadas na Tabela 2.

axial				
Potência RF (kW)	1,2			
Vazão do gás de nebulização (L min <sup>-1</sup> )	0,70			
Vazão do gás auxiliar (L min <sup>-1</sup> )	1,5			
Vazão do gás do plasma (L min <sup>-1</sup> )	15			
Tempo de integração (s)	1,0			
Tempo de estabilização (s)	15			
Tempo de leitura (min)	1			
Replicatas	3			
Nebulizador	Concêntrico/ V-	Groove		
	Ciclônica / Sturmam Master			
Câmara de Nebulização	Ciclônica / Stur	mam Master		
Câmara de Nebulização Linhas Espectrais (nm)	Ciclônica / Stur Al (II) 396,152	r <b>mam Master</b> Ca (II) 396,847	Cd (II) 226,502	
Câmara de Nebulização Linhas Espectrais (nm)	<b>Ciclônica / Stur</b> Al (II) 396,152 Co (II) 238,892	r <b>mam Master</b> Ca (II) 396,847 Cu (I) 327,398	Cd (II) 226,502 Cr (II) 267,716	
Câmara de Nebulização Linhas Espectrais (nm)	Ciclônica / Stur Al (II) 396,152 Co (II) 238,892 Fe (II) 238,203	r <b>mam Master</b> Ca (II) 396,847 Cu (I) 327,398 K (I) 766,468	Cd (II) 226,502 Cr (II) 267,716 Mg (II) 280,267	
Câmara de Nebulização Linhas Espectrais (nm)	Ciclônica / Stur Al (II) 396,152 Co (II) 238,892 Fe (II) 238,203 Mg (I) 285,209	<b>mam Master</b> Ca (II) 396,847 Cu (I) 327,398 K (I) 766,468 Mn (I) 257,611	Cd (II) 226,502 Cr (II) 267,716 Mg (II) 280,267 Na (I) 589,592	
Câmara de Nebulização Linhas Espectrais (nm)	Ciclônica / Stur Al (II) 396,152 Co (II) 238,892 Fe (II) 238,203 Mg (I) 285,209 Ni (II) 231,604	mam Master Ca (II) 396,847 Cu (I) 327,398 K (I) 766,468 Mn (I) 257,611 P (I) 177,434	Cd (II) 226,502 Cr (II) 267,716 Mg (II) 280,267 Na (I) 589,592 Zn (I) 213,858	
Câmara de Nebulização Linhas Espectrais (nm)	Ciclônica / Stur Al (II) 396,152 Co (II) 238,892 Fe (II) 238,203 Mg (I) 285,209 Ni (II) 231,604 Sn (II) 181.059	mam Master Ca (II) 396,847 Cu (I) 327,398 K (I) 766,468 Mn (I) 257,611 P (I) 177,434 Sn (II) 189.927	Cd (II) 226,502 Cr (II) 267,716 Mg (II) 280,267 Na (I) 589,592 Zn (I) 213,858 <b>Sn (I) 224.606</b>	
Câmara de Nebulização Linhas Espectrais (nm)	Ciclônica / Stur Al (II) 396,152 Co (II) 238,892 Fe (II) 238,203 Mg (I) 285,209 Ni (II) 231,604 Sn (II) 181.059 Sn (I) 226.893	mam Master Ca (II) 396,847 Cu (I) 327,398 K (I) 766,468 Mn (I) 257,611 P (I) 177,434 Sn (II) 189.927 Sn (I) 235.485	Cd (II) 226,502 Cr (II) 267,716 Mg (II) 280,267 Na (I) 589,592 Zn (I) 213,858 Sn (I) 224.606 Sn (I) 242.170	
Câmara de Nebulização Linhas Espectrais (nm)	Ciclônica / Stur Al (II) 396,152 Co (II) 238,892 Fe (II) 238,203 Mg (I) 285,209 Ni (II) 231,604 Sn (II) 181.059 Sn (I) 226.893 Sn (I) 242.950	mam Master Ca (II) 396,847 Cu (I) 327,398 K (I) 766,468 Mn (I) 257,611 P (I) 177,434 Sn (II) 189.927 Sn (I) 235.485 Sn (I) 283.998	Cd (II) 226,502 Cr (II) 267,716 Mg (II) 280,267 Na (I) 589,592 Zn (I) 213,858 <b>Sn (I) 224.606</b> <b>Sn (I) 242.170</b> Ga <sup>(a)</sup> 292.363	

Tabela 2. Condições experimentais utilizadas no ICP OES com configuração

<sup>(a)</sup> Padrão interno (1,0 mg L<sup>-1</sup>) em todos as análises no ICP OES

(I) linha de emissão atômica

(II) linha de emissão iônica
### 2.4 Apresentação e Discussão dos Resultados

# 2.4.1 Avaliação das condições operacionais do ICP OES para a determinação de estanho em amostras de extrato de tomate

A composição da matriz pode ter uma grande influência nos resultados analíticos obtidos nas determinações empregando ICP OES [24]. Os componentes da matriz podem modificar as características térmicas do plasma e a distribuição espacial das espécies emitidas. Os efeitos físicos mais importantes estão relacionados às propriedades como densidade, viscosidade, tensão superficial e volatilidade da matriz. Os efeitos de matriz causados por concomitantes podem ser identificados de acordo com as variações: no processo de nebulização; no transporte do aerossol; e na excitação da espécie química [25,26]. Em 2002, na investigação do mecanismo de interferência, foi avaliado o efeito da combinação de ácidos minerais em diversos parâmetros: razão do transporte de solvente; taxa no transporte do analito; temperatura de excitação; densidade eletrônica e razão da linha atômica [27,28]. Portanto, nas determinações empregando ICP OES, a otimização dos parâmetros de operação é necessária para se obter condições favoráveis para elementos traço a serem determinados em diferentes tipos de amostra real.

Nesta etapa do trabalho foram avaliadas algumas variáveis instrumentais e químicas, relacionados ao (A) sistema de introdução da amostra, (B) uso de tampão de ionização e (C) linhas espectrais do estanho.

#### (A) Avaliação do sistema de introdução da amostra

O sistema padrão de introdução da amostra do ICP OES com configuração axial consiste de um nebulizador concêntrico e de uma câmara de nebulização ciclônica [29]. A avaliação dos sistemas de introdução da amostra no ICP OES com visão axial foi realizada por comparação entre dois diferentes sistemas: o sistema 1 (câmara de nebulização *Sturman- Masters* e nebulizador *V-Groove*) e o sistema 2 (câmara de nebulização ciclônica e nebulizador concêntrico do tipo *SeaSpray*). Para esta

comparação utilizou-se as inclinações calculadas referente as curvas analíticas de calibração, cujas soluções foram preparadas em meio de HCI 2,0 mol L<sup>-1</sup>.

Foram obtidas maiores intensidades, e conseqüente, maior sensibilidade para o sistema 1 de introdução, o que já era esperado, porque a câmara de nebulização ciclônica possui maior eficiência de transporte quando comparada a *Sturman-Masters* [30] e, em conjunto com o nebulizador *SeaSpray*, onde são gerados aerossóis mais finos, maior efeito sobre a sensibilidade é observado. Esse efeito foi observado para todas as linhas de emissão estudadas para estanho bem como para as duas faixas de concentração (mg L<sup>-1</sup> e  $\mu$ g L<sup>-1</sup>) de acordo com a Tabela 3. A sensibilidade para o sistema 1 de introdução chegou a ser cerca de três vezes maior que para o sistema 2, mostrando assim a melhor aplicabilidade do primeiro para determinação de estanho em baixas concentrações.

		mg	L <sup>-1</sup>		μg L <sup>-1</sup> Sistema 2 Sistema 1   α (cps μg <sup>-1</sup> L) R2 α (cps μg <sup>-1</sup> L) R <sup>2</sup> 0,227 0,9937 0,086 0,9727   0,851 0,9981 0,299 0,9961   0,326 0,9901 0,147 0,9805			
	Sisten	na 2	Sistem	a 1	Siste	ema 2	Sistema 1	
Linha de	α (cps mg <sup>-1</sup> L)	R <sup>2</sup>	α (cps mg <sup>-1</sup> L)	R <sup>2</sup>	α (cps µg <sup>-1</sup> L)	R2	α (cps μg <sup>-1</sup> L)	R <sup>2</sup>
emissão								
181,059	275,7	0,9997	92,6	0,9997	0,227	0,9937	0,086	0,9727
189,927	811,0	0,9997	257,2	0,9992	0,851	0,9981	0,299	0,9961
224,606	323,6	0,9998	103,2	0,9993	0,326	0,9901	0,147	0,9805
235,485	533,7	0,9998	170,8	0,9991	0,527	0,9893	0,185	0,9962
242,170	642,2	0,9986	188,2	0,9990	0,624	0,9932	0,216	0,9661
242,950	542,9	0,9998	175,6	0,9994	0,574	0,9974	0,180	0,9703
283,998	3890,2	0,9998	1239,3	0,9993	3,97	0,9991	1,33	0,9957

Tabela 3. Avaliação da sensibilidade para determinação de Sn para os sistemas de introdução de amostras empregados na determinação de estanho por ICP OES.

#### (B) Escolha das linhas espectrais para determinação de estanho por ICP OES

Interferências espectrais resultam da inabilidade do espectrômetro em resolver a linha espectral emitida para um analito específico na presença de outros átomos ou íons. Três tipos de interferências espectrais são mais comuns: sobreposição das linhas; interferência "de asa" de pico adjacente e deslocamento da linha do sinal de fundo. Interferências como essas, em termos absolutos, independem da concentração do analito. A correção destas interferências translacionais (aditivas) depende do monocromador ou policromador.

O método de adição de analito é ineficiente para correção de interferências espectrais [36]. É então necessário selecionar as linhas considerando um conjunto de fatores. Os equipamentos mais modernos, equipados com eficiente sistema óptico (p.ex. grade *Echelle* e prisma de dispersão de CaF<sub>2</sub>), nos quais o echeloograma é obtido por um CCD (70908 pixels em 70 arranjos lineares), é cobre 96% (167 – 785 nm) da faixa espectral e são produzidos espectros bidimensionais [31]. A disponibilidade destes espectros deve também ser muito útil para se obter uma compreensão melhor de efeitos da matriz [32].

A seleção da linha de emissão para o estanho foi baseada em alguns parâmetros tais como: sensibilidade, razão sinal/ruído, perfil do espectro e possibilidade de interferência espectral. Para tanto, avaliou-se possíveis interferentes para estanho: Cr, Fe e Al uma vez que esses elementos ou possuem linhas de emissão muito próximas às linhas de emissão do estanho, ou estão presentes na matriz em concentrações que possam ocasionar alguma interferência. Esse efeito foi estudado sobre a concentração de uma solução padrão de 1,0 mg L<sup>-1</sup> de estanho com a adição dos possíveis interferentes nas concentrações de 1,0; 5,0; 10,0 e 100,0 mg L<sup>-1</sup>. As linhas de emissão 181,059, 189,927, 224,606, 242,170 nm não foram afetadas por todos os analitos em todas as concentrações estudadas. Por outro lado, em presença de altas concentrações de aluminio (100 mg L<sup>-1</sup>) a linha de emissão 226,983, sofre marcada interferência de acordo com a Figura 3. A linha de emissão do estanho 235,485 nm mostra marcada interferência da linha 235,489 nm do ferro mesmo em baixas concentrações (1,0 mg L<sup>-1</sup>) e este efeito é reforçado quando a concentração

aumenta até 100,0 mg L<sup>-1</sup>, que é a concentração média de ferro encontrada em amostras de molho de tomate enlatado. (Figura 4). Apenas alta concentração de ferro tem influência sobre a linha de estanho 242,950 nm, onde ferro emite na linha 242,939 nm (Figura 2). Na linha de emissão de estanho 283,998 nm, cromo, elemento presente na composição da lata de genêros alimentícios causa interferência somente em altas concentrações através da linha de emissão 284,001 nm (

Figura 5).

Capítulo 2



Figura 2. Efeito da concentração de ferro sobre o sinal do estanho. (Sn 242,950 e Fe 242,939 nm.)



Figura 3. Efeito da concentração do alumínio sobre o sinal do estanho. (Sn 226,893 e Al 226,910 nm.)

Capítulo 2



Figura 4. Efeito da concentração do ferro sobre o sinal do estanho. (Sn 235,485 nm, Fe 235,489 nm)





Elane Santos da Boa Morte

#### (C) Avaliação do uso do padrão interno e tampão de ionização

A espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado é uma técnica analítica bastante robusta, porém erros sistemáticos podem comprometer os resultados das análises. Esses erros podem estar associados a alterações instrumentais como problemas no transporte, nebulização e erros associados às amostras como diferenças entre os padrões e as amostras, principalmente quando associados à viscosidade [33]. O método da padronização interna baseia-se na medida da razão de um ou mais sinais analíticos (do(s) analito(s) em questão) dividido(s) por um ou mais sinais de referência de elementos previamente selecionados (padrão interno).

O objetivo principal do padrão interno é melhorar a exatidão e precisão das medidas analíticas [34]. Um padrão interno deve ser adicionado aos brancos, soluções de referências e às amostras [38]. Quando a padronização interna é usada, todos os cálculos são baseados na suposição de que tanto o analito como o padrão interno sofrem influências similares da matriz da amostra e de que ambos são perturbados igualmente pelas alterações nas condições instrumentais ou operacionais.

O padrão interno escolhido deve possuir propriedades físico-químicas semelhantes às do analito, ser solúvel nas soluções analíticas e amostras e não deve interfir na determinação do analito [34, 35]. Neste trabalho, ítrio, índio, gálio e escândio foram avaliados como padrão interno para a determinação de estanho. A resposta avaliada foi a sensibilidade expressa como a inclinação para curvas analíticas de calibração para as linhas de emissão de estanho estudadas. Os resultados mostraram que a sensibilidade para todas as linhas estudadas como para todos os padrões internos não são marcadamente diferentes para o mesmo estudo sem o uso de qualquer padrão interno (Tabela 4). Sendo assim, as medidas posteriores foram realizadas sem o uso do padrão interno.

Linha	PI	Inclinação	R	Linha	PI	Inclinação	R
(nm)		(cps mg <sup>-1</sup> L)		(nm)		(cps mg⁻¹L)	
181.059	In	228.8	0.9998	235.485	Ga	475.5	0.9999
181.059	Sc	236.8	0.9999	235.485	*	475.4	0.9994
181.059	Y	249.2	0.9999	235.485	Y	476.8	0.9998
181.059	*	248.4	0.9993	235.485	In	476.1	0.9997
181.059	Ga	248.5	0.9999	235.485	Sc	435.2	0.9999
189.927	Sc	802.1	0.9999	242.170	Y	560.7	0.9999
189.927	Ga	841.6	0.9999	242.170	Ga	559.3	0.9999
189.927	In	842.6	0.9997	242.170	Sc	533.0	0.9999
189.927	*	841.3	0.9994	242.170	In	560.0	0.9998
189.927	Y	843.8	0.9999	242.170	*	559.1	0.9994

Tabela 4. Avaliação de In, Sc, Y e Ga como padrões internos para a determinação de Sn por ICP OES

\* Sem padrão interno

Linha	PI	Inclinação	R	Linha	PI	Inclinação	R
(nm)	(cps mg⁻¹L)			(nm)		(cps mg⁻¹L)	
224.606	In	286.3	0.9998	242.950	In	484.3	0.9998
224.606	Y	286.7	0.9999	242.950	*	483.6	0.9995
224.606	*	296.0	0.9994	242.950	Ga	483.7	0.9999
224.606	Ga	286.0	0.9999	242.950	Sc	460.9	0.9999
224.606	Sc	272.6	0.9999	242.950	Y	484.9	0.9999
224.893	Y	736.6	0.9999	283.998	Sc	3308	0.9999
224.893	Ga	734.6	0.9999	283.998	Y	3480	0.9999
224.893	In	735.5	0.9998	283.998	Ga	3471	0.9999
224.893	Sc	700.1	0.9999	283.998	*	3470	0.9994
224.893	*	734.4	0.9996	283.998	In	3475	0.9998

# Tabela 4. Avaliação de In, Sc, Y e Ga como padrões internos para a determinação de Sn por ICP OES. (Continuação)

\* Sem padrão interno

A interferência de ionização ocorre quando a temperatura da chama é muito alta para o analito e, por isso, tem energia suficiente para inonizá-lo. A formação de íons diminuí o número de átomos disponíveis para a produção do sinal analítico e, consequentemente, a sensibilidade analítica, porque o íon apresenta um espectro de absorção completamente diferente do átomo que lhe deu origem. A ionização do elemento M que esta sendo determinado, ocorre segundo o equilíbrio:

## $M \leftrightarrow M^{n+} + n$ elétrons

Isto também abaixa a população de átomos no estado fundamental que podem absorver. Uma estratégia para resolver este problema é adicionar um supressor de ionização à amostra, padrões e branco. O supressor de ionização é um elemento que se ioniza mais facilmente que M, por apresentar um menor potencial de ionização que o analito. O maior número de elétrons presentes na chama deslocará o equilíbrio de ionização do elemento M para a esquerda, desfavorecendo a formação de outros cátions, ou seja, dificultando a formação de íons M<sup>n+</sup>. Os supressores mais comuns são K, Na, Rb e Cs, metais alcalinos que se ionizam facilmente e tornam a chama rica em elétrons levando o analito presente na amostra a se ionzar menos facilmente. O Cs é um dos elementos mais usados como supressor, pois tem a menor energia de ionização (3,894 eV), emite apenas em algumas linhas, e geralmente não é determinado por ICP OES devido a uma baixa sensibilidade. Neste estudo, La também foi usado como tampão de ionização. Césio e La foram adicionadas a uma concentração de 1,0 g L<sup>-1</sup> e foi estudada a sua influência sobre a sensibilidade das curvas analíticas de calibração. As análises feitas indicaram que o uso do supressor de ionização não melhorou o sinal analítico do estanho.

# 2.4.2 Características Analíticas para o emprego do ICP OES

## (A) Estudo da faixa linear para medidas de Sn no ICP OES axial

A linearidade das curvas analíticas de calibração para estanho foram estudadas em duas faixas de calibração, pois o estanho pode ocorrer em baixas concentrações em muitos alimentos, mas também pode ocorrer em altas concentrações em produtos ácidos como sucos de frutas por exemplo. Cinco linhas de emissão para estanho foram estudadas nas duas faixas de concentração:181,059; 189,927; 224,606; 224,893; 235,485; 242,170; 242,950 e 283.998 nm. A primeira faixa foi entre 0 and 500 µg L<sup>-1</sup> e o R obitido foi de R<sup>2</sup> >0,99 para as linhas 189,059 e 283,998 nm, enquanto que para a faixa de maior concentração entre 0–10 mg L<sup>-1</sup> o R foi de R<sup>2</sup> >0,999 para todas as linhas estudadas. Na Figura 6 são mostrados exemplos de curvas analíticas de calibração. Apenas as quatro linhas de emisão 189,927 e 226,893 nm mostram sensibilidade similar, enquanto que a linha de emissão 283,998 nm possui a maior sensibilidade, quando comparadas as outras três linhas, nas mesmas concentrações estudadas. Sendo assim, a linha 283,998 nm foi a linha escolhida para todas as análises.



(a) Concentração: µgL<sup>-1</sup>



(b) Concentração: mgL<sup>-1</sup>

Figura 6. Curvas analítcas para o estanho em HCl 2,0 mol L<sup>-1</sup> para duas faixas de concentração (a)  $\mu$ gL<sup>-1</sup> e (b) mgL<sup>-1</sup>

## (B) Limite de detecção e quantificação

O limite de detecção representa a menor concentração de substância em exame que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada, utilizando um determinado procedimento experimental. Já o limite de quantificação representa a menor concentração da substância em exame que pode ser medida.

Foram obtidas as estimativas dos limites de detecção considerando o desvio padrão relativo das intensidades de 10 ensaios do branco analítico. O limite de quantificação (LOQ) empregando a câmera de nebulização ciclônica em conjunto com o nebulizador *SeaSpray* do ICP OES foi estimado como a concentração igual a 10 vezes o desvio-padrão de 10 medições em branco dividido pela inclinação da curva analítica de calibração de cada linha. A determinação do sinal equivalente de fundo (BEC) foi calculado segundo a equação [36]:

#### BEC = I branco (média) /a

Onde:

I<sub>branco</sub> (média) = média da intensidade do sinal de 10 brancos a= coeficiente angular

o LOD foi calculado:

#### LOD = 3. BEC. RSD / 100

e o LOQ foi calculado:

#### LOQ = 10. BEC. RSD / 100

Onde RSD = desvio padrão relativo.

Os LOQ, expressos em µg g<sup>-1</sup>, da digestão em forno de micro-ondas com cavidade para o estanho nas diversas linhas estudadas estão mostrados na Tabela 5. Melhores valores para os limites de quantificação do material sólido pode ser alcançado usando maior massa de amostra ou menores diluições dos digeridos. Os valores para LOQ encontrados foram muito diferentes dependendo da linha de emissão utilizada. A utilização de um padrão interno para uma linha de emissão não

Elane Santos da Boa Morte

melhorou o limite de detecção ou quantificação uma vez que sensibilidades similares foram obtidas para ambas às situações.

Linhas de emissão (nm)	LOD	LOQ
189,927	0,094	0,313
224,606	0,411	1,372
226,893	0,177	0,589
181,059	0,308	1,027
235,485	0,485	1,616
242,170	0,323	1,076
242,950	0,404	1,348
283,998	0,094	0,314

Tabela 5. Limites de detecção e quantificação de Sn, em µg g<sup>-1</sup>, para todas as linhas de emissão estudadas.

A Tabela 6 a seguir mostra os limites de detecção para os demais constituintes inorgânicos determinados por ICP OES.

De acordo com todos os parâmetros estudados, a linha de emissão para o estanho 283,998 nm foi a escolhida para efetuar a quantificação do estanho nas amostras de extrato de tomate. Esta linha mostrou-se livre de interferentes para as condições estudadas, melhor sensibilidade e limites de detecção.

