UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

INSTITUTO DE QUÍMICA

DETERMINAÇÃO DE NUTRIENTES E CONTAMINANTES INORGÂNICOS EM CAFÉ SOLÚVEL POR ESPECTROMETRIA DE EMISSÃO ATÔMICA COM PLASMA DE ARGÔNIO INDUZIDO (ICP-AES)

ÉDER JOSÉ DOS SANTOS Mestrado: Química Analítica Orientadora: Profa. Dra. Elisabeth de Oliveira

SÃO PAULO

1999

"Determinação de Nutrientes e Contaminantes Inorgânicos em Café Solúvel por Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma de Argônio Induzido (ICP-AES)".

ÉDER JOSÉ DOS SANTOS

Dissertação de Mestrado submetida ao Instituto de Química da Universidade de São Paulo como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Ciências - Área: Química Analítica.

Aprovado por:

Profa. Dra. ELISABETH DE OLIVEIRA IQ - USP (Orientadora e Presidente)

Profa. Dra. MARIA ENCARNACIÓN VÁZQUEZ SUÁREZ IHA IQ - USP

Prof. Dr. NIVALDO BACCAN IQ - UNICAMP

SÃO PAULO 07 DE ABRIL DE 1999.

Algumas pessoas vêem as coisas e perguntam por quê?

Eu sonho com coisas e digo por que não?

(Robert Bernard Shaw)

À Dariene e a minha familia

À minha irmã Tânia que tenho certeza sempre esteve comigo assim como os meus amigos Rita e Sérgio (in memorian)

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todas as pessoas que direta ou indiretamente contribuíram por pensamento ou atos, para a realização deste trabalho e em especial:

À profa. Dra. Elisabeth de Oliveira, pela orientação, paciência em todos os momentos difíceis e especialmente pela amizade demonstrada;

Ao Instituto de Tecnologia do Paraná (TECPAR), pelo apoio financeiro e valiosa oportunidade de desenvolvimento do presente trabalho;

À Maria Paula Assis Yamada, gerente do Núcleo de Qualidade em Saúde e Ambiente pelo apoio valioso;

À Quelcy Barreiros Corrêa, gerente do laboratório de Tecnologia e Química Ambiental pelo apoio e principalmente pela amizade;

A todos os colegas do Núcleo de Qualidade em Saúde e Ambiente pelo incentivo e constante apoio;

Aos amigos Anice, Carmen, Lenita, Suzete e Carlos Fior pelas sugestões, ajudas e incentivos;

A Alexandre Akira Takamatsu pelo constante apoio e muito mais pela nossa amizade;

A Bill Jorge Costa pelas revisões dos trabalhos publicados e amizade sincera;

A Cesar Antonio Lenz pelo nosso idealismo, amizade e constante apoio em todas as horas;

A Natalicio Ferreira Leite, pelo treinamento de operação do espectrômetro e principalmente pela amizade demonstrada;

A Lúcio Bolognesi pelo apoio e amizade sincera;

Aos colegas da USP, pela amizade e apoio durante os estudos;

A José Soares e Karem pela grande amizade;

Aos professores Dr.Nivaldo Baccan e Dr.Roy Edward Bruns, do Instituto de Química da UNICAMP (Campinas) e Dr. Jaim Lichtig do Instituto de Química da USP (São Paulo), pelas sugestões e constante disposição em colaborar;

Ao CNPq pela bolsa de estudo concedida