Elemento	LOQ
λ (nm)	μg L⁻¹
AI (396,152)	4,13
Ca (396,847)	0,41
Cd (226,502)	0,0014
Cr (267,716)	0,041
Cu (327,398)	0,19
Fe (238,203)	0,10
K (766,468)	0,024
Mg (285,209)	0,034
Mn (257,611)	0,011
Ni (231,604)	0,049
P (177,434)	0,18
Zn (213,858)	0,15

Tabela 6. Estimativa do limite de quantificação para a metodologia proposta:emprego do forno de micro-ondas e ICP OES

Define-se exatidão do método como sendo o grau de concordância entre o resultado de um ensaio e o valor de referência aceito como convencionalmente verdadeiro. Os materiais de referência certificados (CRM) devem, sempre que possível, serem utilizados para validar um método analítico. Como não havia disponível no mercado CRM para extrato de tomate, a exatidão foi checada por comparação dos resultados obtidos da metodologia proposta com os valores certificados para a amostra certificada de espinafre (NIST 1570a). O teste t pareado, ao nível de 95% de confiança, foi aplicado para comparação dos resultados obtidos pelos dois métodos. O teste estatístico revelou não haver diferenças significativas (p > 0,05) entre as médias de micro e macro-elementos. Os resultados estão mostrados na Tabela 7.

	CRM 1570a						
Elemento	Valor certificado	Valor obtido					
	% m i	m <sup>-1</sup>					
Са	$1,527 \pm 0,041$	$1,637 \pm 0,096$					
Mg	0,89*	$0,\!90\pm0,\!05$					
K	$\textbf{2,903} \pm \textbf{0,052}$	$2,\!672\pm0,\!189$					
Р	$0{,}518\pm0{,}011$	$\textbf{0,523} \pm \textbf{0,037}$					
	μg g	-1					
Cd	$2,\!89\pm0,\!07$	$2,51 \pm 0,09$					
Со	$0,\!39\pm0,\!05$	$\textbf{0,22} \pm \textbf{0,10}$					
Cu	$12,\!2\pm0,\!6$	$11,9\pm0,7$					
Ni	$\textbf{2,}\textbf{14}\pm\textbf{0,}\textbf{10}$	$\textbf{2,06} \pm \textbf{0,36}$					
Zn	$82\pm3$	$75\pm3$					

Tabela 7. Comparação dos valores certificados SRM NIST 1570a com a metodologia proposta.

\* Valor de referência não certificado.

# 2.4.3 Avaliação do teor de estanho em amostras de extrato de tomate em diferentes embalagens e com o tempo de estocagem

O método proposto, empregando digestão da amostra em forno com radiação por micro-ondas com cavidade e ICP OES foi aplicado para a determinação da concentração de estanho em três amostras de extrato de tomate enlatados do mesmo lote durante 5 meses de estocagem o (Tabela 8) e foi aplicado para amostras comercializadas em diferentes embalagens (Tabela 9). Na análise do tempo de estocagem, os resultados são apresentados para todas as linhas de emissão sem correção de padrão interno, uma vez que já foi comentado que este não melhora a sensibilidade para estanho.

Os resultados obtidos para a concentração de estanho nas amostras de extrato de tomate investigadas durante 5 meses de estocagem não apresentaram diferenças significativas para as três linhas de emissão (189,927, 224,606, 242,170 e 283,998 nm), e para o grupo de duas linhas de emissão (181,059 e 242,950 nm). Para as linhas 235,485 e 226,893 nm foram observadas diferenças significativas, o que pode ser atribuído a interferências espectrais, principalmente para a primeira, devido a concentração de ferro, uma vez que este constituinte se encontra presente em concentrações elevadas nas amostras. Assim, estas linhas não são recomendadas. A linha 283,998 nm é a mais recomendada para determinação de estanho em baixas concentrações por oferecer maior sensibilidade, como discutido anteriormente.

Analisando os teores de estanho durante os cinco meses de estocagem pode-se perceber que o teor de estanho aumentou cerca de 91% para a amostra K, 43% para a amostra Q e para a amostra F a diferença não foi significativa (Tabela 8). Apesar do aumento de quase 100% para uma das amostras, os teores de estanho ainda estão bem abaixo do valor máximo regulamentado pela ANVISA, que é de 250 mg Kg<sup>-1</sup>. Devido a heterogeneidade verificada nas amostras, principalmente em termos de viscosidade, não é possível creditar a variação obtida apenas ao tempo de estocagem. Assim, considerando que a quantidade amostrada nas pesagens não foi a mesma, este fator também contribuiu para a baixa repetibilidade obtida em algumas replicatas.

Amostras	Sn 189,927	Sn 224,606	Sn 226,893	Sn 181,059	Sn 235,485	Sn 242,170	Sn 242,950	Sn 283,998
1 mês								
К	1,95 ± 0,08	1,69 ± 0,06	3,57 ± 0,27	2,64 ± 0,26	12,3 ± 0,3	1,72 ± 0,16	$2,42 \pm 0,22$	1,98 ± 0,19
Q	$2,06 \pm 0,14$	1,96 ± 0,06	6,45 ± 0,13	2,76 ± 0,16	$25,0 \pm 0,7$	1,56 ± 0,09	2,73 ± 0,13	2,11 ± 0,09
F	$1,94 \pm 0,17$	$2,09 \pm 0,02$	3,62 ± 0,28	$2,82 \pm 0,23$	$5,64 \pm 0,20$	1,57 ± 0,09	2,14 ± 0,21	1,91 ± 0,19
2 meses								
К	1,30 ± 0,06	1,21 ± 0,05	2,30 ± 0,17	1,88 ± 0,17	14,7 ± 0,9	1,02 ± 0,01	1,69 ± 0,08	1,27 ± 0,04
Q	1,76 ± 0,02	1,67 ± 0,19	6,11 ± 0,13	2,44 ± 0,13	$29,0 \pm 2,0$	1,35 ± 0,08	2,78 ± 0,12	1,80 ± 0,01
F	1,15 ± 0,37	1,06 ± 0,19	$2,48 \pm 0,38$	$1,64 \pm 0,44$	$5,46 \pm 0,49$	0,93 ± 0,19	1,54 ± 0,30	1,10 ± 0,32
3 meses								
К	2,30 ± 0,10	2,25 ± 0,24	$5,48 \pm 0,60$	$2,70 \pm 0,28$	2,30 ± 0,10	1,52 ± 0,24	$3,82 \pm 0,28$	2,19 ± 0,15
Q	2,65 ± 0,33	2,68 ± 0,51	7,11 ± 0,31	2,90 ± 0,12	2,65 ± 0,33	1,68 ± 0,15	3,26 ± 0,11	nd
F	2,46 ± 0,12	2,55 ± 0,18	7,97 ± 0,22	2,83 ± 0,15	2,46 ± 0,12	1,55 ± 0,14	3,13 ± 0,15	1,43 ± 0,17

Tabela 8. Teor de estanho em 3 amostras de extrato de tomate enlatado com o tempo de estocagem para todas as linhas estudadas. (média  $\pm$  desvio, n=5) (µgg<sup>-1</sup>)

Elane Santos da Boa Morte

Tabela 8. Continuação.

	Sn	Sn	Sn	Sn	Sn	Sn	Sn	Sn
Amostras	189,927	224,606	226,893	181,059	235,485	242,170	242,950	283,998
4 meses								
K	$3,62 \pm 0,54$	$3,84 \pm 0,36$	$7,94 \pm 0,39$	2,38 ± 0,26	$35,6 \pm 2,0$	2,75 ± 0,29	5,41 ± 0,71	3,19 ± 0,39
Q	3,12 ± 0,61	2,86 ± 0,17	13,6 ± 1,16	1,76 ± 0,02	38,5 ± 1,2	1,80 ± 0,23	$5,09 \pm 0,62$	$2,43 \pm 0,43$
F	$2,90 \pm 0,27$	2,66 ± 0,18	$8,96 \pm 0,50$	$2,80 \pm 0,22$	7,24 ± 0,16	1,75 ± 0,16	$3,24 \pm 0,43$	$2,37 \pm 0,23$
5 meses								
K	$4,00 \pm 0,53$	$3,65 \pm 0,44$	$9,27 \pm 0,67$	3,11 ± 0,11	$65,4 \pm 5,4$	2,19 ± 0,20	$8,09 \pm 0,58$	$3,79 \pm 0,48$
Q	$3,06 \pm 0,62$	$4,84 \pm 0,14$	$20,6 \pm 2,5$	$3,07 \pm 0,64$	$54,7 \pm 4,9$	$2,79 \pm 0,49$	$5,98 \pm 0,48$	$3,03 \pm 0,56$
F	2,36 ± 0,15	1,42 ± 0,17	8,24 ± 1,05	1,27 ± 0,25	9,21 ± 1,06	0,53 ± 0,15	$3,34 \pm 0,22$	1,76 ± 0,12

nd= não determinado

O método foi aplicado em amostras de extrato de tomate em embalagens de vidro, caixa e lata, também comercializadas em supermercado na cidade de Salvador, Bahia, Brasil. Tabela 9. Pode-se perceber que o teor de estanho nas amostras K, F e Q em embalagens enlatadas mostraram teores similares. Para a amostra A, o teor de estanho estava abaixo do LOQ do método e o seu resultado não está apresentado na tabela. Para todas as amostras que foram adquiridas em diferentes embalagens, os teores para as enlatadas sempre apresenta-se maior. Entretanto, verificou-se que as amostras embaladas em latas são visualmente mais espessas, ou seja, são as mais concentradas, com teor de água menor, o que compromete esta avaliação sobre as diferenças nos teores entre as diferentes embalagens.

Tabela	9.	Avaliação	do	teor	de	estanho	em	amostras	de	extrato	de	tomate	em
diferent	es	embalage	ns.										

Amostras		Embalagens							
(mg Kg <sup>-1</sup> )	lata	caixa	vidro						
K	1,98 ± 0,19	-	-						
Q	2,11 ± 0,09	$1,49 \pm 0,05$	-						
F	$1,91 \pm 0,19$	-	-						
Е	$0,101 \pm 0,039$	<loq< th=""><th>-</th></loq<>	-						
J	$3,14 \pm 0,27$	1,73 ± 0,08	-						
S	-	$2,78 \pm 0,23$	$1,57 \pm 0,06$						
Р	0,309 ± 0,031	$0,077 \pm 0,005$	$0,275 \pm 0,036$						

# 2.4.4 Determinação da composição mineral de extrato de tomate em diferentes embalagens, após aberto sob refrigeração

Para a determinação de macro e micro elementos foram avaliadas três marcas de extrato de tomate em diferentes embalagens (lata, vidro e caixa) comercializadas em Salvador, Bahia, Brasil. As latas foram abertas, e o extrato de tomate foi analisado e acondicionado sob refrigeração (10 °C) para determinação dos constituintes inorgânicos em 7, 15 e 30 dias. As amostras foram submetidas ao procedimento de digestão em bloco digestor conforme descrito no item 2.3.3.2. A determinação do teor dos constituintes inorgânicos foi feita conforme descrito no item 2.3.3.5

Os teores dos constituintes inorgânicos determinados na amostra P, para o 1º dia, 7 e 15 dias estão mostrados na Tabela 10. Para esta amostra foram adquiridas apenas amostras de extrato de tomate enlatado e em caixa. Não foi observada diferença significativa na concentração dos analitos Cu, Mn, Pb e Zn para os diferentes tipos de embalagem e conforme o tempo de estocagem após abertura da embalagem. A concentração de Fe aumentou apenas na amostra enlatada enquanto que para Cr, Ni e Sn foram obtidos maiores teores para amostras de ambas embalagens. O aumento nas concentrações destes elementos para as amostras de extrato acondicionadas em embalagens enlatadas pode ser creditado a contaminação devido aos constituintes da lata.

Amostra		lata			caixa	
Ρ						
	1º dia	7 dias	15 dias	1º dia	7 dias	15 dias
Cr	0,181 ± 0,017	$0,284 \pm 0,024$	0,311 ± 0,030	0,175 ± 0,026	0,294 ± 0,014	0,277 ± 0,016
Cu	$0,739 \pm 0,028$	$0,710 \pm 0,067$	0,779 ± 0,010	$0,503 \pm 0,068$	0,510 ± 0,021	$0,534 \pm 0,023$
Fe	6,51 ± 0,35	13,8 ± 1,3	$33,6 \pm 5,4$	$3,05 \pm 0,27$	$3,25 \pm 0,07$	3,33 ± 0,12
Mn	1,18 ± 0,05	$1,02 \pm 0,10$	1,17 ± 0,04	1,17 ± 0,15	1,02 ± 0,008	1,13 ± 0,06
Ni	$0,094 \pm 0,005$	$0,122 \pm 0,0080$	$0,140 \pm 0,13$	0,080 ± 0,010	$0,188 \pm 0,006$	0,122 ± 0,001
Pb	< LOQ	$0,045 \pm 0,010$	0,043 ± 0,010	< LOQ	< LOQ	0,016 ± 0,028
Sn	0,707 ± 0,132	1,79 ± 1,15	10,3 ± 2,1	$2,14 \pm 0,33$	$2,78 \pm 0,04$	$7,94 \pm 0,86$
Zn	1,41 ± 0,12	1,41±0,05	1,59 ± 0,14	1,72 ± 0,15	1,41 ± 0,05	1,55 ± 0,09

Tabela 10. Avaliação do teor de constituintes inorgânicos em extrato de tomate consumidos em diferentes embalagens com o tempo de estocagem sob refrigeração após abertura para consumo. Amostra P. (média  $\pm$  desvio, n=3, mg Kg<sup>-1</sup>)

Foram adquiridas amostras de extrato de tomate enlatado, em vidro e em caixa para o fornecedor A. Os teores dos constituintes inorgânicos encontrados nestas amostras, no 1º dia e após 30 dias de estocagem, estão mostrados na Tabela 11. Não foi observada diferença significativa na concentração dos analitos Cd, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb e Zn para os diferentes tipos de embalagem e conforme o tempo de estocagem após abertura da embalagem. Para Fe, houve aumento apenas na amostra enlatada, enquanto que para Sn as concentrações foram maiores em ambas as embalagens. O aumento nas concentrações destes constituintes para as embalagens enlatadas se deve a composição da lata, uma vez que estes elementos estão presentes em sua composição. Para estanho, nas embalagens de lata e caixa, provavelmente houve algum tipo de contaminação durante a estocagem em geladeira que não foi proveniente da composição da embalagem. Tabela 11. Avaliação do teor de constituintes inorgânicos em extrato de tomate consumidos em diferentes embalagens com o tempo de estocagem sob refrigeração após abertura para consumo. Amostra A. (média  $\pm$  desvio, n=3, mg Kg<sup>-1</sup>)

	la	ta	са	ixa	vidro		
	1º dia	30 dias	1º dia	30 dias	1º dia	30 dias	
Cd	0,034 ± 0,001	< LOQ	0,033 ± 0,002	< LOQ	0,048 ± 0,01	< LOQ	
Cr	$0,529 \pm 0,005$	0,306 ± 0,005	0,495 ± 0,030	$0,332 \pm 0,036$	0,513 ± 0,039	$0,204 \pm 0,005$	
Cu	0,841 ± 0,033	0,794 ± 0,124	0,790 ± 0,053	$0,627 \pm 0,054$	0,861 ± 0,079	0,876 ± 0,005	
Fe	93,8 ± 10,0	254 ±16	10,6 ± 0,3	10,1 ± 1,0	11,7 ± 0,1	$10,8 \pm 0,8$	
Mn	$1,24 \pm 0,07$	1,50 ±0,08	1,22 ± 0,04	1,02 ± 0,11	1,24 ± 0,09	1,26 ± 0,09	
Ni	0,135 ± 0,013	0,113 ± 0,002	0,163 ± 0,004	0,171 ± 0,017	0,136 ± 0,014	0,116 ± 0,006	
Sn	$2,67 \pm 0,33$	$17,7 \pm 6,4$	0,482 ± 0,058	18,5 ± 1,4	$2,30 \pm 0,04$	11,9 ± 1,7	
Zn	1,76 ± 0,41	1,45 ± 0,17	1,94 ± 0,10	1,76 ± 0,22	2,77 ± 0,55	$2,28 \pm 0,26$	

Para o fornecedor K, foram adquiridas em supermercados locais amostras de extrato de tomate enlatado, em vidro e em caixa . Os teores dos constituintes inorgânicos para o 1º dia, 7, 15 e 30 dias estão mostrados nas Figura 7 e Figura 8. Não foi observada diferença significativa na concentração dos analitos Cu, Mn e Sn para os diferentes tipos de embalagem e conforme o tempo de estocagem após abertura da embalagem. As concentrações de Cr, Ni, Pb e Se foram altas para todas as embalagens. O aumento nas concentrações destes constituintes para as embalagens enlatadas se deve a composição da lata, uma vez que estes elementos estão presentes em sua composição. Para Zn, na embalagem de vidro, provavelmente houve algum tipo de contaminação durante o procedimento de preparo da amostra e/ou determinação.



Figura 7. Variação do teor de constituintes inorgânicos em extrato de tomate consumido em embalagens de vidro com o tempo de estocagem sob refrigeração após abertura para consumo. Amostra K. (mg Kg<sup>-1</sup>)



Figura 8. Variação do teor de constituintes inorgânicos em extrato de tomate enlatado com o tempo de estocagem sob refrigeração após abertura para consumo. Amostra K. (mg Kg<sup>-1</sup>)

Os teores dos constituintes inorgânicos correspondentes ao 1º, 7º, 15º e 30 dias, para as amostras de extrato de tomate enlatado, em vidro e em caixa adquiridas do fornecedor T, estão mostrados nas Figura 9 a 11. Observou-se que para as amostras acondicionadas em lata conforme o tempo de estocagem após abertura da embalagem: (a) não foi observada diferença significativa na concentração dos analitos Cu, Mn, Pb, Sn e Zn; (b) as concentrações de Cr, Ni e Se foram maiores com o tempo de armazenamento. Para as amostras armazenadas na embalagem caixa, foi observado aumento nas concentrações de Cr, Ni, Se e Sn, diferentemente de Cu, Mn e Zn. Para a embalagem de vidro, só houve aumento significativo para Se e Sn. O aumento nas concentrações dos constituintes para as embalagens enlatadas se deve a composição da lata, uma vez que estes elementos estão presentes em sua composição. A aumento da concentração de Sn para a embalagem de vidro, muito provavelmente se deve a algum tipo de contaminação durante a estocagem ou procedimento de digestão.



Figura 9. Variação do teor de constituintes inorgânicos em extrato de tomate enlatado com o tempo de estocagem sob refrigeração após abertura para consumo. Amostra T. (mg Kg<sup>-1</sup>)



Figura 10. Variação do teor de constituintes inorgânicos em extrato de tomate em embalagem caixa com o tempo de estocagem sob refrigeração após abertura para consumo. Amostra T. (mg Kg<sup>-1</sup>)



Figura 11. Variação do teor de constituintes inorgânicos em extrato de tomate em embalagem de vidro com o tempo de estocagem sob refrigeração após abertura para consumo. Amostra T. (mg Kg<sup>-1</sup>)

Para a amostra G, foram adquiridas amostras em embalagens caixa, vidro e lata em supermercados locais. As concentrações dos constituintes inorgânicos para as amostras de extrato de tomate enlatado, em vidro e em caixa , para o fornecedor G, para o 1º dia, 7º, 15º e 30 dias estão mostrados nas Figura 12 a 14. Não foi observada diferença significativa na concentração dos analitos Cu, Mn, Pb, Sn e Zn para todas as embalagens conforme o tempo de estocagem após abertura da embalagem. Os teores de Cr, Ni, Pb e Se sofreram aumento para todas as embalagens. Conforme já discutido anteriormente, o aumento nas concentrações de Cr e Ni nas embalagens enlatadas pode ser creditado a composição da lata. Vale destacar que as amostras em embalagens de vidro e caixa se apresentaram mais fluidas que as amostras em embalagens de lata, o que pode explicar o menor teor de todos os constituintes para as embalagens de vidro.



Figura 12. Variação do teor de constituintes inorgânicos em extrato de tomate em embalagem com o tempo de estocagem sob refrigeração após abertura para consumo. Amostra G. (mg Kg<sup>-1</sup>)



Figura 13. Variação do teor de constituintes inorgânicos em extrato de tomate enlatado com o tempo de estocagem sob refrigeração após abertura para consumo. Amostra G. (mg Kg<sup>-1</sup>)



Figura 14. Variação do teor de constituintes inorgânicos em extrato de tomate em embalagem de vidro com o tempo de estocagem sob refrigeração após abertura para consumo. Amostra G. (mg Kg<sup>-1</sup>)

O Ferro foi o constituinte que sofreu variação mais significativa com o tempo sob refrigeração (até 10 °C) para todas as amostras de extrato de tomate enlatados, como mostram as Figura 15 a 17. Na amostra adquirida no fornecedor T, conforme figura tal pode-se perceber um aumento de mais de 300% para a embalagem em lata correspondente ao 30° dia de armazenagem em geladeira. Para o fornecedor G, esse aumento foi de cerca de 200%. A Figura 18 mostra o aumento na concentração de ferro para todas as amostras analisadas. Este aumento também pode ser creditado à composição da lata, uma vez que este elemento se encontra em maior percentagem na constituição deste tipo de embalagem.



Figura 15. Avaliação da concentração de Fe (mg Kg<sup>-1</sup>) em extrato de tomate (amostra T) em diferentes embalagens com o tempo de estocagem sob refrigeração após abertura para consumo durante 30 dias.



Figura 16. Avaliação da concentração de Fe (mg Kg<sup>-1</sup>) em extrato de tomate (amostra K) em diferentes embalagens com o tempo de estocagem sob refrigeração após abertura para consumo durante 30 dias.



Figura 17. Avaliação da concentração de Fe (mg Kg<sup>-1</sup>) em extrato de tomate (amostra G) em diferentes embalagens com o tempo de estocagem sob refrigeração após abertura para consumo durante 30 dias.



Figura 18. Avaliação da concentração de Fe (mg Kg<sup>-1</sup>) para todas as 6 amostras de extrato de tomate enlatadas durante 30 dias de estocagem

# 2.4.5 UTILIZAÇÃO DE FERRAMENTAS QUIMIOMÉTRICAS PARA AVALIAÇÃO DOS CONSTITUINTES INORGÂNICOS DURANTE 6 MESES DE ESTOCAGEM

A quimiometria é uma área interdisciplinar da química que emprega métodos matemáticos estatísticos de análise para planejar ou selecionar procedimentos ótimos de medidas e experimentos químicos, bem como para extrair o máximo de informações químicas relevantes analisando dados químicos [37,38]. Dessa forma a quimiometria é uma ferramenta que vem atuando nas interfaces da ciência fazendo uma ligação entre a química e outras áreas como a estatística e a matemática.

A grande vantagem da união entre a quimiometria e ICP OES deve-se ao fato de que a primeira é uma ferramenta poderosa de análise de dados complexos, enquanto que a segunda possibilita a obtenção de um grande número de informações (variáveis) em uma única medida, de forma rápida e simples, o que torna a união das técnicas atrativa.

A primeira etapa das análises quimiométricas é a definição do problema, o qual tem por objetivo determinar a escolha do método a ser empregado, e garantir que as informações desejadas sejam coletadas.

Os métodos quimiométricos usados para identificar as semelhanças e diferenças em diferentes tipos de amostras, agrupá-las e classificá-las, estão divididos em dois grupos: dos métodos "supervisionados" e dos métodos "não supervisionados" de reconhecimento de padrões. Ambos se fundamentam nas seguintes suposições: amostras de mesmo tipo são semelhantes; existem diferenças entre diferentes tipos de amostras; e as semelhanças e diferenças estão refletidas nas medidas utilizadas para caracterizar as amostras [37,38].Dentre os métodos não supervisionados de análise multivariada dos dados, a análise por componentes principais (PCA) é uma ferramenta freqüentemente empregada na análise de dados espectroscópicos para auxiliar na observação de tendências ou fenômenos não perceptíveis por simples observações [39,40].

A análise por componentes principais resulta da construção de um conjunto de novos vetores, ortogonais entre si, chamados de componentes principais. Esses novos

componentes são combinações lineares das variáveis originais, construídos em ordem decrescente de variância, e, portanto, de quantidade de informação, resultantes do agrupamento das variáveis altamente correlacionadas. Sendo assim, as análises por componentes principais reduzem a dimensionalidade do conjunto de dados original de forma que as informações mais relevantes ficam concentradas nas primeiras componentes e as de menor importância ou valor nas últimas componentes. [41, 37,38].

A análise por PCA permite a visualização dos resultados em forma de gráficos bidimensionais ou tridimensionais, conhecidos como gráficos de *scores* em que as amostras são projetadas nos novos eixos, vetores, sendo possível verificar o agrupamento das que são semelhantes entre si e ainda a discriminação em classes [37,38]. Como não é possível obter informações analisando gráficos multidimensionais de uma só vez, as informações contidas nas componentes principais são visualizadas em gráficos bidimensionais e às vezes tridimensionais. As distâncias inter-pontos são examinadas constituindo uma matriz que descreve a proximidade entre todas as amostras investigadas. A informação obtida pode ser plotada em um gráfico bidimensional, chamado de dendograma [37].

Em um gráfico de *scores* da primeira componente principal *versus* a segunda, por exemplo, todas as amostras são alojadas no gráfico na forma de pontos de acordo com suas coordenadas nessas componentes. Além disso, a análise dos gráficos construídos pelas primeiras componentes principais é suficiente para se extrair as informações sobre o sistema em estudo. Isto se deve ao fato de que as primeiras componentes concentram a maior percentagem de informações relevantes [37,38].

Quando é observada a distinção entre conjuntos de amostras nas análises por componentes principais, é possível verificar quais foram as variáveis ou fatores que mais contribuíram para que ocorresse a discriminação. Essa informação é obtida pela análise dos gráficos de *loadings* (pesos ou influências), o qual é obtido em conjunto com os gráficos de *scores* e tem por objetivo explicar o resultado desses gráficos.

A aplicação de ferramentas estatísticas como, por exemplo, a análise por componentes principais e a análise hierárquica de agrupamentos é de fundamental importância para melhor explorar e entender a grande quantidade de dados numéricos

que vêm sendo gerados com o aperfeiçoamento das técnicas instrumentais. Desta forma, análises quimiométricas exploratórias utilizando dados obtidos por técnicas espectrométricas como o ICP OES, têm sido amplamente empregadas como ferramenta para a discriminação entre conjuntos de amostras. Para dados obtidos por ICP OES, as variáveis são constituintes inorgânicos determinados. Assim, a análise dos gráficos de *loadings* possibilita verificar quais os elementos que mais contribuíram para que ocorresse uma determinada separação.

Neste trabalho foi empregada a análise exploratória preliminar dos dados obtidos, utilizando-se da análise de componentes principais para indicar a existência de alguma separação das amostras de extrato de tomate de diferentes fornecedores como tempo de prateleira durante seis meses. Cada amostra foi caracterizada por um conjunto de variáveis: concentração dos metais analisados, os quais constituem seus descritores químicos.

A determinação de Al, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, P e Zn foi realizada por ICP OES. Esses treze analitos, foram selecionados como variavéis. Cada lata de extrato de tomate foi considerada como um conjunto de treze variáveis. Para as amostras, uma matriz de dados de 13 colunas (variáveis) e 18 linhas (amostras) foi construída. Para os conjuntos de amostras cada quintuplicata foi considerada como amostra a fim de aumentar a representatividade das amostras e diminuir erros que são gerados aleatoriamente. Os resultados foram separados de acordo com o fornecedor de cada amostra e a análise de dados foi executada usando o software Statistica 6.0.

### 2.4.5.1 PCA considerando todos os analitos

As amostras de extrato foram todas analisadas em conjunto, ou seja, todos os fornecedores bem como todos os meses de estocagem e posteriormente analisou-se separadamente os três diferentes fornecedores.

O pré-processamento dos dados usado neste estudo foi o autoescalamento, em que cada variável (cada coluna da matriz de dados) é centrado na média e então dividido pelo seu desvio padrão. Tal tratamento foi necessário, pois quando uma variável tem uma magnitude acentuadamente maior que as outras, essa variável isolada pode dominar os dados subseqüentes baseado na variância ou na distância. Em outras palavras, os elementos que estão em maiores concentrações podem ser mais significativos para o modelo.

A fim de avaliar este comportamento e visualizar a estrutura dos dados, uma análise por componentes principais foi feita e os resultados estão msotrados na Figura 19. A análise por componentes principais demonstrou que um pequeno número de variáveis explica a variabilidade total dos dados, i.e. as 3 primeiras componentes principais explicam 85 % da variabilidade total. A primeira componente é responsável por 47,74%, a segunda por 27,31% e a terceira explica 10,67% da informação total. Um agrupamento visual apareceu quando os dados foram expostos com relação às duas primeiras componentes principais, o que não surpreendeu uma vez que a primeira componente principal explica a máxima projeção unidimensional do total de variação dos dados individuais.

As amostras de extrato de tomate da marca C estão situadas nos scores positivos de PC2 separadas das amostras Q e A. As amostras Q têm scores nulos, positivos e/ou negativos em PC2. As amostras A tem scores negativos na PC2. As variáveis Fe, AI, Ni e Cr obtiveram loadings mais negativos na PC2, enquanto que todas as outras tiveram loadings positivos ou não nulos nessa PC, valores esses muito próximos. Assim, as amostras A são caracterizadas por apresentarem altos valores de Fe, AI, Ni e Cr em relação às outras amostras, variáveis essas responsáveis pela separação. De acordo com a Tabela 12 essas quatro variáveis foram as mais discriminantes.
Na PC1, as amostras de extrato de tomate das marcas C e A estão situadas nos scores negativos da PC1, enquanto que a amostra Q está na parte positiva. Todas as variáveis tiveram loadings negativos, com exceção de Cr. Cálcio, Mg, Cu, K, P, Mn e Zn foram as variáveis que apresentaram loadings mais negativos nessa PC. A separação das amostras C e A, das amostras Q deve-se a esse grupo de variáveis, isto indica que as amostras C e A apresentam maiores teores de Cálcio, Mg, Cu, K, P, Mn e Zn que as amostras Q. Através destes gráficos, não se pode perceber qual variável foi estritamente responsável pela separação das amostras Q. Desta forma, uma nova análise foi realizada somente com as amostras que apresentaram maior peso conforme destacado na Tabela 12.



(a)



Figura 19. Gráficos de PC1 *versus* PC2, (a) scores e (b) loadings para amostras de extrato de tomate enlatados dos três diferentes fornecedores com todas as variáveis.

Variável	Fator 1	Fator 2
Са	0,155285	0,00046
К	0,109081	0,006305
Mg	0,133751	0,024259
Na	0,025015	0,001823
Р	0,118855	0,004024
AI	0,007761	0,230669
Cd	0,003096	0,005308
Cr	0,000617	0,24417
Cu	0,142068	0,011131
Fe	0,019545	0,224112
Mn	0,153933	0,000302
Ni	0,000575	0,242894
Zn	0,130418	0,004543

Tabela 12. Peso das variáveis na diferenciação entre as amostras de extrato de tomate de diferentes fornecedores.

Uma nova classificação para as amostras de extrato de tomate enlatado foi avaliada por PCA. Os gráficos relativos à uma segunda análise estão mostrados na Figura 20. Esta análise foi realizada somente com as variáveis que tiveram os maiores pesos apresentados na Tabela 13. A Figura 20 mostra os gráficos de scores e loadings de PC1 versus PC2, os quais fornecem a melhor visualização da separação entre os três grupos de amostras. As duas primeiras componentes principais explicam 92% da variabilidade total dos dados. Três grupos podem ser sugeridos baseados na distribuição das amostras ao longo de PC1, que explica a maioria da variabilidade, ao

redor de 48%. A segunda componente contém 44% do total de informação. Um grupo, denominado (A), com scores negativos em PC1, composto exatamente pelas amostras do fornecedor A, outro grupo (C) com scores negativos composto exatamente pelas amostras do fornecedor C e um grupo (Q) com scores positivos em PC1, caracterizado por amostras do fornecedor A.

O perfil dos loadings em PC1 mostra valores negativos para as variáveis Ca, Mn e Cu, indicando que maiores quantidades desse elemento podem caracterizar amostras dos fornecedores C e A. As variáveis Al, Ni e Cr também podem contribuir de maneira menos significativa para essa separação, como pode ser visualizado na Figura 20. Em PC2 há somente a separação do grupo C para o A, uma vez que os scores para o grupo Q são positivos, negativos e nulos nessa PC. Contudo, pode-se indicar que as amostras de extrato de tomate do fornecedor A podem ser caracterizados devido a maiores quantidades de Al, Ni e Cr indicado por seus scores positivos na PC2.



(a)



(b)

Figura 20. Gráficos de PC1 *versus* PC2, (a) scores e (b) loadings para amostras de extrato de tomate enlatados dos três diferentes fornecedores usando as variáveis que obtiveram os maiores pesos.

Tabela 13. Peso das variáveis na diferenciação entre as amostras de extrato de tomate de diferentes fornecedores.

		Fator 1	Fator 2
C	Ca	0,3277	0,0002
ŀ	AI	0,0290	0,2852
(	Cr	0,0000	0,3493
C	Cu	0,3052	0,0238
Ν	1n	0,3346	0,0032
١	Ni	0,0035	0,3384

#### FORNECEDOR A

Avaliando o conjunto de dados referente apenas as amostras de extrato de tomate enlatado do fornecedor A para todos os 6 meses de estocagem verifica-se que há muita similaridade entre as concentrações encontradas, o que pode ser observado no número de componentes principais necessário para encontrar alguma discriminação. Com 3 componentes principais, há 99% de variabilidade dos dados, e foi observada separação de acordo com o tempo de estocagem apenas para os meses de outubro e novembro (Figura 21). Na Tabela 14 estão apresentados os pesos de cada variável que contribuem para as duas primeiras PC's, ou seja, o peso das variáveis.

Tabela 14. Peso das variáveis na diferenciação entre as amostras de extrato detomate de da marca A para seis meses de estocagem.

	Fator 1	Fator 2
Ca	0,905174	0,038303
К	0,103515	-0,91021
Mg	0,400923	-0,74232
Na	0,479023	-0,75825
Р	0,836807	0,3868
AI	-0,68011	0,433195
Cd	0,712155	0,472798
Cr	-0,13948	0,326952
Cu	0,346023	0,068767
Fe	-0,56665	-0,09768
Mn	0,42956	0,462066
Ni	0,248618	0,276269
Zn	0,464823	0,115971





Figura 21. Gráficos de PC1 *versus* PC2, (a) scores e (b) loadings para amostras de extrato de tomate enlatados do fornecedor A.

Uma nova classificação para as amostras de extrato de tomate enlatado fornecedor A foi avaliada por PCA. Os gráficos relativos à uma segunda análise estão mostrados na Figura 22. Esta análise foi realizada somente com as variáveis que tiveram os maiores pesos apresentados na Tabela 15.

A análise por componentes principais demonstrou que as 3 primeiras componentes principais explicam 96% da variabilidade total. A primeira componente é responsável por 56%, a segunda por 26% e a terceira explica 14% da informação total. Cinco agrupamentos podem ser sugeridos quando os dados são expostos com relação às duas primeiras componentes principais. As amostras de extrato de tomate dos meses de dezembro, janeiro, fevereiro e marco estão situadas nos scores negativos de PC1, pouco separadas das amostras de extrato de tomate dos meses outubro e novembro com scores positivos na PC1. As variáveis Ca e P foram as variáveis com loadings mais positivos em PC1, enguanto Al e Fe apresentaram os loadings mais negativos nessa componente principal. Assim, as amostras dos meses de outubro e novembro podem ser caracterizados por valores relativamente altos Ca e P e baixos valores de AI e Fe diante das amostras dos outros meses. Em PC2 existe uma separação entre os grupos de amostras de outubro e março das demais, pois ambos apresentam loadings negativos em PC2. Contudo, estas amostras podem ser caracterizados devido a maiores quantidades Mg, Na e K, indicado por seus scores negativos na PC2. As variáveis mais discriminantes foram Ca, P, Fe, K e Al.

	Fator 1	Fator 2	Fator 3	Fator 4	Fator 5
Ca	0,783818	-0,20433	0,551216	-0,18528	0,075573
к	-0,17618	-0,97455	0,084241	0,00627	-0,1099
Р	0,890266	0,244695	0,257561	0,270033	-0,09108
AI	-0,76668	0,465241	0,403216	-0,13886	-0,11783
Fe	-0,87659	-0,14523	0,384866	0,228759	0,100215

Tabela 15. Peso das variáveis na diferenciação entre as amostras de extrato de tomate do fornecedor A para seis meses de estocagem.





(b)

Figura 22. Gráficos de PC1 *versus* PC2, (a) scores e (b) loadings para amostras de extrato de tomate enlatados do fornecedor A. FORNECEDOR Q

Avaliando o conjunto de dados referente apenas as amostras de extrato de tomate enlatado do fornecedor Q para todos os 6 meses de estocagem verifica-se que há muita similaridade entre as concentrações encontradas, o que pode ser observado no número de componentes principais necessário para encontrar alguma discriminação. Com 3 componentes principais, há 99% de variabilidade dos dados, e não foi observada separação de acordo com o tempo de estocagem para todos os meses. Uma nova classificação para as amostras de extrato de tomate enlatado fornecedor Q foi avaliada por PCA. Os gráficos para essa análise estão mostrados na Figura 23. Esta análise foi realizada somente com as variáveis que tiveram os maiores pesos para a primeira avaliação Tabela 16.

	Fator 1	Fator 2
К	0,85506	0,34436
Na	0,41113	0,78644
Р	-0,82318	0,28702
AI	-0,24809	-0,71385
Fe	0,57004	-0,46201
Mn	-0,70677	0,49796
Ni	0,16035	0,74353
Zn	-0,84852	0,07368

Tabela 16. Peso das variáveis na diferenciação entre as amostras de extrato de tomate da fornecedor Q para seis meses de estocagem.

A análise por componentes principais demonstrou que um pequeno número de variáveis explica a variabilidade total dos dados, i.e. as 3 primeiras componentes principais explicam 92% da variabilidade total. A primeira componente é responsável por 40%, a segunda por 29% e a terceira explica 10% da informação total. Um agrupamento visual distinto apareceu quando os dados foram expostos com relação às duas primeiras componentes principais.

As amostras de extrato de tomate do fornecedor Q para os meses de outubro e março estão situadas em lados opostos da PC1 bem separadas; as amostras de novembro possuem scores negativos e maiores teores de Mn, P e Zn, enquanto que as amostras do mês de março possuem escores positivos e maiores teores de K e Fe. Os outros quatro grupos de amostras possuem ao mesmo tempo scores nulos, negativos e positivos na PC1. As variáveis Ni, Na, K e Fe foram as variáveis com loadings positivos em PC1, enquanto AI, P, Zn e Mn apresentaram loadings negativos nessa PC, como pode ser verificado na Figura 23. Em PC2 existe clara separação as amostras do mês de outubro e os demais grupos. Esse grupo está isolado na parte positiva da PC2 diferentemente de todos os outros que estão situados praticamente na parte negativa desta PC. O grupo de amostras do mês de outubro se caracteriza por apresentar um maior teor de Ni e Na em relação às demais.



(b)

Figura 23. Gráficos de PC1 *versus* PC2, (a) scores e (b) loadings para amostras de extrato de tomate enlatados do fornecedor Q.

#### FORNECEDOR C

Avaliando o conjunto de dados referente apenas as amostras de extrato de tomate enlatado do fornecedor A para todos os 6 meses de estocagem verifica-se que há muita similaridade entre as concentrações encontradas, o que pode ser observado no número de componentes principais necessário para encontrar alguma discriminação. Com 3 componentes principais, há 99% de variabilidade dos dados, e não foi observada separação de acordo com o tempo de estocagem para todos os meses. Uma nova classificação para as amostras de extrato de tomate enlatado fornecedor A foi avaliada por PCA. Os gráficos para essa análise estão mostrados na Figura 24. Esta análise foi realizada somente com as variáveis que tiveram os maiores pesos para a primeira avaliação Tabela 17. .

	Fator 1	Fator 2
Ca	-0,70629	-0,65031
К	-0,66215	0,613038
Na	-0,9427	0,186124
Р	0,047714	-0,91689
Cr	-0,72734	0,419379
Cu	-0,66787	-0,60677
Fe	0,269893	0,243125

Tabela 17. Peso das variáveis na diferenciação entre as amostras de extrato de tomate de da marca Q para seis meses de estocagem



Figura 24. Gráficos de PC1 *versus* PC2, (a) scores e (b) loadings para amostras de extrato de tomate enlatados do fornecedor C.

Uma análise por componentes principais possibilitou a avaliação desse comportamento e facilitou a visualização da estrutura dos dados. Os resultados estão descritos na Figura 24. As duas primeiras componentes principais explicam 73% da variabilidade total dos dados. A primeira componente é responsável por 41% e a segunda por 32% da informação total. Três grupos distintos foram identificados quando os dados foram expostos com relação a primeira e segunda componentes principais.

As amostras de extrato de tomate enlatados do mês de março estão situadas nos scores positivos de PC2, bem separadas das amostras extrato de tomate enlatados do mês de novembro com scores negativos em PC2 e as amostras do mês de outubro também estão na parte menos negativa dessa PC. Em PC1 só há separação entre meses de março e outubro desta PC e as amostras dos outros meses todas estão misturadas. De acordo com sua proximidade Ca e Cu, são altamente correlacionadas e, portanto, fornecem o mesmo tipo de informação. As variáveis Na, Cr, K, Ca e Cu possuem *loadings* negativos na PC1 enquanto que Fe e P possuem loadings positivos. As amostras do mês de março apresentam maiores teores de K, Cr e Na que as demais. As amostras que não demonstraram separação caracterizam-se por apresentar maiores teores de Fe.

#### 2.5. Considerações Finais

O teor dos contaminantes inorgânicos em extrato de tomate enlatados avaliados neste trabalho demonstra que não é recomendável conservar este produto nesta embalagem enlatada após sua abertura em geladeira pois há alteração na composição mineral do produto: alguns elementos, a exemplo do Fe, Sn, Ni e Cr podem aumentar sua concentração.

As condições experimentais do ICP OES avaliadas para a determinação de estanho em extrato de tomate enlatados mostrou que o sinal analítico do estanho não foi afetado com o uso de Cs ou La como supressor de ionização nem com o uso de Y, Ga, In e Sc como padrões internos. A linha de emissão do estanho 283,998 nm mostrou-se livre de interferentes para as condições estudadas e esta foi a linha empregada para todas as determinações. De uma maneira geral, o teor de estanho

aumentou para todas as amostras com a vida de prateleira num período de 5 meses, aumento este que ainda está abaixo do valor máximo regulamentado pela ANVISA, que é de 250 mg Kg<sup>-1</sup>.

A abordagem multivariada (PCA) permitiu distinguir entre as três marcas (A, C e Q) com a vida de prateleira e ainda determinar quais os parâmetros mais importantes para caracterizá-las. Todas as variáveis foram auto escalonadas para evitar interpretação errada na análise de dados. Os resultados demonstraram que Al, Ca, Cr, Cu, Mn e Ni foram os principais elementos para a discriminação entre as amostras. Três componentes principais foram responsáveis por explicar 96,5% da variância total dos dados. Com relação à distinção entre o tempo de estocagem para cada fornecedor das amostras, a PCA apontou para os parâmetros de Al, Ca, Fe, K e P, sendo os elementos Fe, K, P e responsável pela discriminação em todos os fornecedores.

# Capítulo III

# Emprego da GF AAS para determinação Sn em azeite de oliva

Elane Santos da Boa Morte

# 3.0 Determinação de Sn em azeite de oliva por Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite

Nesta etapa do trabalho foi otimizado a determinação de estanho em amostras de azeite de oliva consumidas na cidade de São Carlos, São Paulo. Primeiramente, serão abordados alguns aspectos gerais sobre o azeite de oliva. Em seguida, será discutida as abordagens da espectrofotometria de absorção atômica com forno de grafite para a determinação de estanho e o pré-tratamento para amostras oleosas. Estudos sobre as melhores condições para a otimização da metodologia também serão tratados seguidos da aplicação desta.

#### 3.1 Azeite de Oliva

Dentre os óleos vegetais comestíveis comercializados mundialmente, o azeite de oliva (*Olea europaea sativa* Hoffm. et Link) é um dos mais importantes e antigos do mundo, sendo largamente usado nos países que margeiam o Mediterrâneo. É raro existir, dentre os óleos vegetais não refinados, um "flavour" mais apreciado do que o do azeite de oliva virgem Apresenta, ainda, algumas propriedades nutricionais que faz com que os habitantes do Mediterrâneo tenham menor incidência de doenças coronarianas do que povos de outras regiões, que consomem mais gorduras saturadas. Como sua produção é pequena em relação à outros óleos vegetais comestíveis, é alvo constante de adulteração [42].

No Brasil, o azeite de oliva é classificado em três tipos: virgem, refinado e de extração refinado, de acordo com a Resolução nº 22/77 da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos (CNNPA) do Ministério da Saúde [6]. No exterior, existem vários órgãos governamentais ou não, que regulam a comercialização do azeite de oliva através de padrões de identidade e qualidade, como a Comissão do Codex Alimentarius [43] e da União Européia.

Os tipos de adulteração incluem adição de outros óleos vegetais e/ou animais, óleos vegetais parcialmente hidrogenados, óleos vegetais submetidos à remoção de esteróis (desterolizados) e óleos reesterificados. A complexidade que envolve a composição dos diferentes tipos de azeite de oliva, bem como as conseqüências dos processos de refinação, hidrogenação e re-esterificação, tornam a detecção da adulteração, muitas vezes, um problema de difícil solução. Por isso, vários índices são recomendados para a verificação da pureza do azeite de oliva. A Resolução nº 22/77/MS [6] de óleos comestíveis é um convite à adulteração, pois os índices utilizados para o azeite de oliva são de vinte anos atrás.

Estima- se que a produção mundial de azeite de oliva em 2009/2010 chegue a 2.881.000 toneladas [44]. Os países da União Européia representam 81% da produção mundial, sendo a Espanha o maior produtor mundial com 1,083 milhões de toneladas (39% da produção mundial), seguido pela Itália, com 585 mil toneladas (21%) e a Grécia, com 388 mil toneladas (14%). O Brasil não tem produção de azeite de oliva. O consumo mundial de azeite de oliva vem apresentando desde 1995, uma taxa de crescimento médio anual de 6%.

O Brasil está posicionado entre os 10 países de maior consumo no mundo. O aumento contínuo desse mercado demonstra que, cada vez mais, o brasileiro aprecia as características únicas e o prazer que um bom azeite pode proporcionar aos seus pratos. Entretanto, ainda há um grande potencial de crescimento para o azeite de oliva em nosso país, pois o nosso consumo *per capito* ainda é muito baixo (170 gramas ano<sup>-1</sup>), comparativamente aos gregos que consomem 25 kg ano<sup>-1</sup>, os italianos e espanhóis com 12 kg ano<sup>-1</sup>.

A composição mineral do azeite de oliva de mesa é função da variedade, localização, meio ambiente, do método de transformação e/ou processamento e do tipo de embalagem [45, 46]. Sendo assim, a avaliação da composição mineral, bem como a quantificação de alguns contaminantes inorgânicos faz-se necessária, devido aos fatores anteriormente esplanados na introdução deste trabalho. Apesar de existirem muitos trabalhos publicados na literatura para amostras de azeite de oliva [47], poucos são os trabalhos feitos para a composição mineral em azeites [48, 49, 50,51] e, quando esta é feita, as técnicas mais empregdas são as de espectrometria atômica devido as inúmeras vantagens já citadas em capítulos anteriores.

#### 3.2 Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite

A determinação de estanho por espectrometria de absorção atômica com vaporização eletrotérmica em diversas matrizes vem sendo estudada há muitos anos. Estanho é um elemento que apresenta baixa sensibilidade em ET AAS como nas outras técnicas de espectrometria atômica. Além disso é considerado muitas vezes um elemento difícil por ET AAS [52] devido as interferências na presença de cloretos e sulfatos. Em análises de rotina, estanho geralmente é determinado por FAAS ou por HG AAS [53, 54, 55], esta última oferece as vantagens de eliminar analito da matriz da amostra, reduzindo o potencial de interferências e melhorarando a sensibilidade, uma vez que grandes volumes de amostra são analisados [56]. Contudo, ainda assim, a presença de alguns metais concomitantes e a própria complexidade da matriz orgânica podem prejudicar a análise.

O problema da sensibilidade para estanho em GF AAS pode ser resolvido das seguintes formas: uso de amostragem direta (suspensões, emulsões ou microemulsões), uso de modificadores químicos permanentes ou não, uso de condições STPF.

A grande maioria das técnicas analíticas utilizadas para determinações de elementos em amostras inorgânicas requer que a amostra esteja na forma de uma solução aquosa [13]. Entretanto, muitas vezes o pré-tratamento da amostra demanda o uso de um grande volume de reagentes de alto grau de pureza, de alto custo, é tedioso e exige do analista prática e experiência [57]. Além de gerar perdas na sensibilidade do processo analítico, uma vez que o analito encontra-se diluído na solução final da amostra, é propenso a contaminações durante o processamento da amostra.

Uma maneira viável de se minimizar e/ou eliminar esses problemas é pelo emprego da técnica de amostragem direta, onde a determinação do analito é realizada diretamente, no sentido de se evitar contaminações e/ou perdas do analito durante o preparo da amostra, minimizando o uso de reagentes e tornando a análise mais rápida além de uma maior quantidade da amostra pode ser então amostrada aumentando a sensibilidade da técnica. Estes procedimentos têm a principal vantagem de dispensar uma etapa prévia de pré-tratamento das amostras. A amostragem direta está sujeita a alguns problemas, tais como, geração de absorção de fundo devido à absorção molecular e espalhamento de radiação por partículas da matriz; o estabelecimento de uma calibração com padrões sólidos e a disponibilidade destes padrões; problemas com homogeneidade da amostra e baixa precisão, o que se deve a dificuldade de se obter uma porção representativa da amostra no momento da análise. A análise direta, além de oferecer vantagens como a possibilidade de obtenção da curva analítica, em muitos casos, com o emprego de soluções-padrão aquosa do analito [58]. Esta técnica tem sido bastante utilizada em diversos tipos de amostras, principalmente, com gêneros alimentícios [55,57,58,64].

#### 3.3 Estratégias para o tratamento de amostras oleosas por GF AAS

Óleos são particularmente difíceis de se introduzir diretamente no forno devido à sua alta viscosidade. Em geral, um solvente orgânico é empregados para diluir as amostras. As diferenças entre as propriedades dos solventes orgânicos e da água, bem como a presença de diferentes espécies na matriz, faz a correlação do sinal entre os padrões aquosos e amostras de óleo difícil mesmo com um tubo atomizador de grafite. Para atingir tal correlação entre as amostras e padrões, procedimentos cuidadosamente otimizados devem ser usados. Digestões ácidas de amostras de óleos em geral tem sido empregado para mineralizar compostos que contém as espécies metálicas. Porém, o uso de micro emulsões de óleo em água é uma abordagem interessante como já exposto anteriormente quando discutiu-se a amostragem direta. Emulsificação de óleos com surfactantes fornece uma metodologia rápida para a preparação da amostra uma vez que este procedimento não requer a destruição da matriz orgânica. As micro emulsões reduzem a viscosidade e o teor de matéria orgânica da solução da amostra, e dispersa uniformemente o óleo na fase aquosa, tornando as propriedades da emulsão do óleo em água próximas as dos padrões aquosos.

Welz *et al* [59] propuseram uma determinação seqüencial de Sb e Sn em amostras de óleo lubrificante. Para tal, as amostras foram introduzidas na forma de micro emulsão (amostra, HNO<sub>3</sub>, Xileno, Triton X-100 – 0,5 g: 0,5 mL: 0,5 mL: 2,0 % v v<sup>-1</sup>) diretamente num tubo de grafite tratado com Ru como modificador químico permanente. Ácido nítrico foi empregado, pois cloreto de estanho é volátil a baixas temperaturas e sulfatos podem causar alta radiação de fundo, bem como sérios problemas de interferência [65]. Para Sn, as temperaturas propostas para pirólise e atomização foram de 600 °C e 2300 °C, respectivamente, quando Pd/MgNO<sub>3</sub> foi utilizado como modificador químico e Ru como modificador permanente. A curva de calibração foi feita com padrões aquosos e o método foi validado com o uso de material de referência certificado.

#### 3.4 Estratégias para a determinação de estanho por GF AAS

A análise de suspensões combina os benefícios da análise de sólidos, além de oferecer vantagens como a possibilidade de obtenção da curva analítica, em muitos casos, com o emprego de soluções-padrão aquosa do analito [60]. Esta técnica tem sido bastante utilizada em diversos tipos de amostras, tais como sedimento [60], ligas [61] e solos [71].

Chumbo, Sn, Ni e Cu foram determinados simultaneamente em ligas à base de alumínio por ET AAS por Carrion *et al* [61]. Suspensões das ligas metálicas foram preparadas por dispersão das ligas por descarga elétrica em água e depois acidificadas com HNO<sub>3</sub> 0,1% (v v<sup>-1</sup>). Foram realizados estudos para avaliar o efeito da quantidade de AI sobre o sinal da absorbância integrada do Sn durante a etapa de pirólise e atomização. Quando a massa de AI é aumentada de 0 para 4,0 µg, o sinal de Sn aumenta na etapa de pirólise e não mostra diferença significativa na etapa de atomização. As curvas de calibração foram feitas com padrões aquosos contendo concentração de AI similar a concentração nas ligas. A análise de quatro amostras certificadas de ligas à base de alumínio mostraram que não houve diferença significativa entre o método proposto e os valores certificados.

Um procedimento rápido empregando suspensão foi proposto para determinação de Sn e Ti em solos e sedimentos por Garcia *et al* [62]. Dois procedimentos foram propostos: suspensões da amostra com HF e suspensões da amostra com HF preparadas com um rápido aquecimento de 8 min no forno de micro-ondas. Estanho e Ti foram determinados por ET AAS com tubo de grafite pirolítico utilizando corretor Zeeman e fosfato ácido de amônio foi empregado como modificador químico. A temperatura de atomização para Sn foi de 2200 °C. Quando curvas de calibração com adição padrão a partir de suspensões foram preparadas com materiais de referência certificado, os resultados encontrados para o teor de estanho foram muito semelhantes aos certificados.

Amostragem direta foi empregada para a determinação de Hg, Sn, Pb, Cd e Mn em amostras de alimentos marinhos por espectrometria de absorção atômica com amostragem sólida com corretor Zeeman [63]. Plataforma de grafite foi empregada para a quantificação de todos os elementos e curvas analíticas com padrões aquosos também foram empregadas. Os resultados foram validados com material de referência certificado sólido de tecido de mexilhão e os autores concluíram que não há efeito de matriz, sendo possível a realização das análises em padrões aquosos.

Extração em duas fases foi empregada para a determinação de estanho, proveniente de organoestânico, em sedimentos estuarinos com detecção por ET AAS [64]. Planejamento experimental foi aplicado para avaliar fatores tais como massa de amostra, quantidade e tipo de solvente extrator (hexano e tolueno), tipo de agitação (manual ou ultrassônica), agente complexante, temperatura de pirólise, temperatura de atomização e concentração do modificador químico. As condições ótimas de trabalho foram: massa de sedimento, 17 g; 13 mL de ácido acético 1:3 (v v<sup>-1</sup>); solvente extrator, hexano; tipo de agitação, ultrassônica; temperatura de pirólise, 1000°C; temperatura de atomização, 2400°C; e concentração do modificador químico, 1500 mg L<sup>-1</sup> Pd(II). O procedimento de extração consistiu em: colocar 1,7 g da amostra em contato com 13 mL de ácido acético 1:3 (vv<sup>-1</sup>) em tubo de centrifuga, o tubo foi colocado em banho de ultrassom por 1 hora. Hexano (10 mL) foi então adicionado e o conjunto foi mantido no banho por mais 1 hora. As fases foram separadas com auxílio de uma centrifuga e então, uma alíquota de 2 mL da fase hexano foi removida para um erlenmyer onde o hexano foi evaporado a 50°C em chapa de aquecimento e o resíduo dissolvido com

HNO<sub>3</sub> 2 mol L<sup>-1</sup> em metanol. Quando aplicado em material de referência certificado, apenas 82% do organoestânico foi extraído. O LOD foi de 0,08  $\mu$ g g<sup>-1</sup> e o teor de organoestânico presentes nos sedimentos de Gipuzkoa, na Espanha esteve na faixa de 0,7 a 7,7  $\mu$ g g<sup>-1</sup> expresso em termos de estanho.

Esta etapa do trabalho teve como objetivo avaliar o teor de estanho em amostras de azeite de oliva em embalagens de vidro e lata por espectrometria de absosção atômica com vaporização eletrotérmica após digestão ácida.

#### 3.5 Parte Experimental

#### 3.5.1 Equipamentos

As medidas foram realizadas em um espectrômetro de absorção atômica com forno de grafite da Varian, modelo SpectrAA 800, equipado com corretor de background baseado no efeito Zeeman, atomizador modelo GTA 100, amostrador automático e lâmpada de cátodo oco de estanho com corrente elétrica aplicada de 7,0 mA, resolução espectral de 0,5nm e comprimento de onda de 286,3 nm. Tubos de grafite com plataforma e revestimento pirolítico (*Varian, part number: 63-100026-00*) foram utilizados nas atomizações. Argônio 99,996% (White Martins, São Paulo, Brasil) foi utilizado como gás de proteção e de purga. Todos os experimentos foram realizados utilizando-se um volume de injeção correspondente a 20,0 µL. Todas as medidas foram realizadas no modo de absorvância integrada.

Uma balança analítica OHAUS, modelo AS200 (Ohaus Corporation, Florham Park, NJ, EUA) foi empregada para a pesagem das amostras.

Todos os materiais utilizados na coleta, armazenamento e preparo das amostras foram previamente lavados com detergente e descontaminados com ácido nítrico (10% vv<sup>-1</sup>) por um período mínimo de 24 horas. Para o enxagüe foi utilizada água ultrapura, com resistividade de 18 M $\Omega$  cm<sup>-1</sup>.

#### 3.5.2 Reagentes e amostras

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico e água desionizada (resistividade elétrica 18,0 M $\Omega$  cm<sup>-1</sup>) foi utilizada no preparo das soluções. A solução de ácido nítrico (0,1% vv<sup>-1</sup>) foi preparada pela diluição da solução concentrada do ácido ultra-puro (*suprapure, Merck, Darmstadt, Germany*) purificado no sistema de sub-destilação (SubPur, Milestone).

Para a digestão das amostras, foram utilizados ácido nítrico sub-boiling e peróxido de hidrogênio 30% v v<sup>-1</sup> , *Merck, Darmstadt, Germany*). O padrões inorgânicos de estanho foram obtidos a partir de solução-padrão inorgânica elementar 1000 mg L<sup>-1</sup> (*Merck, Darmstadt, Germany*).

As amostras de azeite de oliva composto, virgem e extra virgem foram compradas em supermecados locais na cidade de São Carlos, São Paulo, Brasil. Alíquotas das amostras foram armazenadas em frascos de polietileno com a finalidade de se manter a integridade das mesmas até o momento da análise. Das sete amostras analisadas, 5 amostras foram de embalagens de lata e duas de embalagens de vidro. Todas amostras estavam dentro do prazo de validade de consumo.

#### 3.5.3 Digestão das amostras em sistemas assistidos por radiação micro-ondas

No procedimento assistido por radiação micro-ondas foi empregado um forno de micro-ondas com cavidade, modelo Ethos EZ 1200 (Milestone, Sorisole, Itália). O forno possui rotor para 10 frascos de 100 mL confeccionados em TFM<sup>®</sup> (PTFE modificado) e opera sob altas temperaturas e pressões. Esse sistema permite o acoplamento de sensores de temperatura e pressão que possibilitam o acompanhamento do sistema de digestão e promovem uma maior segurança operacional. O programa de aquecimento usando ácido nítrico 65% mm<sup>-1</sup> e peróxido de hidrogênio 30% v v<sup>-1</sup> está apresentado na Tabela 18.

Tabela 18. Programa de aquecimento para o procedimento de digestão assistida por micro-ondas em forno com cavidade Ethos EZ. Massa de amostra = 250 mg de azeite, V HNO<sub>3</sub>= 5,0 mL e VH<sub>2</sub>O<sub>2</sub> = 3,0mL

Etapa	Tempo (min)	P <sub>máx</sub> (W)	T (ºC)	P (bar)
1	4	750	90	35
2	2	750	90	35
3	6	750	180	35
4	15	1000	180	35
Ventilação	10	0	-	-

massa de amostra = 250 mg de azerte, v mvo<sub>3</sub>= 5,0 me e vm<sub>2</sub>o<sub>2</sub> = 5,0 me

Os teores de estanho foram determinados por espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite (GFAAS). Para a quantificação por GF AAS os digeridos foram diluídos 10 vezes.

A exatidão do procedimento foi avaliada pelo método de adição e recuperação do analito. No procedimento de preparo de amostra empregado neste trabalho, adicionou-se alíquotas de 10; 25 e 50 µg L<sup>-1</sup> nas amostras azeite de oliva, respectivamente. Em seguida, as amostras foram submetidas ao processo de digestão com forno de radiação micro-ondas. Posteriormente, realizou-se a determinação de Sn empregando o GFAAS para avaliar a recuperação de estanho.

#### 3.5.4 Determinação de estanho total

Empregou-se GFAAS para a determinação dos teores totais de estanho nas amostras. Utilizou-se uma solução de Pd 1000 mg L<sup>-1</sup> como modificador químico, com a introdução do volume de 10  $\mu$ L de modificador. A Tabela 19 mostra as condições operacionais adotadas. O programa de aquecimento foi estabelecido utilizando uma solução contendo 70  $\mu$ g L<sup>-1</sup> de Sn em meio de 0,1 % v v<sup>-1</sup> HNO<sub>3</sub>. O programa estabelecido está apresentado na Tabela 20.

7mA
0,5nm
286,3nm
Pd
10µL
20µL

# Tabela 19. Condições operacionais do GFAAS para a determinação de Sn

### Tabela 20. Programa de aquecimento do GFAAS para a determinação de Sn

Etapa	Temperatura	Tempo(s)	Vazão do gás
	(°C)	(rampa e patamar)	(L min <sup>-1</sup> )
Secagem	120	5, 40	3,0
Secagem	140	10, 5	3,0
Pirólise	1200	15, 25	3,0
Atomização	2500	1, 2	0
Limpeza	2500	5, 1	3,0

#### 3.6 Apresentação e Discussão dos Resultados para GF AAS

#### 3.6.1 Programa de Aquecimento: Curvas de Temperatura de Pirólise e Atomização para Sn

Em espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (ETAAS) o uso de modificador químico é uma prática freqüentemente utilizada e muitas vezes condição essencial para determinados analitos [52,65]. O papel do modificador químico é estabilizar termicamente diferentes analitos convertendo-os em uma forma menos volátil, possibilitando o emprego de temperaturas mais elevadas durante a etapa de pirólise; reduzir concomitantes (aumentando a volatilidades destes) e/ou melhorar as vias de atomização do analito [52]; aumentar a vida da plataforma de L´vov e a sensibilidade na determinação de elementos com média/alta volatilidade. Em geral, uma alíquota da solução do modificador químico é introduzida no tubo de grafite juntamente com a solução analítica.

Diversas substâncias vem sendo usadas como modificadores químicos, porém a mistura Pd + Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> ficou conhecida no começo dos anos 90 como o "modificador universal", por apresentar um bom desempenho estabilizando a grande maioria dos elementos determinados por GF AAS. Geralmente, altas concentrações da solução do modificador químico de alta pureza são acrescentadas às soluções analíticas de referência e às soluções das amostras com o auxílio de um amostrador automático. Por outro lado, uma pequena área da superfície interna do tubo de grafite pode ser modificada com um elemento metálico que atua como modificador químico permanente, o qual, dependendo da temperatura de limpeza adotada no programa de aquecimento, pode suportar vários ciclos de aquecimento.

Neste etapa do trabalho, uma solução padrão de Sn com concentração de 70,0  $\mu$ g L<sup>-1</sup> em HNO<sub>3</sub> 0,1% vv<sup>-1</sup> foi utilizada para avaliar o uso do Pd como modificador químico, bem como para definir as temperaturas de pirólise e atomização. Outros compostos e/ou mistura de compostos químicos também foram avaliados como modificador, porém o sinal obitido foi menor em comparação com o uso do Pd. (Tabela 21). Para o estudo das temperaturas de pirólise e atomização foram injetados 20  $\mu$ L da solução padrão 70  $\mu$ g L<sup>-1</sup> de Sn em HNO<sub>3</sub> 0,1% v v<sup>-1</sup> e 10  $\mu$ L da solução de Pd 1000,0

µg mL<sup>-1</sup> no tubo de grafite usado como atomizador. As curvas foram geradas experimentalmente pela variação gradual de temperatura tanto de pirólise como de atomização em intervalos de 100 °C, como mostra a Figura 25.



Figura 25. Curva de pirólise e atomização para uma solução 70 µg L<sup>-1</sup> de Sn em HNO<sub>3</sub> 0,1% vv<sup>-1</sup> empregando Pd como modificador químico

O sinal de absorbância integrada máximo para a etapa de pirólise sem perdas do analito e usando-se modificador químico ocorreu em uma temperatura de 1200 °C. Acima desta e até 1600°C, o sinal do estanho parace estar estabilizado. Fixando-se 1200°C como temperatura de pirólise, efetuou-se um estudo para estabelecer o sinal máximo na etapa de atomização, que ocorreu em 2200 °C, sendo o sinal estável acima desta. Estes valores estão de acordo com os descitos por Welz [65] quando o Pd-Mg é usado como modificador químico: temperatura de pirólise de 1200-1400°C e temperatura de atomização de 2300-2400°C. Car rion *et al* [66] concluíram que a temperatura de pirólise empregada (900 a 1300 °C) p ara a determinação de Sn em ligas de alumínio foi dependente do teor deste na liga. Já Welz *et al* [67] propuseram 600°C e 2300°C, para as temperaturas de pirólise e atomização. Garcia *et al* [68] otimizaram a curva de atomização variando a temperatura de 1800-2600°C obtendo 2200°C como melhor condição.

O estudo para avaliar o uso ou não do modificador químico Pd foi realizado de maneira semelhante ao estudo das temperaturas de atomização e pirólise. Para o estudo sem o modificador, 20  $\mu$ L da solução de Sn 70  $\mu$ g L<sup>-1</sup> em HNO<sub>3</sub> 0,1% v v<sup>-1</sup> foi injetada no atomizador.



Figura 26. Curva de pirólise e atomização para uma solução 70  $\mu$ g L<sup>-1</sup> de Sn em HNO<sub>3</sub> 0,1% v v<sup>-1</sup> sem modificador químico

Para o estudo sem modificador pode-se perceber que há perda na sensibilidade de aproximadamente 30%. Como já mencionado, a mistura Pd +  $Mg(NO_3)_2$  é considerada o modificador universal. Testou-se então o uso deste como modificador bem como a mistura Mg +  $NH_4H_2PO_4$  também usada como modificador químico para estanho [69]. Otimizadas as condições de temperaturas de pirólise e atomização 1200 e 2500°C respectivamente, foram utilizadas 20 µL da solução de Sn 70 µg L<sup>-1</sup> em HNO<sub>3</sub> 0,1% v v<sup>-1</sup> e 15 µL da solução dos seguintes modificadores isoladamente: Pd 1000 mg L<sup>-1</sup>, Pd +  $Mg(NO_3)_2$  1000 mg L<sup>-1</sup> e  $Mg(NO_3)_2$  300 mg L<sup>-1</sup> +  $NH_4H_2PO_4$  500 mg L<sup>-1</sup> e sem modificador. Os resultados estão mostrados na Tabela 21:

	sem			
	modificador	Pd	$Pd + Mg(NO_3)_2$	$Mg + NH_4H_2PO_4$
media	0,0137	0,0654	0,0613	0,0456
desvio	0,0015	0,0075	0,0054	0,0034
SDR	11,0	11,4	8,81	7,44

Tabela 21. Avaliação do uso de diversos modificadores químicos sobre o sinal do estanho.

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 20, os melhores resultados são encontrados quando a mistura Pd + Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> ou somente o Pd usado como modificador químico para Sn sendo que estes resultados não apresentam diferença significativa. Arambarri et al [70] determinaram estanho em amostras de sedimento empregando somente o Pd como modificador químico e concluíram que a concentração deste afeta significativamente o sinal do estanho, ou seja, os melhores resultados são obtidos quando o Pd está na concentração de 1500 mg L<sup>-1</sup>. Já com o uso da msitura Mg + NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> o sinal analítico do Sn cai cerca de 25% diferentemente do apresentado por Lopes & Arruda [69] quando retratam o uso desta mistura para a determinação de Sn em sedimentos marinhos através de suspensão. Garcia et al [71] obtiveram sucesso na determinação de estanho em solos e sedimentos marinhos usando somente o NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> como modificador. Detcheva el al [72] determinaram estanho em amostras de peixes sem o uso de qualquer modificador químico porém quando o modificador não foi empregado neste trabalho, a sensibilidade cai cerca de 80%. Neste trabalho, para a determinação de estanho nas amostras de azeite de oliva foi empregado somente o Pd como modificador químico na temperatura de pirólise de 1200°C e na temperatura de atomização de 2500°C.

#### 3.6.2 Características Analíticas

A partir do programa de aquecimento estabelecido e dos dados experimentais foi possível calcular a massa característica para o analito, que é definida como a massa do analito, em picogramas, requerida para produzir um sinal de absorbância igual a 0,044 A.s<sup>-1</sup> (absorbância por segundo). Frequentemente esse parâmetro é empregado

para avaliar a condição de operação do instrumento [73]. Neste trabalho, foi empregado um forno de grafite com aquecimento longitudinal e a massa característica encontrada foi de 48 pg, enquanto na literatura para um forno de grafite com aquecimento longitudinal a massa característica para estanho situa-se ao redor de 10 pg e aumenta esse valor para 25 quando o corretor Zeeman é aplicado. No entanto, para um forno de grafite com aquecimento transversal a massa característica é de 90 g quando o corretor Zeeman é empregado [74]. Esses valores de massa característica diferem para cada tipo de forno devido ao gradiente de temperatura que ocorre no interior do tubo de grafite durante o aquecimento. Como o aquecimento de um forno longitudinal ocorre de uma extremidade para outra, isso acaba implicando em um maior gradiente de temperatura e, conseqüentemente, no valor da massa característica para cada elemento.

O limite de detecção (LOD), que é calculado como 3 vezes o valor do desvio padrão do branco analítico dividido pelo coeficiente angular da curva analítica de calibração, e o limite de quantificação (LOQ), que é calculado como 10 vezes o valor do desvio padrão do branco analítico dividido pelo coeficiente angular da curva analítica de calibração foram determinados. Neste caso, o LOD foi de 0,42  $\mu$ g g<sup>-1</sup> e o LOQ foi de 1,39  $\mu$ g g<sup>-1</sup> obtendo-se ainda uma repetibilidade de 11,5 % para n = 10.

Foram realizados experimentos para o teste de adição e recuperação para comprovar a eficiência do procedimento de preparo de amostra empregado neste trabalho. Os procedimentos experimentais empregados foram citados no item 3.1.3 e os resultados estão mostrados na Tabela 22.

Considerando a não disponibilidade de CRM para este tipo de amostra, tentouse avaliar a exatidão da metodologia proposta empregando um método independente, aplicando-se a técnica ICP OES. Porém os teores de estanho para as amostras de azeite de oliva estavam abaixo dos limites de quantificação para estanho. Assim a exatidão não pode ser avaliada uma vez que não foi possível fazer a determinação empregando um método independente.

De acordo com o experimento realizado para a adição e recuperação de estanho visando avaliar o procedimento de preparo de amostra, foram adicionados na amostra 1 de azeite de oliva enlatado as concentrações de estanho de 10; 25 e 50 µg L<sup>-1</sup>, respectivamente. A partir dos resultados obtidos, pode-se atestar a boa recuperação do analito, que comprova que não ocorreram perdas de estanho no procedimento de

preparo de amostra em frascos fechados e aquecimento assistido por radiação microondas.

Tabela 22. Teste de adição e recuperação em amostras de azeite de oliva enlatado

amostra (n = 3)	Teor de Sn adicionado	Recuperação percentual
	(µg L⁻¹)	(%)
Amostra 1	10,0	122 ± 13
Amostra 1	25,0	102 ± 7
Amostra 1	50,0	120 ± 8

As soluções analíticas de calibração foram preparadas por diluição adequada e continham 0; 10; 25; 50; 75 e 100  $\mu$ g L<sup>-1</sup> de estanho, obtendo-se tipicamente um coeficiente de correlação linear de 0,9983. (Figura 27). Todas soluções analíticas de calibração foram preparadas em meio 1,0% v v<sup>-1</sup> HNO<sub>3</sub>.



Figura 27. Curva analítica de calibração para estanho em HNO<sub>3</sub> 1,0 v v<sup>-1</sup>

#### 3.7 Determinação do teor de estanho em amostras de azeite de oliva

#### 3.7.1 Procedimento de preparo de amostra: emulsão e micro emulsão

Nesta parte do trabalho, o emprego das emulsões e micro-emulsões foi também avaliado como forma de dispensar a etapa de pré-tratamento da amostra com as digestões ácidas. Procedimentos baseados em procedimentos para amostras de óleo encontrados na literatura foram testados. O procedimento testado para micro emulsão foi o baseado no método sugerido por Welz et al [59] para amostras de óleo lubrificante na seguinte seqüência e proporção: amostra, HNO<sub>3</sub>, Xileno, Triton X-100 -0.5q: 0.5 mL: 0.5mL: 2.0 % v v<sup>-1</sup>. Segundo os autores, esta seguência de adição dos componentes garante a estabilidade da micro emulsão. O tratamento ácido do óleo é feito para dissolver ou minimizar o tamanho das partículas metálicas, que podem conter o analito de interesse. Para atomizadores eletrotérmicos, o tamanho ideal de partícula é de 30 µm [75]. Ácido nítrico foi utilizado porque o ácido clorídrico pode gerar cloretos de Sn que são voláteis em temperaturas baixas e ácido sulfúrico podem gerar altos níveis de fundo causada pela presença de produtos de decomposição, os sulfatos. Volumes de solventes orgânicos são introduzidos para reduzir a viscosidade do óleo e facilitar a interação entre o óleo e o surfactante. O Triton X- 100 é um surfactante não iônico que atende muito bem aos requisistos de um bom surfacatente: reduz a tensão superficial do óleo e da água, ativa suas superfícies, e maximiza suas áreas de contato para formar as emulsões. Isto tudo porque o grupo hidrofílico no surfactante pode absorver a fase aquosa e o grupo lipofílico, a fase orgânica.

No primeiro teste, o volume da solução foi completado com água deionizada até 10,0 mL. As micro emulsões apresentaram-se estáveis e, quando havia separação de fase, esta era reconstituída com vigorsa agitação manual. Aplicando-se este ensaio para as amostras de azeite de oliva após quantificação por GF AAS o sinal analítico obtido foi muito baixo.

O segundo teste foi realizado de maneira análoga ao proposto por Welz *et al* [59] com a substituição do xileno por propanol-1, devido a sua menor toxidez e com uma menor massa. Neste procedimento, foram utilizados 0,05 g da amostra; 0,250 mL de Triton X-100; 0,250 mL de HNO<sub>3</sub> 20 % v v<sup>-1</sup> e o volume foi levado a 5,0 mL com

propanol-1. As determinações por GF AAS levaram a sinais analíticos muito baixos, menores que o limite de detecção. Em seguida, novas massas de azeite foram testadas: 0,1; 0,2 e 0,5 g. Para estas massas estudadas, altos sinais de fundo foram observados, provavelmente devido à absorção molecular e espalhamento de radiação por partículas da matriz. Testes de adição e recuperação com padrões inorgânicos também foram realizados com a finalidade de verificar se existe ou não efeito de matriz. Foram adicionadas alíquotas da solução padrão de estanho às micro emulsões de forma que as concentrações finais fossem 5,0; 10,0 e 25,0 μg L<sup>-1</sup> de estanho. De forma análoga ao teste realizado sem a adição de padrão, os sinais analíticos foram muito baixos e/ou houve alta radiação de fundo. Desta forma, pode-se concluir que o uso das micro emulsões para a determinação de estanho em amostras de azeite de oliva por GF AAS não foram satisfatórios e requerem um estudo mais detalhado. Sendo assim, o procedimento de preparo de amostra empregado nesta etapa do trabalho foi a digestão ácida como será discutida no item que se segue.

# 3.7.2 Procedimento de preparo de amostra: digestão ácida em forno de microondas com cavidade

As determinações foram realizadas adotando-se o procedimento de preparo de amostras em micro-ondas como descrito no item 3.1.3 e determinação do teor total de estanho nos digeridos por GF AAS. Foram analisadas sete amostras de azeite de oliva enlatado. Os teores de estanho total apenas para duas amostras estão mostrados na Tabela 23, pois só foi possível quantificar de estanho para estas duas amostras. Essas duas amostras eram enlatadas e tinham data de fabricação semelhante as demais enlatadas, cerca de 2 meses de fabricação. A amostra 1 é de origem brasileira e a amostra 2 de procedência portuguesa. As demais amostras tiveram teores de Sn abaixo do limite de determinação do método e também eram de origem nacional. A maioria dos trabalhos encontrados na literatura relata estanho em óleos lubrificantes [76,77] e, para óleos comestíveis, a maioria trata da determinação de outros constituintes inorgânicos [78,79] e para azeite de oliva também [80]. Os teores de estanho nas amostras analisadas diferem dos valores encontrados na literatura. Sahan et al [81] analisaram 92 amostras de óleos de mesa, caracterizados como
verde e preto e das quais 24 dessas amotras eram enlatadas. O teor de estanho para todas as amostras enlatadas variou entre  $14,4 \pm 2,31$  e  $53,62 \pm 3,56$  mg Kg<sup>-1</sup>, teores estes muito maiores que os encontrados neste trabalho  $6,16 \pm 0,15$  e  $11,18 \pm 1,03$  µg g<sup>-1</sup>. A composição inorgânica do azeite de oliva é dependente da variedade, localização, condições climáticas, métodos de processamento, material de embalagem e produtos químicos utilizados [82,83]. Ou seja, muito provavelmente, na região da Turquia, algum fator deva ter contribuído para estes altos valores de estanho, embora os autores não tenham comentado.

Tabela 23. Teor de estanho total em amostras de azeite de oliva consumidas na cidade de São Carlos, São Paulo, Brasil após digestão ácida assistda por radiação micro – ondas.

Amostras	Teor (µgg⁻¹)
Amostra 1	6,16 ± 0,15
Amostra 2	11,18 ± 1,03

#### 3.8. Considerações Finais

O procedimento de pré-tratamento das amostras de azeite de oliva empregando a digestão ácida em forno de micro-ondas com cavidade foi adequada para a determinação do teor total de estanho por GF AAS, ao contrário do tratamento com as micro-emulsões, que apresentou um baixo sinal analítico para estanho e uma alta radiação de fundo.

Os experimentos de adição e recuperação apresentaram recuperações adequadas, atestando a eficiência do procedimento de pré-tratamento empregando a digestão ácida.

A metodologia apresentou massa característica de 48 pg, limites de detecção e quantificação de 0,42 e 1,39  $\mu$ g g<sup>-1</sup> respectivamente e faixa linear de 0 a 100  $\mu$ g L<sup>-1</sup>. Apesar da determinação do teor de estanho nos digeridos por GF AAS ter sido realizada utilizando as condições STPF (modificador químico, plataforma de L'vov, correção de fundo Zeemam) não foi possível quantificar o estanho em todas as

amostras analisadas, uma vez que seus teores estavam possivelmente, abaixo do limite de quantificação da metodologia desenvolvida. O teor de estanho encontrado em duas das amostras analisadas apresentou valor muito mais baixo do que o reportado na literatura.

Capítulo SV

# Determinação Sn em calda de doces de frutas enlatadas por fluorimetria

# 4.0 Determinação de Sn em calda de doces de frutas enlatadas por fluorimetria

Nesta etapa do trabalho será otimizado um sistema em fluxo com detecção fluorimétrica para a determinação de estanho em amostras de doces em calda enlatados. Primeiramente, serão abordados alguns aspectos gerais sobre o sistema de injeção em fluxo. Em seguida, será discutida as abordagens da espectrofotometria para a determinação de estanho. Estudos sobre as melhores condições para a otimização da metodologia também serão tratados seguidos da aplicação desta.

#### 4.1 Análise por Injeção Sequencial

A importância da determinação de estanho em alimentos enlatados já foi abordada com detalhes na introdução deste trabalho. A maioria dos trabalhos encontrados na literatura relata o pré-tratamento das amostras de alimentos anteriormente a quantificação por técnicas espectroanalíticas, uma vez que se faz necessário que estas estejam na forma líquida [84]. Geralmente, a mineralização é feita com ácidos inorgânicos empregando aquecimento condutivo ou aquecimento por micro-ondas [13]. Estes sistemas apresentam algumas limitações. O aquecimento condutivo, empregando chapa ou bloco digestor, muitas vezes é moroso [85,86]. Já no caso dos fornos de micro-ondas há um alto consumo de reagentes elevando o custo da análise e gerando muitos resíduos. Sem contar que a manipulação da amostra pode ocasionar perdas e apresenta riscos potenciais de contaminação, induzindo a erros.

A análise por injeção seqüencial, SIA, com detecção espectrométrica têm sido empregada para a determinação de constituintes inorgânicos em amostras de alimentos [87]. Algumas vantagens estão relacionadas com essa técnica, tais como: a não necessidade do pré-tratamento de amostras; a redução do volume de reagentes e amostras, para a ordem de alguns micro litros e a compactação dos sistemas, gerando assim, menor quantidade de resíduos de reagentes. Trabalhos têm sido desenvolvidos em análises em fluxo para a determinação de contaminantes e nutrientes com produtos alimentares, a exemplo do uso de tiocianato para a determinação de Fe em amostras de óleo comestível [88] e Fe em formulações infantil [89].

Tanto os sistemas de análise por injeção em fluxo (FIA) como os de análise por injeção seqüencial (SIA) apresentam componentes básicos semelhantes, por outro lado, no caso do FIA os reagentes são adicionados por confluência, enquanto que no SIA os reagentes são inseridos sequencialmente no mesmo canal que a zona de amostra [90]. Segundo Ruzicka [91], a análise por injeção seqüencial, baseia-se na mistura da amostra com um ou mais reagentes, a fim de produzir uma resposta mensurável.

A instrumentação em um sistema SIA consiste de uma bomba peristáltica bidirecional, uma única linha de transmissão e uma válvula seletora. Esta válvula é o componente principal do sistema, contendo de seis a dez portas, além de uma porta central, que tem acesso a cada uma das outras com a rotação da válvula. A ligação da válvula ao sistema de propulsão de líquidos é feita com uma bobina coletora conectada na porta central da válvula seletora. O controle da bomba e da válvula é feito em um computador com um software apropriado. Durante uma análise, volumes pré-determinados de reagentes e amostra são aspirados seqüencialmente para o interior da bobina coletora. Revertendo-se a direção do fluxo, a zona de amostra é transportada em direção à cela de detecção através de uma bobina de reação [92].

### 4.2 Métodos espectrofotométricos e fluorimétricos para determinação de Estanho

A determinação de estanho por métodos empregando a espectrometria atômica possui vantagens como baixos limites de detecção, contudo dependendo do tratamento de amostra empregado consomem tempo e em alguns casos sofrem interferências de matriz. Métodos espectrofotométricos e fluorimétricos apresentam-se como alternativa, uma vez que são métodos de operação simples e baixo custo.

Estanho forma complexos com muitos ligantes que têm sido determinado por espectrofotometria na região UV-Vis com o uso de reagentes cromogênicos seletivos ou não aos seus íons em diferentes matrizes, tais como: violeta de pirocatecol (PCV), hemateína, quercetina, derivados do fluoreno, 1-(2-piridilazo)-2-naftol (PAN) e alaranjado de xilenol. [93]. Quando o reagente não é suficientemente seletivo, o uso de agentes mascarantes para os possíveis interferentes é utilizado.

Na determinação de constituintes orgânicos ou inorgânicos por espectrofotometria UV-Vis, as amostras devem estar geralmente no estado líquido. A transformação da amostra sólida em uma solução representativa é normalmente realizada através da mineralização desta com ácidos minerais empregando aquecimento condutivo ou radiação por micro-ondas [94]

Para a determinação espectrofotométrica de estanho em alimentos enlatados Gutierrez et al [94] estudaram dois procedimentos de digestão ácida. O primeiro procedimento de digestão utilizou uma mistura contendo HNO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e HClO<sub>4</sub> concentrados e o segundo HNO<sub>3</sub> e HCl concentrados, ambos com aquecimento condutivo. Os autores comentaram que, apesar do segundo procedimento não ter sido bem sucedido, pois não há completa destruição da matéria orgânica para as amostras em questão, a determinação de Sn por FAAS após este tipo de digestão apresenta resultados, quando a mineralização é completa. A determinação bons espectrofotométrica foi baseada na formação do complexo binário do 5,7 - dicloro 8quinolinol (HCQ) com o Sn<sup>+4</sup> que absorve em 390 nm. Para tanto, tampão citrato com pH = 4,5 foi usado para manter o pH acima de 2, pH este que favorece a formação complexos ternário de estanho/cloro/HCQ. Foi utilizado também hidróxido de amônia para eliminar o excesso ácido residual à digestão. Cloridrato de hidroxilamina foi utilizado para reduzir todo o ferro presente, uma vez que sua concentração é alta em alimentos e este forma um complexo com o HCQ. O método apresentou faixa linear até 6,0 µg mL<sup>-1</sup> e limite de detecção de 2,5 µg g<sup>-1</sup>. A concentração de estanho nas amostras de alimentos enlatados variou de 200 a 512 µg g<sup>-1</sup>. Os resultados foram confirmados com os resultados obtidos por FAAS.

O violeta de pirocatecol é um dos reagentes cromogênicos mais empregados para a determinação de estanho, inclusive para estudo cinético de formação do complexo com o Sn(II) e com o Sn(IV) [95]. Na presença de surfactantes um ganho significativo na sensibilidade (LOD = 7,0 ng mL<sup>-1</sup>) é alcançado devido à formação de complexo ternário [96].

A formação de complexos ternários pode ocorrer através de associação iônica, ou com sistemas micelares envolvendo surfactantes, visto que essas substâncias modificam algumas propriedades reacionais, podendo melhorar a sensibilidade e seletividade [97]. A presença de surfactantes pode ocasionar a formação de um novo complexo com diferentes propriedades espectrais (usualmente com maior absortividade molar), além de poder proporcionar também maior estabilidade e seletividade quando comparado com o complexo binário [98]. Estudos sobre os efeitos de surfactantes na formação de complexos permitem concluir que maiores modificações espectrais ocorrem quando a carga do surfactante responsável pela formação da micela é oposta à do íon do complexo formado entre o reagente cromogênico e o analito [99].

O surfactante catiônico brometo de N-cetil-N,N,N-trimetil amônio (CTAB) tem sido usado na determinação espectrofotométrica de estanho com violeta de pirocatecol (PCV). O complexo formado entre o PCV e o estanho (IV) em pH 2,5 é vermelho, com absortividade molar estimada em 6,5 x  $10^4$  L mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup> em 555 nm [100]. Em presença de CTAB o complexo formado é verde com absortividade molar de 1,0 x  $10^5$  L mol<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>, em 660 nm [96].

Para a determinação de estanho em ligas metálicas à base de cobre [96], tampão glicina pH =2,0 foi utilizado para manter o pH do meio e aumentar a sensibilidade. Os autores propuseram um método para determinação direta de estanho diferentemente de procedimentos propostos anteriormente. A separação prévia do estanho para eliminar efeito de matriz e/ou efeito de alguns interferentes não foi necessária. Um aumento na sensibilidade da reação é obtido na presença de dois surfactantes, CTAB e Tween-20 onde o complexo passa a ter um novo máximo de absorção, de 550 nm para 660 nm. O Violeta de pirocatecol não é um reagente seletivo para estanho, portanto foi necessário o uso de HEDTA que mascara possíveis íons interferentes tais como V (V), Mo (VI), Ti (IV) e Fe (III). O método foi aplicado para 5 amostras de ligas metálicas e os resultados concordam com aqueles obtidos pela determinação por ICP OES.

Mais uma vez, o uso de uma mistura de surfactantes foi usado para estudar as melhores condições para a determinação espectrofotométrica de Sn<sup>+4</sup>, neste caso, o vermelho de bromopirogalol (BPR) foi o complexante para a determinação do estanho em carnes enlatadas [14]. O complexo formado absorve a 304 nm na presença de dois surfactantes catiônicos; o brometo de cetiltrimetilamonio (CTAB) e o nonil-fenoxi-polietoxietanol (OP). Os autores comentaram que a melhor faixa de pH para trabalho é de 1,6 a 2,0, os reagentes devem ser adicionados antes da solução de trabalho (estoque ou amostra) e que o etanol se faz presente para estabilizar o sistema micelar. O complexo se mostra estável por 4 horas e a presença de nitrato e/ou EDTA como também Cr (VI), Fe (II), Sb (III), V(V), W(VI) e Mo(VI) causam interferência. Para eliminar os cátions interferentes os autores recomendam o uso de agentes redutores tais como ascorbato, citrato e/ou lactato. As amostras sofreram calcinação e as cinzas foram então solubilizadas em HCI antes da determinação. A exatidão do método proposto foi checada com o método de extração com iodeto e os métodos concordaram. A lei de Beer foi obedecida na faixa de 0,1 - 2,5 µg mL<sup>-1</sup>. O método foi aplicado e o teor de estanho encontrado foi de 282,5 µg g<sup>-1</sup> (RSD =2,7 %, n=5) com limite de deteccão 0.018 µg mL<sup>-1</sup>.

Devido às limitações de sensibilidade de algumas determinações espectrofotométricas, freqüentemente é necessário recorrer a etapas preliminares para separação e concentração dos elementos desejados, com conseqüente aumento de sensibilidade. Dentre esses procedimentos, pode-se citar a extração sólido-líquido [101]. Medidas de absorbância podem realizadas diretamente em um suporte sólido, no qual o analito foi retido levando a um grande aumento na sensibilidade, uma vez que não há necessidade de eluição.

O uso da espectrofotometria em fase sólida (EFS) vem crescendo devido à simplicidade, facilidade de automação e baixos limites de detecção que podem ser alcançados. Na EFS, uma matriz sólida é utilizada para retenção da espécie de interesse, permitindo a concentração do analito, que é acumulado em um pequeno volume da fase sólida. Além do aumento de sensibilidade, outras vantagens podem ser observadas, como a integração de etapas de reação, retenção e detecção; menor consumo de reagentes e aumento de seletividade.

A retenção do analito na fase sólida pode ocorrer devido à interação direta da espécie com a fase sólida, à retenção de um produto da reação entre o analito e um reagente [101], ou à retenção do analito por um reagente previamente imobilizado no suporte sólido. Assim como os procedimentos de pré-concentração em fase sólida, a EFS pode ser realizada em batelada ou em fluxo. Nos procedimentos em fluxo, utiliza-se uma coluna ou uma cela que possa ser adaptada diretamente no caminho óptico de um espectrofotômetro, sendo as medidas efetuadas simultaneamente à retenção da espécie de interesse. Desta forma, o tempo de análise é consideravelmente reduzido e as diferenças de empacotamento da fase sólida entre as medidas são evitadas [99].

Capitan – Vallvey *et al* [101] usaram a espectrofotometria em fase sólida empregando o FIA para a determinação de estanho em amostras de sucos de frutas enlatadas. O Sephadex QAE A-25 gel foi empregado como fase sólida para a concentração do complexo formado entre o Sn (IV) e o Violeta de Pirocatecol que absorve em 576 nm dentro da célula de fluxo. As amostras de sucos de frutas foram digeridas com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e HCI concentrados. O pH foi ajustado para pH=3 com o tampão ácido monocloroacético – acetato e o ácido monocloracético foi empregado como líquido carreador. Parâmetros físicos do sistema FIA foram otimizados e a exatidão do método foi checada com a determinação de Sn por AAS a qual não mostrou diferença significativa. O método apresentou bom limite de detecção 0,4 ng mL<sup>-1</sup> e teores de Sn para as três amostras de suco de frutas foram 260,2; 724,4 e 908,6 µg g<sup>-1</sup> respectivamente.

Zou et al [102] atrelaram as vantagens dos sistemas de injeção em fluxo (simplicidade, rapidez e reprodutibilidade), com o detector de carga acoplada, o qual melhora a precisão do sinal analítico e o uso de meio micelar na presença do CTAB como surfactante para a determinação simultânea de Sn, Mo e Ge em amostras de alimentos após digestão ácida empregando o saliciflurano.

Etilxantato de potássio foi o reagente utilizado para a determinação de estanho em amostras de armas de fogo, ligas metálicas e latas de estanho [103]. O complexo entre o Sn(II) e o etilxantato de potássio é amarelo e absorve a 360 nm. Parâmetros tais como volume do reagente, volume de HCI, tempo de reação e melhor extrator foram avaliados. As amostras foram solubilizadas em HCI concentrado com aquecimento condutivo. Clorofórmio foi o melhor solvente para extrair o complexo da solução aquosa. A reação não está livre de íons interferentes (Fe<sup>+2</sup>, Fe<sup>+3</sup>, Ni<sup>+2</sup>, V<sup>+5</sup>) e para mascará-los utilizou-se como mascarantes EDTA e ácido ascórbico. Estudos de adição e recuperação foram realizados e recuperações quantitativas foram obtidas.

A fluorescência é o resultado da absorção da radiação eletromagnética e emissão de parte desta radiação na forma de luz. A luz emitida tem, quase sempre, comprimento de onda maior do que a luz absorvida (lei de Stokes). Na fluorescência a absorção e a emissão ocorrem em um tempo curto, porém mensurável (10<sup>-12</sup> a 10<sup>-9</sup> s), uma vez que a molécula volta ao estado fundamental logo após a excitação. Quando uma molécula absorve um fóton de radiação ultravioleta, ela sofre uma transição a um estado eletrônico excitado e um de seus elétrons é promovido para um orbital de energia mais alta. Para que uma molécula emita radiação através da fluorescência, ela precisa, primeiro, ser capaz de absorver radiação eletromagnética [105]. Nem todas as moléculas que absorvem radiação na região do ultravioleta ou até mesmo do visível são fluorescentes. Algumas moléculas excitadas podem perder o excesso de energia por dissociação de uma ligação, o que pode levar a uma reação fotoquímica, ou podem retornar ao estado fundamental por outros mecanismos.

O número de espécies orgânicas que fluorescem é relativamente alto em detrimento aos compostos inorgânicos, devido à presença de ligações duplas. No caso dos metais, mais especificamente para o estanho, essa limitação é superada pela formação de complexos com compostos orgânicos apropriados a exemplo do agente complexante 8-hidroxiquinolina, ácido 8-hidroxiquinolina 5-sulfônico ou derivados deste como a oxina – ácido sulfônico [104], flavonol [105] e também derivados da flavona [106]. A seletividade para os métodos fluorimétricos é maior em relação à absorção no UV-Vis porque nem todas as espécies fluorescem e, porque dois comprimentos de onda são necessários (excitação e emissão).

A sensibilidade é outro parâmetro que aumenta, ou seja, a fluorimetria tem limites de detecção da ordem de 10<sup>3</sup> vezes menor que a absorção no UV-Vis. A fluorescência é afetada pelo pH da solução, pela natureza do solvente, pela concentração dos reagentes adicionados de íons orgânicos e algumas vezes, pela temperatura [105].

Além das vantagens relacionadas com a seletividade das reações fluorimétricas devido ao fato de poucas substâncias fluorescerem, alguns reagentes fluorimétricos são muito seletivos. O complexo formado entre o diacetilmonoxima nicotinilhidrazona (DMNH) e o estanho é bastante seletivo, sofrendo apenas interferência de Ti, Zr e Hf [15]. Este reagente foi empregado para a determinação de Sn em amostras de sucos enlatados com sucesso, uma vez que os metais citados acima não estão presentes nestes alimentos. O complexo formado com o Sn(IV) apresenta máximos de excitação e emissão a 420 e 520 nm, respectivamente, em pH 2,6 em tampão acetato. O método apresenta faixa linear de 5 a 150 ng L<sup>-1</sup> e LOD de 2 ng L<sup>-1</sup>. A interferência de Fe(III) é facilmente eliminada pela redução deste com cloridrato de hidroxilamina. Para a análise das amostras, estas foram submetidas à digestão com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. O teor de estanho nas amostras de sucos enlatados variou de 34,1 a 84,3 µg mL<sup>-1</sup> e testes de adição e recuperação foram realizados com recuperações de 96,7 a 104,1 %.

Na espectrofluorimetria, o uso de sistemas micelares heterogêneos aumenta a sensibilidade e reduzem o efeito de interferentes [97]. Na chamada espectrometria micelar, cada sistema cromogênico tem suas vantagens e desvantagens no que tange à sensibilidade, seletividade e rapidez, devido ao uso de diferentes reagentes cromogênicos e surfactantes. Para a determinação espectrométrica de estanho, a maioria dos reagentes cromogênicos é aniônica, sendo assim, os correspondentes surfactantes empregados são catiônicos. Em alguns casos, precipitados podem ser formados pela interação do reagente aniônico com o surfactante catiônico após aquecimento ou mesmo à temperatura ambiente. Como alternativa, o uso de uma mistura de surfactantes com concentração abaixo da concentração micelar crítica tem sido proposta evitando assim a turbidez da solução.

Reações de estanho em meio micelar por espectrofluormetria foram estudadas por Manzzori *et al* [107]. O complexo entre o Sn(II) e o 1-(2-piridilazo)-2-naftol (PAN) tem máximos de excitação e emissão a 300 e 360 nm respectivamente. A solução estoque de estanho foi preparada com SnCl<sub>2</sub> em HCI concentrado e cloreto de hidrazina diariamente uma vez que esta se mostrou estável apenas por 24 horas. Neste experimento, várias misturas de surfactantes foram testadas e a mistura composta por Triton X-100 e bis (2-etillhexil) sulfosuccionato (AOT) mostrou melhores sinais de intensidade e maior estabilidade. As amostras de suco de frutas foram

digeridas com  $H_2SO_4$  e as amostras de peixe foram calcinadas e solubilizadas com HCI e NaOH. Alumínio foi usado com agente redutor para reduzir todo o Sn (IV) para Sn(II). Para o estudo do tampão e do pH, a faixa de 3,0-5,0 não mostrou variação significativa no sinal analítico e o tampão glycina apresentou melhores sinais analíticos. Alguns íons como Cu(II), Co(II), Fe(II), Fe(III) e V(V) interferem na determinação, porém em concentração acima da concentração que estes estão presentes nas amostras. O método foi aplicado para quatro amostras de sucos de frutas e uma amostra de peixe enlatado. A precisão (RSD = 0,74%, n=5) e a exatidão foram checadas com ensaios de adição e recuperação. O limite de detecção para esta metodologia foi de 2,0 ng mL<sup>-1</sup>.

A fluorimetria foi usada por Jourquin *et al* [108] para determinação de estanho em amostras de creme dental uma vez que o fluoreto de estanho faz parte de sua composição. O complexo formado entre o Sn (IV) e o ácido 8-hidroxi-quinolina 5sulfônico (8HQSA) exibe máximos de excitação e emissão em 354 nm e 510 nm respectivamente. Esta reação ocorre em tampão acetato 0,5 mol L<sup>-1</sup>, pH = 5,2, em meio micelar hidro-orgânico [dimetilsulfóxido (DMSO) a 40% vv<sup>-1</sup>] e surfactante catiônico, que contribuem para aumentar a sensibilidade. Mais uma vez, o uso de surfactantes catiônicos foi otimizado. CTAB (brometo de cetiltrimetilamonio) e CPYC (cloreto de cetilpiridinio) foram os surfactantes estudados para promover o meio micelar. Os autores comentaram que melhores sinais de fluorescência eram obtidos quando as curvas de calibração e as amostras eram preparadas em solução desaeradas de HCl 1,0 mol L<sup>-1</sup>. O teor de estanho no creme dental foi de 0,22% (m m<sup>-</sup>). O limite de detecção foi de 1,0 µ mol. lodometria foi empregada para validar os resultados.

Nesta etapa do trabalho foi estudado e proposto um sistema de análise por injeção seqüencial (SIA) para a determinação fluorimétrica de Sn, empregando o reagente ácido 8-hidroxiquinolina-5-sulfonico (8-HQSA) em amostras de líquidos de conserva de doces enlatados sem tratamento prévio, consumidos na cidade do Porto – Portugal.

#### 4.3 Parte Experimental

#### 4.3.1 Reagentes

Todas as soluções foram preparadas usando reagentes de grau analítico. Água ultra pura com condutividade menor que 0,1  $\mu$ S cm<sup>-1</sup>. Solução de tampão acetato (ácido acético/íon acetato) foi preparada pela mistura da solução de ácido acético 1,0 mol L<sup>-1</sup> com solução de acetato de sódio 1,0 mol L<sup>-1</sup>. Solução de ácido 8-hidroxiquinolina-5-sulfonico (8-HQSA) 10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup> foi preparada por dissolução de 0,0059g desta em solução de tampão acetato 0,5 mol L<sup>-1</sup> 10% vv<sup>-1</sup> diariarmente e, a solução era protegida da luz após o seu preparo e durante o uso nas análises. Dimetil sulfóxido (DMSO) foi empregado sem diluição. A solução estoque 50 mg L<sup>-1</sup> foi preparada por apropriada diluição da solução 1000 mg L<sup>-1</sup> (Fluka) em HCl 1,0 vv<sup>-1</sup> para garantir a estabilidade do analito. As soluções padrões de estanho (2,5; 5,0; 7,5; 10 e 20 mg L<sup>-1</sup>) foram preparadas diariarmente por apropriada diluição da solução estoque de estanho 50 mg L<sup>-1</sup> em solução desaerada de CPYC 10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup> (cloreto de cetilpiridinium) em HCl 0,05 mol L<sup>-1</sup>. No estudo da influência dos surfactantes na reação de fluorescência brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB) e dodecilsulfato de sódio (SDS) também foram testados na mesma concentração do CPYC.

#### 4.3.2 Amostras

A resolução CNNPA nº 12 de 1978, [6] define doces em calda como um produto obtido de frutas inteiras ou em pedaços, com ou sem sementes ou caroços, com ou sem casca, cozidas em água e açúcar,envasados em lata ou vidro e submetido a um tratamento térmico adequado. O produto deve ser preparado com frutas sãs, limpas, isentas de matéria terrosa, de parasitos e de detritos animais ou vegetais. O produto não deve ser colorido ou aromatizado artificialmente. Pode ser adicionado de glicose e açúcar invertido. O espaço livre dos recipientes não deve ser superior a 300 mm Hg. Para este tipo de alimento, a maioria dos trabalhos encontrados na literatura

reporta a caracterização de propriedades sensoriais com a vida de prateleira do alimento enlatado. [109,9]

As amostras de doces de frutas em calda (abacaxi, lichia, pêra, alperce, damasco, goiaba, manga e salada de frutas) totalizando 8 amostras, foram adiquirdas em supermercados locais da cidade do Porto – Portugal e acondicionadas em local fresco, seco e arejado. As amostras foram analisadas após diluição adequada das mesmas em CPYC 10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup> em HCl 0,05 mol L<sup>-1</sup>.

#### 4.3.3 Instrumentos

As medidas de fluorescência foram realizadas num fluorímetro (Lab Alliance Fluorescence Detector) com uma célula de fluxo de 8µL. O percurso ótico foi de 1,0 cm. Os sinais analíticos foram armazenados em computador equipado com interface adequada com o sistema de detecção. O registro dos sinais analíticos foi efetuado num registrador Kipp & Zonne BD 111, devidamente acoplado ao fluorímetro.

As medidas de pH foram realizadas em potenciômetro da marca Metrohm Herisau, modelo pH-Meter E520, equipado com eletrodo de vidro combinado da mesma marca, modelo 6.0202.000.

A ligação entre válvulas seletoras de fluidos e o dispositivo de propulsão foi estabelecida através de interface adequada. O sistema SIA empregado para o estudo do método analítico que está esquematizado na Figura 28 consistia bomba peristáltica Gilson Minipuls 3, equipada com um tubo de PVC de bombeamento (1,2 mm de diâmetro interno) e uma válvula de seleção (Vici) com 8 portas de multi-posições. Nas ligações entre os diferentes dispositivos das montagens, utilizou-se tubo de PTFE, da marca Omnifit, com diâmetro interno de 0,8 mm. Esses tubos também foram utilizados numa configuração não linear em forma de oito para o tubo de reação. Esta era obtida por entrelaçamento do tubo em forma de sucessivos oitos ao longo de uma malha de plástico com 2 cm de lado.

O controle do sistema analítico, incluindo o funcionamento da bomba peristáltica e válvula de seleção, foi realizado por meio de um microcomputador Pentium I e uma placa de interface Advantech PCL 711b. O Software foi desenvolvido por Microsoft Quick-Basic que permitiu o controle da vazão, direção de fluxo, posição da válvula, volume de amostra e reagente bem como a aquisição de dados e processamento



Figura 28. T: transportador, P: bomba peristáltica, TA: tubo de armazenamento, VS: válvula seletora, D: detector, E: descarte, TR: tubo reator, A: amostra ou padrão,  $R_1$ : Dimetilsulfóxido,  $R_2$ : ácido 8-hydroxyquinolina-5-sulfônico

#### 4.4 Procedimento de injeção seqüencial

O procedimento para determinação de Sn em amostras de líquidos de conserva de doces de frutas enlatadas está sumarizado na Tabela 24. A primeira etapa do ciclo compreende a aspiração do transportador (tampão acetato pH= 5,2) para enchimento do sistema. Posteriormente, é aspirado o DMSO, seguido da amostra ou padrão e depois a 8-HQSA, todos esses reagentes são aspirados para o tubo de armazenamento. Por inversão do fluxo, os reagentes são propulsionados para o tubo reator com o auxílio do transportador e em seguida para o detector. O sistema é então limpo com a passagem da solução transportadora.

Etapa	Solução	Porta	Tempo	Direção	Vazão	Volume
			(s)		(mL min <sup>-1</sup> )	(μL)
1	tampão	8	30	propulsão	5,0	500
2	DMSO	5	1,5	aspiração	3,0	25
3	Amostra /padrão	6	9	aspiração	3,0	150
4	8 HQSA	7	1,5	aspiração	3,0	25
5	-	8	30	propulsão	3,0	-

Tabela 24. Procedimento em fluxo para a determinação de Sn em líquidos de conserva de frutas em calda enlatadas

#### 4.5 Método de Comparação

Na ausência de um procedimento de referência para a determinaçãode Sn em caldas doces de frutas enlatadas, o ensaio do método de comparação foi realizado por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS), com o equipamento modelo Perkin Elmer 4100ZL (PerkinElmer Instruments, Shelton,CT, E.U.A.) com correção de fundo efeito Zeeman longitudinal foi utilizado como sistema de detecção. Tubos de grafite aquecido transversalmente com plataforma L'vov foi utilizado para todos os experimentos. As soluções analíticas de referência foram preparadas em HNO<sub>3</sub> 2,0 % v v<sup>-1</sup> partindo da solução estoque Sn (Fluka). As amostras foram devidamente diluída no mesmo solvente. Em cada ciclo analítico uma alíquota de 5  $\mu$ L de uma solução de Pd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> e Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> foi utilizado como modificador de matriz. As condições instrumentais para a determinação de Sn são resumidos na Tabela 25.

		Programa de	aquecimento	Condições instrumentais		
	Rampa	Patamar	Temperatura	Fluxo de argônio	Comprimento de onda	286.3 nm
стара	(s)	(s)	(°C)	(mL min <sup>-1</sup> )	Tempo de integração	5 s
Secagem 1	1	20	110	250	Largura da fenda	0.7 nm
Secagem 2	5	30	130	250	Correção de fundo	LZeeman
Pirólise	10	20	1400	250	Gás inerte	Argon
Atomização	0	5	2200	0	Temperatura de injeção	20°C
Limpeza	1	4	2400	250	volume da amostra	20 µL
					Modo de medição	área de pico

### Tabela 25. Condições Operacionais para a determinação de Sn por GF AAS

#### 4.6 Resultados e discussão

Antes de proceder ao desenvolvimento e otimização de uma montagem de fluxo que permitisse a análise de Sn em amostras de líquidos de conserva de frutas em calda, avaliou-se a resposta da reação frente ao detector fluorimétrico em batelada, ou seja, fora do sistema em fluxo. O procedimento foi baseado na formação do complexo resultante da reação fluorimétrica entre o estanho e o reagente 8-HQSA, que exibe máximos de excitação e emissão em 354 nm e 510 nm, respectivamente. (Figura 29.) Esta reação ocorre na presença de dimetilsulfóxido (DMSO) e em tampão acetato 0,5 mol L<sup>-1</sup> pH = 5,2 e o sinal analítico aumenta na presença de um surfactante [108].



Figura 29. Espectros de excitação (a) o e emissão (b) para o complexo formado entre o Sn e a 8-HSQA

A investigação da reação entre o Sn e o reagente 8-HQSA foi realizada em diferentes meios orgânicos e com diferentes surfactantes: catônico, aniônco e neutro. Alguns solventes orgâncicos como metanol, clorofórmio, xyleno, propanol foram testados porém não foram obitidos resultados satisfatórios. Os surfactante Triton X-100 (neutro), SDS (aniônico) e CTAB e CPYC (catiôncos) foram os surfactantes testados em suas respectivas concentrações micelares críticas (CMC). Para avaliar o efeito desses sobre o sinal da fluorescência, foi construída uma curva de calibração em meio ácido na presença desses surfactantes. Foram obtidos sinais de fluorescência mais intensos e reprodutíveis na presença do CPYC. Assim, este foi o surfactante adotado para os estudos posteriores, o qual foi utilizado acima da sua CMC para evitar efeitos de diluição. A curva analítica de calibração foi construída em solução desaerada de CPYC 10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup> em HCI 0,05 mol L<sup>-1</sup>, pois o complexo formado entre o estanho e a 8-HSQA só mostra fluorescência em meio de ácido clorídrico.

Para viabilizar a determinação do Sn, estabeleceu-se uma montagem SIA com a configuração representada na Figura 28. Nesse sistema, uma alíquota da amostra (ou padrão) era injectada na solução de transporte do tampão acetato posteriormente a solução de DMSO, misturando-se em seguida com uma solução de 8-HQSA.

#### 4.6.1 Otimização dos parâmetros químicos

Os diferentes parâmetros da montagem SIA estabelecida foram otimizados pelo método univariado, de modo a obter o melhor compromisso entre sensibilidade, reprodutibilidade, repetibilidade, frequência de amostragem e economia de reagentes.

A influencia do volume de solução para a amostra/padrão sobre o sinal de fluorescência foi estudada para os valores 50, 100, 150 e 200  $\mu$ L e os resultados mostraram que os sinais analíticos aumentaram cerca de 2,5 vezes, até 150  $\mu$ L.. Além disso, volumes mais elevados, levou a picos irregulares, revelando problemas na mistura com os demais reagentes. Assim, a otimização realizada utilizando 150  $\mu$ L de padrão/amostra.

Com base na influência dos solventes orgânicos conhecidos sobre a fluorescência de complexos metálicos, DMSO foi utilizado com o objetivo de aumentar

a sensibilidade da determinação [108]. Esse efeito é complexo e é explicado não só pela polaridade do solvente, mas também pelas interações químicas que podem sofrer as moléculas do solvente [110]. A concentração do DMSO ideal é de 30% vv<sup>-1</sup> a qual foi utilizado concentrado para evitar efeitos de diluição [108]. O volume de DMSO foi estudada entre 0 e 100  $\mu$  L<sup>-1</sup> e um aumento na sensibilidade de cerca de 20% até 25  $\mu$ L foi observada. Acima deste volume, houve uma diminuição significativa do sinal provavelmente devido à diluição dos complexos formados relacionados com o volume excessivo.(Figura 30).



Figura 30. Variação do sinal analítico com o volume de DMSO concentrado. Os resultados referem-se a uma solução de calibração de 10,0 mg L<sup>-1</sup> de Sn

Avaliação da influência do volume e concentração HQSA foi realizado devido à sua importância na formação do complexo metálico. O volume de 8-HQSA foi estudado entre 15 e 100 μL e verificou-se que a resposta da fluorescência aumentou até 25 μL e acima desse volume houve uma significativa diminuição na sensibilidade (Figura 31). Para otimizar a concentração do reagente, utilizaram-se diferentes soluções de 8 HQSA (10<sup>-3</sup>, 10<sup>-4</sup>, 10<sup>-5</sup> e 10<sup>-6</sup> mol L<sup>-1</sup>) acima da concentração 10<sup>-3</sup> houve problemas de solubilidade visível do reagente de modo que não foi possível utilizar

soluções mais concentradas. No intervalo estudado, houve uma melhoria do sinal de fluorescência com a concentração de  $10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup>. Os demais estudos foram realizados com 25 µL de 8-HQSA  $10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup>.



Figura 31. Variação do sinal analítico com o volume de 8-HSQA  $10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup> concentrado. Os resultados referem-se a uma solução de calibração de 10,0 mg L<sup>-1</sup> de Sn

A fim de garantir a reação de complexação uma solução de tampão acetato 0,5 mol L<sup>-1</sup>, pH 5,2 foi utilizada como solução transportadora. O pH foi mantido nesse valor, a fim de evitar mudanças bruscas na sensibilidade devido a pequenas variações de pH em torno de 6. Além disso, em meio alcalino a 8-HQSA é fluorescente e, ao mesmo tempo a estabilidade do Sn pode ser comprometida.

#### 4.6.2 Otimização dos parâmetros físicos

Outros parâmetros importantes que afetam a magnitude do sinal analítico foram também estudados: fluxo de aspiração (1,0, 2,0; 3,0; 4,0 e 5,0 mL min <sup>-1</sup>), fluxo de propulsão (1,5, 2,0; 2,5 e 3,0 mL min <sup>-1</sup>), configuração do tubo reator (lisa, enrolado e em oito) e comprimento do tubo reator (0,5; 0,75; 1,0 e 2,0 m).

A configuração do tubo reator enrolado em oito sobre uma rede plástica e comprimento de 0,5 m permitiu estabelecer o melhor tempo de permanência na zona de reação dentro do sistema em fluxo, propiciando um desenvolvimento adequado da reação evitando, assim, a diluição excessiva do complexo formado.

Os resultados obtidos para a avaliação da taxa do fluxo de propulsão indicaram um aumento nos sinais analíticos de cerca de 1,5 vezes, quando a taxa foi variada de 1,0 para 3,0 mL min<sup>-1</sup>. O tempo de permanência excessiva para a menor taxa de fluxo testada levou a uma maior dispersão do produto formado e, consequentemente, uma diminuição dos sinais de fluorescência. Por tudo isso, a determinação foi realizada com uma taxa de fluxo de propulsão de 3,0 mL min<sup>-1</sup>.

O tempo de residência mais adequado foi avaliado pela determinação do efeito do tubo de reação sobre os sinais analíticos. Tubos reatores acima 0,5 m resultam na diminuição dos sinais analíticos como resultado de uma diluição excessiva do complexo formado. Das diferentes configurações testadas (em linha reta, enrolada, figura oito), o reator em oito resultou em maiores sinais analíticos no intervalo de concentração estudada, confirmando o fato de que há menor dispersão da zona de reação em seu caminho para o detector fluorescente. Para todos os estudos seguintes prosseguiu-se com um tubo reator em 8 com 0,5 m de comprimento.

As melhores condições para os parâmetros físicos e químicos estudados estão mostrados nas Tabela 26 e Tabela 27.

## Tabela 26. Parâmetros químicos estudados para a reação entre o Sn e a 8-HSQA em SIA. (Faixa e melhores condições)

Parâmetros	Faixas estudadas			Condição ótima	
8 HQSA (mol L <sup>-</sup> ) <sup>1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-3</sup>
surfactante	СТАВ	CPYC	Triton X -100	NaDS	СРҮС
DMSO	30 % vv <sup>-1</sup>	-	concentrado		concentrado
tampão			acetato, pH = 5,2		acetato, pH = 5,2

Parâmetros	Faixas estudadas				Condição ótima	
aspiração (mL min <sup>-1</sup> )	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	1,0
propulsão mL min <sup>-1</sup>	1,5	2,0	2,5	3,0	-	3,0
reator (m)	0,5	0,75	1,0	1,5	2,0	0,5

Tabela 27. Parâmetros físicos estudados para a reação entre o Sn e a 8-HSQA em SIA. (Faixa e melhores condições)

#### 4.6.3 Características Analíticas

Para avaliar a linearidade, a curva analítica do Sn foi construída em solução desaerada de CPYC  $10^{-3}$  mol L<sup>-1</sup> em HCl 0,05 mol L<sup>-1</sup> (0; 0,5; 1,0; 2,5; 5,0; 7,5; 10,0; 15,0; 20,0; 30,0 e 50,0 mg L<sup>-1</sup>). A curva mostrou linearidade de 0 a 20,0 mg L<sup>-1</sup> como mostrado na Figura 32. Os limites de detecção e de quantificação foram 0,a085 e 0,29 mg L<sup>-1</sup>, respectivamente. A precisão, medida como desvio padrão relativo (RSD) foi menor que 5% para todas as análises.



## Figura 32. Curva analítica de calibração para Sn CPYC 10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup> em HCI 0,05 mol L<sup>-1</sup>

#### 4.7 Aplicação

O método proposto foi então aplicado para 10 amostras de líqudos de conserva de frutas em calda enlatadas. As concentrações das amostras foram obtidas por interpolação na curva de calibração, previamente estabelecida, dos valores médios de fluorescência obtidos após o processamento de três alíquotas da mesma amostra.

A presença de ferro, como principal componente de aço, não é um problema por si mesmo, porque esta espécie normalmente não forma complexos fluorescentes com o reagente 8-HQSA. Isto se aplica também a outras espécies como Cu e Mn. O ajuste do pH da solução transportadora para 5,2, bem como a mudança dos sinais de excitação e emissão para comprimentos de onda de 354 nm e 510 respectivamente, permitiu criar condições desfavoráveis para a complexação de metais como AI e Zn que são possíveis interferente caso esteja presente nas amotras [111]. Diferenças não significativas (R.S.D. < 5.0%) foram obitdas para as análises feitas (n=5) das amostras com diferentes concentrações (1,43 e 59,13 mg L<sup>-1</sup>).(Tabela 28).

A validação do método analítico proposto, em termos de exatidão, foi efetuada por análise comparativa dos resultados pelo sistema SIA com os obtidos através da técnica da GF AAS. Para cada determinação foram calculados os desvios relativos, expressos em percentagem, para cada par de resultados os quais foram menores que 5,2 %. O teste t de Student emparelhado (paired t-test) foi aplicado aos valores obtidos. O valor calculado  $t_{calc}$ , comparado com o valor tabelado ( $t_{tab}$  para um teste bilateral – two tailed) para o nível de significância pretendido de 95% permitiram aceitar as diferenças registradas entre as médias das duas técnicas.( $t_{cal} =-0,39$ ;  $t_{tab}= 2,57$ ).

Amostras	SIA (mg L⁻¹)	GF AAS (mg L <sup>-1</sup> )	Erro relativo
Manga	<loq< td=""><td>0,46±0,07</td><td></td></loq<>	0,46±0,07	
Abacaxi 1	42,6±0,3	44,2±1,8	-3,8
Abacaxi 2	74,1±1,2	76,7±0,8	-3,4
Salada de frutas	26,3±0,7	26,5±1,5	-0,8
Mamão	269,8±2,5	256,5±2,5	+5,2
Damasco	153,4±0,8	157,0±1,4	-2,3
Goiaba	<loq< td=""><td>0,08±0,02</td><td></td></loq<>	0,08±0,02	
Lichia	25,7±0,6	26,7±0,1	-3,7
Alperce	<loq< td=""><td>0,23±0,12</td><td></td></loq<>	0,23±0,12	
Pera	58,5±0,3	57,5±0,2	+1,7

Tabela 28. Resultados da análise da concentração de Sn para amostras de líquidos de conserva de doces de frutas em calda.

 $LOQ = 0,29 \text{ mg } L^{-1}$ 

Para complementar a informação que foi possível extrair deste teste, os dois conjuntos de valores obtidos pela metodologia SIA, e pela técnica GF AAS, foram também comparados através de uma regressão linear do tipo SIA ( $mgL^{-1}$ ) = 1,048 (± 0,023)GF AAS ( $mgL^{-1}$ ) -3,71 (± 3,86). A concordância entre os dois métodos foi avaliada a partir do valor do coeficiente de correlação, R, e dos dois intervalos de confiança (para um nível de significância de 95%) para a coeficiente angular e para o coeficiente linear. O valor de R situou-se próximo de 1, (R=0,9952) e os valores para a os coeficientes angular coeficiente linear incluíam a unidade o zero [112].

Outro critério para avaliação dos resultados foi empregado do método desenvolvido. Quatro amostras analisadas foram submetidas a ensaios de adição e recuperação em 2 níveis de concentração. Alíquotas de solução de estanho foram adicionadas em algumas amostras de modo que a concentração final fosse 1,0 e 3,0 mg L<sup>-1</sup>. O estudo mostrou recuperações entre de 80 e 106 % para as amostras estudadas, de acordo com Tabela 29.

Amostras	Recuperação (%)		
	1,0 mg L <sup>-1</sup>	3,0 mg L <sup>-1</sup>	
papaia	100,0 ± 3,0	94,4 ± 7,0	
Salada de frutas	91,3 ± 6,7	105,6 ± 1,0	
pessêgo	80,6 ± 2,5	97,5 ± 5,4	
lichia	97,2 ± 7,1	84,9 ± 5,5	

Tabela 29. Estudo de adição e recuperação de Sn para amostras de líquidos de conserva de doces de frutas em calda.

Não houve diferença significativa (RSD <1,4%) para todas as réplicas (n = 15) das amostras analisadas com diferentes concentrações de Sn confirmando a repetibilidade dos procedimento desenvolvido.

#### 4.8 Considerações finais

Um método fluorimétrico rápido, eficiente, sensível e robusto foi desenvolvido para a determinação de estanho em amostras de líquidos de conserva de doces de frutas em calda. Dentre as várias vantagens do método proposto pode-se citar a introdução direta da amostra no sistema em fluxo sem a necessidade do tratamento prévio como extração [113,114,115], diluição [116,117] ou digestão [87] que consome muito tempo e manipulação da amostra. A utilização de uma câmera de mistura, altamente simplificada por fluxo reverso, mostrou-se importante para atender as condições ótimas de dissolução da amostra.

Outra grande vantagem da metodologia proposta é a rapidez do sistema SIA, com até 40 determinações por hora, utilização de pequenas quantidades de amostra (150 µL) e reagente (25 µL) e produção de apenas 5,0 mL de efluente por determinação.

O estudo de recuperação e a comparação com GF AAS confirmou a exatidão do método desenvolvido possibilitando a aplicação para a análise deste tipo de amostra.

A simplicidade do método desenvolvido e a ampla faixa de concentração (até 20 mg L<sup>-1</sup>) mostra também a aplicação para outras matrizes similares, com concentrações maiores, uma vez a metodologia permite a diluição da amostra em linha.

#### 5.0 Conclusões

A composição mineral das amostras de extrato de tomate é afetada quando este produto é conservado em geladeira por um período de 30 dias após aberto. O teor dos contaminantes inorgânicos avaliados neste trabalho demonstra que não é recomendável conservar este produto na embalagem após sua abertura em geladeira pois há alteração na composição mineral do produto: para alguns elementos, a exemplo do Fe, Sn, Ni e Cr. A embalagem em lata é a que mais é afetada principalmente para o teor de Fe. Essa contaminação pode estar atrelada ou não a presença destes constituintes na composição da lata.

A abordagem multivariada (PCA) permitiu a distinção das três marcas (A, C e Q) com a vida de prateleira e possibilitou determinar os parâmetros mais importantes para caracterizá-las. Os resultados demonstraram que AI, Ca, Cr, Cu, Mn e Ni foram os principais elementos para a discriminação entre as amostras. Com relação à distinção entre o tempo de estocagem para cada fornecedor das amostras, a PCA apontou que os elementos Fe, K, P são os responsáveis pela discriminação em todos os fornecedores.

A avaliação de estanho nas diferentes amostras estudadas pelas diferentes técnicas espectrométricas permitiu concluir que:

A técnica ICP OES possibilitou a determinação de Sn em amostras de extrato de tomate com a vida de prateleira de 5 meses. Apesar da pouca sensibilidade conferida as técnicas espectrométricas na determinação de estanho, esta foi realizada pela técnica ICP OES sem o uso de supressor de ionização e sem o uso de padrão interno, pois estes não melhoraram a sensibilidade para o estanho, porém fez-se necessário o uso de um sistema de introdução (nebulizador concêntrico e câmera ciclônica) que possibilita uma maior quantidade de amostra aumentando assim a sensibilidade. As linhas de emissão do estanho sofrem interferências de alguns elementos presentes na matriz extrato de tomate. As linhas 242,950 e 235,485nm sofrem interferência do Fe, a 226,983 nm do AI e a 283,998 nm do Cr apenas em altas concentrações. Deste modo, a linha 283,998 nm foi adotada para as determinações de estanho por apresentar também maior sensibilidade frente às outras linhas. O teor de estanho nas amostras de extrato de tomate aumentou com a vida de prateleira durante

os 5 meses. Pode-se inferir este aumento a presença do estanho na composião da lata. Porém, as amostras de extrato de tomate apresentam pouca homogeneidade o que confere altos desvios aos resultados e a não uniformidade crescente na concentração do estanho ao longo dos 5 meses estudados.

O emprego da técnica GF AAS possibilitou a determinação de Sn em apenas duas das sete amostras de azeite de oliva analisadas apesar das medidas serem realizadas sob as condições STPF (modificador químico Pd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, plataforma de L'vov e correção Zeemam). Foram testados dois procedimentos de pré-tratamento da amostras: digestão ácida e micro emulsões. As determinações empregando as micro emulsões não obtiveram êxitos pois estas produziram um baixo sinal para Sn e uma alta radiação de fundo, então, as digestãoes ácidas foram empregadas em todas as determinações. Os teores de estanho encontrados estavam abaixo do que é permitido pela legislação da ANVISA (250 μgg<sup>-1</sup>) e dos resultados reportados na literatura;

• A união entre o SIA e a fluorimetria permitiram a determinação de Sn em caldas de doces de frutas, empregando a 8-HSQA como reagente fluorimétrico. A metodologia apresentou comO vantagens o uso de uma pequena quantidade de amostras e reAgentes, a dispensa da etapa de pré-tratamento de amostras, baixos limite de detecção e baixo custo. O DMSO apresentou-se com o melhor solvente orgânico e o CPYC o melhor surfacante, estas substâncias são crucias para a formação do meio micelar no qual será formado o complexo. O teor de estanho nas amostras estavam abaixo do limite máximo permitido que é de 250 mg kg<sup>-1</sup> com exceção da amostra de calda de mamão com teor de 269,8±2,5 mg kg<sup>-1</sup>.

#### 6.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] DANTAS, S. T. Embalagens metálicas e sua interação comalimentos e bebidas. Campinas, SP: CETEA/IT AL ,1999.

[2] CSN, Companhia Siderúrgica Nacional. Folhas metálicas. [2002].

[3] DATAMARK. **Mercado de embalagens por material 2005.** Disponível em: < http://www.datamark.com.br/newdatamark/ASP/FS/fs\_pk\_p.asp >. Acesso em: 23 de abr. 2010.

[4] BLUNDEN, S.; WALLACE, T.; Tin in canned food: a review and understanding of occurrence and effect, **Food and Chemical**, v. 41, p. 1651, 2003

[5] ANVISA – Agência de vigilância sanitária
 <u>http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP%5B8996-1-0%5D.PDF</u>, Acesso em:
 26.04.2010

[6] Resolução CNNPA n°12, de 1978. Disponível em :< http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12\_78\_extrato.htm >.Acesso em: 26.04.2010

[7] LEITÃO, M.F.F. Microbiologia de sucos, polpas e produtos ácidos. In:SOLER, M.P. et al. **Manual técnico de industrialização de frutas**. Campinas: ITAL, 1986. 278p.

[8] JAIME, S. B. M.; ALVES, R. M. V.; SEGANTINI, E.;. ANJOS, V. D. A, MORI, E.
E.E. Estabilidade do molho de tomate em diferentes embalagens de consumo. Ciência
e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v. 18, n. 2, p. 1998

[9] ANJOS, V. D. A.; ORTIZ, S. A.; SARON, E. S.; JAIME, S. B. M.; BARBIERI, M. K. Estabilidade do Purê de Tomate em Embalagens de Consumo: Aspectos Sensoriais. Brazilian Journal of Food Technology., v.6, p. 171-177, 2003 [10] LEVORATO, J.; SOUSA, M.; RACOWSKI, I. Avaliação microbiológica em latas de extrato de tomate. **Revista Analytica** n.33, p. 62-70, 2008

[11] NAGY, S.; NIKDEL, S. Tin, Iron, and Aluminum Contents of Commercially Canned Single-Strength Grapeftuit Juice Stored at Varying Temperatures. **Jounal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 34, p. 588-593,1986

[12] BOOGAARD, P. J.; BOISSET, M.; BLUNDEN, S.; DAVIES, S.; ONG, T. J.; TAVERNE, J. P. Comparative assessment of gastrointestinal irritant potency in man of tin(II) chloride and tin migrated from packaging. **Food and Chemical Toxicology**, v.41, p. 1663–1670, 2003

[13] 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, 2006. 282p.

[14] HUANG, X.; ZHANG, W.; HAN, S.; WANG, X. Determination of tin in canned foods by UV/visible spectrophotometric technique using mixed surfactants. **Talanta**, v. 44, p. 817-822, 1997

[15] RUBIO, S.; GOMEZ-HENS, A.; VALCARCEL, M. Fluorimetric determination of tin at the nanogram per milliliter level in canned beverages, **Analyst**, v. 110, p. 43–47, 1985

[16] ODUOZA, C. F. Studies of food value and contaminants in canned foods. **Food Chemistry**, v.44, p. 9-12, 1992

[17] GÁSPÁR, A.; BERNDT, H. Thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry (TS-FF-AAS) – a simple method for trace element determination with microsamples in the mg/L concentration range. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 55, p. 587-597, 2000

[18]LOBO, F. Desenvolvimento de sistemas de injeção em fluxo para determinação de estanho por espectrometria de absorção atômica com forno

aquecido na chama, em amostras alimentícias enlatadas. Dissertação de mestrado. 109 p, 2005.

[19] SEOW, C. C.; RAHMAN, A. Z.; AZIZ, N. A. A. Iron an tin content of canned fruit juices and nectars. **Food Chemistry**, v.14, p.125-134, 1984

[20] GHOLIVANDA, M.B.; BABAKHANIANA, A.; RAFIEEB, E., Determination of Sn(II) and Sn(IV) after mixed micelle-mediated cloud point extraction using  $\alpha$ -polyoxometalate as a complexing agent by flame atomic absorption spectrometry, **Talanta**, v.76, p. 503–508, 2008.

[21] DETCHEVA, A.; GROBECKER, K. H. Determination of Hg, Cd, Mn, Pb and Sn in seafood by solid sampling Zeeman atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica** Acta Part B, v. 61, p. 454–459, 2006

[22] ALLEN, L. B.; SIITONEN, P. H.; THOMPSON, H. C. Jr. Methods for the Determination of Arsenic, Cadmiu, Copper, Lead, and Tin in Sucrose, Corn Syrups, and High-Fructose Corn Syrups by Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry. Journal of Agricultural and Food Chemistry. v. 45, p. 162-165, 1997

[23] PERRING, L.; BASIC-DVORZAK, M. Determination of total tin in canned food using inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 374, p. 235-243, 2002.

[24] TODOLI, J. L.; GRAS, L.; HERNANDIS, V.; MORA, J. Elemental matrix effects in ICP-AES. Journal of Analytical Atomic Spectrometry, v. 17, p.142–169, 2002

[25] TODOLÍ, J. L.; MERMET, J. M.; . Acid interferences in atomic spectrometry: analyte signal effects and subsequent reduction **Spetrochimica Acta Part B**, v.54, p.895-929, 1999.

[26] PAREDES, E. ;MAESTRE, S. E. ; TODOLÍ, J. L. A new continuous calibration method for inductively coupled plasma spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v.384, n. 2, p.531-541, 2006.

[27] GROTTI, M; LEARDI, R.; FRACHE, R. Combined effects of inorganic acids in inductively coupled plasma optical emission spectrometry. Spectrochimica Acta Part
 B, v. 57, n. 12, p. 1915-1924, 2002

[28] GROTTI, M.; IANNI, C.; FRACHE, R. Inductively coupled plasma optical emission spectrometric determination of trace elements in sediments after sequential selective extraction: effects of reagents and major elements on the analytical signal. **Talanta**, v. 57, p. 1053-1066, 2002

[29] SILVA, V. S., MARTINS, J. C.; NHAM, T.T.; WISEMAN, A. G. Uma nova tocha para análise de amostras com alto teor de sólidos dissolvidos pro espectrometria de emissão óptica com plasma induzido com configuração axial. **Revista Analytica**, n.15, p. 48-54, 2005.

[30] TREVIZAN, L. C.; VIEIRA, E. C; NOGUEIRA, A. R. A.; NÓBREGA, J. A. Use of fatorial design for evaluation of plasma conditions and comparison of two liquid sample introduction systems for na axially viewed inductively coupled plasma optical emission spectrometer. **Spectrochimica Acta Part B**, n. 60, p. 575-581, 2005.

[31] BRENNER, I.B.; ZANDER, A.T. Axially and radially viewed inductively coupled plasmas – a critical review. **Spectrochimica Acta Part B**, n. 55, p. 1195-1240, 2000.

[32] MERMET, J.M. Qualities related to spectra acquisition in inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 56, p. 1657-1672, 2001.

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

[34] GROTTI, M.; MAGI, E.; LEARDI, R., Selection of internal standards in inductively coupled plasma atomic emission spectrometry by principal component analysis, **Journal Of Analytical Atomic Spectrometry**, v.18, p. 274-281, 2003

[35] FERNANDES, K. G.; MORAES, M.; GOMES, J. A. N.; NÓBREGA, J. A.;
 OLIVEIRA, P., Padronização interna em espectrofotometria de absorção atômica,
 Química Nova, v.26, nº 2, p. 249-252, 2003.

[36] MONTASER, A.; GOLIGHTLY, D. W. Inductively Coupled Plasma in Analytical Atomic Spectrometry, Second Edition. New York :VCH Publishers, 1996

[37] BEEBE, K.; PELL, R.; SEAHOLTS, N.B.; Chemometric: A practical guide. Ed. John Wiley & Sons, New York, 1998.

[38] BRERETON, R.G. Chemometrics: Data analysis for the laboratory and chemical plant. John Wiley & Sons, New York, 2002.

[39] ALAM, T. M.; ALAM M.K. "Chemometrics analysis of nuclear magnetic ressonance spectroscopy data". *Spectroscopy.*, v.16, p. 19, 2001.

[40] BRESCIA, M.A.; CALDAROLA, V.; De GIGLIO, A.; BENEDETTI, D.; FANIZZI, F.P.; SACCO, A. "Characterization of geographical origin of Italian red wines base don traditional and nuclear magnetic resonance spectrometric determinations". **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 458, p.177, 2002.

[41] MAGKOS, F.; ARVANITI, F.; ZAMPELAS, A. "Organic food: buying more safety or just peace of mind? A critical review of the literature." **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 46: p. 23, 2006.

[42] <u>http://www.inmetro.gov.br/consumidor/produtos/azeite.asp</u>, acessado em 02 de janeiro de 2010

[43] CODEX ALIMENTARIUS, Codex Standard for Tables Olives, Codex Stan 66, 19p. 1998

[44] Acessado em 30.01.2010 http://www.argos.org.br/argos/index.php?option=com\_content&task=view&id=103&Ite mid=174

[45] GARCIA, P., ROMERO, C., BRENES, M., & GARRIDO, A. Validation of a method for the analysis of iron and manganese in table olives by flame atomic absorption spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 3654–3659, 2002

[46] SOARES, M. E., PEREIRA, J. A., & BASTOS, M. L. Validation of a method to quantify copper and other metals in olive fruit by ETAAS. Application to the residual metal control after olive tree treatments with different copper formulations. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 3923–3928, 2006

[47] MÉNDEZ, A. I.; FALQUÉ, E. Effect of storage time and container type on the quality of extra-virgin olive oil. **Food Control,** v. 18, p. 521-529, 2007

[48] ANTHEMIDIS, A. N., ARVANITIDIS, V., & STRATIS, J. A. On-line emulsion formation and multi-element analysis of edible oils by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 537, p. 271–278, 2005

[49] ANGIONI, A., CABITZA, M., RUSSO, M. T., & CABONI, P. Influence of olive cultivars and period of harvest on the contents of Cu, Cd, Pb, and Zn in virgin olive oils. **Food Chemistry**, v. 99, p. 525–529, 2006

[50] JIMENEZ, M. S., VELARTE, R., & CASTILLO, J. R. On-line emulsion of olive samples and ICP-MS multi-elemental determination. Journal of Analytical Atomic Spectrometry, v. 18, p. 1154–1162, 2003

[51] ZEINER, M., STEFFAN, I., & CINDRIC, I. Determination of trace elements in olive oil by ICP-AES and ETA-AAS: a pilot study on the geographical characterization. **Microchemical Journal**, v.81, p. 171–176, 2005

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

[53] HAUG, H. O.; YIPING, L., Automated determination of tin by hydride generation using *in situ* trapping on stable coatings in graphite furnace atomic absorption spectrometry, **Spectrochimica Acta Part B**, v. 50, p. 1311-1324, 1995.

[54] ZHANG, B.; WANG, Y.; WANG, X.; CHEN, X.; FENG, J. Determination of antimony, arsenic, bismuth, selenium, tellurium and tin by low pressure atomic absorption spectrometry with a quartz tube furnace atomizer and hydride generation with air addition, **Talanta**, v. 42, p.1095-1098, 1995.

[55] TAO, G. & FANG, Z. Electrothermal atomic absorption spectrometric determination of ultra-trace amounts of tin by in situ preconcentration in a graphite tube using flow injection hydride generation with on-line ion-exchange separation, **Talanta**, v. 42, p. 375 383, 1995

[56] NAVARRO, P.; RAPOSO, J. C.; ARANA, G.; ETXEBARRIA, N. Optimisation of microwave assisted digestion of sediments and determination of Sn and Hg. **Analytica Chimica Acta**, v. 566, p. 37-44, 2006

[57] MAGALHÃES, C. E. C.; ARRUDA, M. A. Z. Amostragem de suspensão: emprego da técnica na análise direta de amostra., **Química Nova**, p. 21, n. 4, p. 459-466, 1998.

[58] SILVA, M. M.; GORETI, M.; VALE, R.; CAMARÃO, E.B. Slurry sampling graphite furnace atomic absortion spectrometry: determination of trace metals in minerals coal. **Talanta**, v. 50, p. 1035-1043, 1999.

[59] AUCÉLIO, R. Q.; CURTIS, A. J.; WELZ, B. Sequential determination of Sb and Sn in used lubricating oil by electrothermal atomic absorption spectrometry using Ru as a permanent modifier and microemulsion sample introduction. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 15, p. 1389 – 1393, 2000

[60] BARCIELA-ALONSO, M.C.; PAZOS-CAPEÁNS, P.; REGUEIRA-MIGUENS, M.E.; BERMEJO-BARRERA, A.; BERMEJO-BARRERA, P. Study of cadmium, lead and tin distribution in surface marine sediment samples from Ria de Arousa (NW of Spain) **Analytica Chimica Acta**, v. 524, p. 115–120, 2004

[61] CARRION, N.; ITRIAGO, A. M.; ALVAREZ, M. A.; ELIAS, E. Simultaneous determination of lead, nickel, tin and copper in aluminium-base alloys using slurry sampling by electrical discharge and multielement ETAAS. **Talanta**, v. 61, p. 621-632, 2003

[62] LÓPEZ-GARCIA, I.; ARNAU-JEREZ, I.; CAMPILLO, N.; HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, M. Determination of tin and titanium in soils, sediments and sludges using electrothermal atomic absorption spectrometry with slurry sample introduction. **Talanta**, v. 62, p. 413–419, 2004

[63] DETCHEVA, A.; GROBECKER, K. H. Determination of Hg, Cd, Mn, Pb and Sn in seafood by solid sampling Zeeman atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica** Acta B, v. 61, p. 454–459, 2006

[64] ARAMBARRI, I.; GARCIA, R.; MILLÁN, E. Application of experimental design in a method for screening sediments for global determination of organic tin by electrothermal atomic absorption spectrometry (ETAAS). **Fresenius' Journal of Analytical Chemistry**, v. 371, p. 955–960, 2001
[65] WELZ, B.; Sperling, M. Atomic Absorption Spectrometry, 3<sup>a</sup> edição, New York: Wiley-VCH, Weinheim, 1999.

[66] CARRION, N.; ITRIAGO, A. M.; ALVAREZ, M. A.; ELIAS, E. Simultaneous determination of lead, nickel, tin and copper in aluminium-base alloys using slurry sampling by electrical discharge and multielement ETAAS. **Talanta**, v. 61, p. 621-632, 2003.

[67] AUCÉLIO, R. Q.; CURTIS, A. J.; WELZ, B. Sequential determination of Sb and Sn in used lubricating oil by electrothermal atomic absorption spectrometry using Ru as a permanent modifier and microemulsion sample introduction. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 15, p. 1389 – 1393, 2000

[68] LÓPEZ-GARCIA, I.; ARNAU-JEREZ, I.; CAMPILLO, N.; HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, M. Determination of tin and titanium in soils, sediments and sludges using toelectrothermal atomic absorption spectrometry with slurry sample introduction. **Talanta**, v. 62, p. 413–419, 2004

[69] LOPES, A. S.; ARRUDA, M. A. Z. Determination of tin and lead in sediment slurries by graphite furnace atomic absorption spectrometry, **Microchima Acta**, v. 164, p. 445–451, 2009

[70] ARAMBARRI, I.; GARCIA, R.; MILLÁN, E. Application of experimental design in a method for screening sediments for global determination of organic tin by electrothermal atomic absorption spectrometry (ETAAS). **Fresenius' Journal of Analytical Chemistry**, v.371, p. 955–960, 2001

[71] LÓPEZ-GARCIA, I.; ARNAU-JEREZ, I.; CAMPILLO, N.; HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, M. Determination of tin and titanium in soils, sediments and sludges using electrothermal atomic absorption spectrometry with slurry sample introduction. **Talanta**, v. 62, p. 413–419, 2004 [72] DETCHEVA, A.; GROBECKER, K. H. Determination of Hg, Cd, Mn, Pb and Sn in seafood by solid sampling Zeeman atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B** v. 61, p. 454–459, 2006

[73]BEATY, R.D.; KERBER, J.D. Concepts, Instrumentation and Techniques in Atomic Absorption Spectrophotometry. 2 ed. The Perkin Elmer Co., 1993

[74] WELZ, B. & SPERLING, M. Atomic Absorption Spectrometry. 3<sup>a</sup> ed. Weinheim, Wiley-VCH, 1999.

[75] SABA, C. S.; RHINE, W. E.; EISENTRAUT, K. J., Determination of wear metals in aircraft lubricating oils by atomic absorption spectrophotometry using a graphite furnace atomizer, **Applied Spectroscopy**, v. 39, p. 689- 693, 1985.

[76] XIE, H.; HUANG, K.; LIU, J.; NIE, X.; FU, L. Determination of trace elements in residual oil by high-resolution inductively coupled plasma mass spectrometry, **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 393, p. 2075–2080, 2009

[77] AUCELIO, R. Q.; CURTIUS, A. J. ; WELZ, B. Sequential determination of Sb and Sn in used lubricating oil by electrothermal atomic absorption spectrometry using Ru as a permanent modifer and microemulsion sample introduction, **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 15, p. 1389 -1393, 2000

[78] MENDIL, D.; ULUÖZLÜ, O. D.; TÜZEN, M.; SOYLAK, M. Investigation of the levels of some element in edible oil samples produced in Turkey by atomic absorption spectrometry. **Journal of Hazardous Materials**, v. 165, p. 724–728, 2009

[79] CINDRIC, I. J.; ZEINER, M.; STEFFAN, I.Trace elemental characterization of edible oils by ICP-AES and GFAAS. **Microchemical Journal**, v. 85, p. 136–139, 2007

[80] ZEINERA, M.; STEFFANA, I.; CINDRIC, I.J. Determination of trace elements in olive oil by ICP-AES and ETA-AAS: A pilot study on the geographical characterization, **Microchemical Journal**, v. 81, p. 171–176, 2005

[81] SAHAN, Y.; BASOGLU, F.; GUCER, S. ICP-MS analysis of a series of metals (Namely: Mg, Cr, Co, Ni, Fe,Cu, Zn, Sn, Cd and Pb) in black and green olive samples from Bursa, Turkey. **Food Chemistry**, v. 105, p. 395–399, 2007

[82] GARCIA, P.; ROMERO, C.; BRENES, M.; GARRIDO, A. Validation of a method for the analysis of iron and manganese in table olives by flame atomic absorption spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 3654–3659, 2002

[83] SOARES, M. E., PEREIRA, J. A., & BASTOS, M. L. Validation of a method to quantify copper and other metals in olive fruit by ETAAS. Application to the residual metal control after olive tree treatments with different copper formulations. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, 3923–3928, 2006

[84] NÓBREGA, J. A; COSTA, L. M.; SANTOS, D. M. Preparo de amostras usando forno de micro-ondas com radiação focalizada, **Revista Analytica**, nº 01, p. 32-37, 2002

[85] KUMPULAINEN, J. Determination of chromium in human – milk and urine by graphite – furnace atomic – absorption spectrometry, **Analytica Chimica Acta**, v. 113, p. 355-359, 1980

[86] ALKANANI, T.;FRIEL,K. J.; JACKSON, S. E.; LONGERICHT, H.P. Comparison between Digestion Procedures for the Multielemental Analysis of Milk by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry, **Journal Agriculture Food Chemistry**, v. 42, p.1965-1970, 1994

[87] PUROHIT, R.; DEVI, S., Determination of trace amounts of nickel by chelating ionexchange and online enrichment in flow-injection spectrophotometry, **Analyst**, v. 120, p. 555-559, 1995.

[88] PINTO, P.C.A.G.; SARAIVA, M. L. M.F.S.; LIMA, J. L.F.C. A flow sampling strategy for the analysis of oil samples without pre-treatment in a sequential injection analysis system, **Analytica Chimica Acta**, v. 555, p. 377, 2006

[89] SARAIVA, L. M. F. S. **Desenvolvimento sistemas baseados na análise por injeção seqüencial**, **1999.** Aplicação a produtos alimentares. Tese (Doutorado em Química), Universidade do Porto, Porto, Portugal.

[90] BARNETT, N. W.; LENEHAN, C. E.; LEWIS, S. W., Sequential injection analysis: an alternative approach to process analytical chemistry, **Trends in Analytical Chemistry**, v. 18, n. 5, 346-353, 1999.

[91] RUZICKA, J.; MARSHALL, G. D., Sequential injection: a new concept for chemical sensors, process analysis and laboratory assays, **Analytica Chimica Acta**, v. 237, p. 329-343,1990.

[92] ECONOMOU, A.,Sequential-injection analysis (SIA): A useful tool for on-line sample-handing and pre-treatment, **Trends in Analytical Chemistry**, v. 24, n. 5, 416-425, 2005.

[93] SNELL, F. D. Photometric and Fluorimetric: Methods of Analysis Metals, PartI. Jonh Wiley Sons, Canada, 1978

[94] GUTIERREZ, A. M.; CONDE, C. P.; REBOLLAR, M. P.; DIEZ, L. M. P. A rapid extractive spectrophotometric method for determination of tin in canned foods with 5,7 – dichloro 8- quinolinol. **Talanta**, v. 32, p. 927 – 929, 1985

[95] MADRAKIAN, T.; AFKHAMI, A.; MOEINA, R.; BAHRAM, M. Simultaneous spectrophotometric determination of Sn(II) and Sn(IV) by mean centering of ratio kinetic profiles and partial least squares methods, **Talanta**, v. 72, p. 1847-1852, 2007

[96] COSTA, A. C. S.; TEIXEIRA, L. S. G.; FERREIRA, S. L. C. Spectrophotometric determination of tin in copper-based alloys using Pyrocatechol Violet. **Talanta**, v. 42, p. 1973-1978, 1995

[97] MANIASSO, N. Ambientes micelares em química analítica. **Química Nova**, v. 24, p. 87 – 93, 2001

[98] TEIXEIRA, L. S. G.; COSTA, A. C. S.; FERREIRA, S. L. C.; FREITAS, M. L.; CARVALHO, M. S. Journal of Brazilian Chemical Society, v. 10, p. 519, 1999

[99] ROCHA, F. R. P.; TEIXEIRA, L. S. G. Estratégias para aumento da sensibilidade em espectrofotometria UV-VIS. **Química Nova**, v. 27, p. 807-812, 2004

[100] ROSS, W. J.; WHITE, J. C. Application of pyrocatechol violet as a colorimetric reagent for tin. **Analytical Chemistry,** v.33, p. 421 - 424, 1961

[101] CAPITAN – VALLVEY, L. F.; VALENCA, M. C.; MIRÓN, G. Flow – injection method for the determination of tin in fruit juices using solid – phase spectrometry. **Analytca Chimica Acta**, v. 289, p. 365-370, 1994.

[102] ZOU, X.; LI, Y.; LI, M.; ZHENG, B.; YANG, J. Simultaneous determination of tin, germanium and molybdenum by diode array detection–flow injection analysis with partial least squares calibration model. **Talanta**, v.62, p. 719–725, 2004

[103] ARYA, S. P.; BANSAL, A. Rapid selective method for the spectrometric determination of tin using potassium ethylxanthate. **Microchimica Acta**, v. 116, p. 63-71, 1994

[104] PAL, B.K.; RYAN, D.E.; Fluorescence and metallic valency states. Part III. Determination of tin. **Analytca Chimica Acta,** v. 48, p. 227–331,1969

[105] SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de Análise Instrumental**. 5<sup>a</sup> edição. (Tradução Ignez Caracelli, revisão técnica Célio Pasquini). Porto Alegre: Bookman, 2002.

[106] LEAL, C.; GRANADOS, M.; PRAT, M.D.; COMPAFI, R. Labelling of organotin compounds for fluorimetric detection. **Talanta**, v. 42, p. 1165-1170, 1995

[107] MANZOORI, J. L.; AMJADI, M.; ABOLHASANI, D. Spectrofluorimetric determination of tin in canned foods. **Journal of Hazardous Materials**, v. 137b, p. 1631–1635, 2006

[108] JOURQUIN, G.; MAHEDERO, M. C.; PAREDES, S.; VIRE, J. C. E KAUFFMANN, J. M. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. v.14, p. 967 – 975, 1996

[109] DANTAS, S. T. Estudo de latas eletrossoldadas para acondicionamento de ervilha, extrato de tomate e pessego em calda, **Tese de douoraddo**, Unicamp, 1998, 219p

[110] LAKOWICZ, J. R. **Principles of Fluorescence Spectroscopy**, Plenum Press, NewYork, 1983, (chapter 7).

[111] SOROKA, K.; VITHANAGE, R. S.; PHILLIPS, D. A.; WALKER, B.; DASGUPTA, P.K., Fluorescence properties of metal complexes of 8-hydroxyquinoline-5-sulfonic acid and chromatographic applications, **Analytical Chemistry.**, v. 59, p. 629-636, 1987

[112] MILLER, J.N. Basic statistical-methods for analytical-chemistry .2. calibration and regression methods - A review, **Analyst**, v. 116, p.3-14, 1991.

[113] PÉREZ - RUIZ, T.; MARTÍNEZ - LOZANO, C.; TOMÁS, V.; VAL, O. Fluorimetric flow-injection determination of hydroperoxides in foodstuffs, **Food Chemistry**, v. 46, p. 301, 1993.

[114] ZHI, Z.; RIOS, A.; VALCÁRCEL, M. An automated flow-reversal injection/liquid liquid extraction approach to the direct determination of total free fatty acids in olive oils, **Analytica Chimica Acta**, v. 318, p. 187, 1996.

[115] ANTHEMIDIS, A. N.; ARVANITIDOS, V.; STRATIS, J. A. On-line emulsion formation and multi-element analysis of edible oils by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry, **Analytica Chimica Acta**, v. 537, p. 271, 2005.

[116] CÃNIZARES, M.P.; TENA, M. T.; CASTRO, M. D. L. On line coupling of a liquidliquid extraction flow-reversal system to a spectrophotometric flow-through sensor for the determination of polyphenols in olive oil, **Analytica Chimica Acta**, v. 323, p. 55, 1996.

[117] THOMAIDIS, N.S.; GEORGIOU, C. A. Direct parallel flow injection multichannel spectrophotometric determination of olive oil iodine value, **Analytica Chimica Acta**, v. 405, p. 239, 2000.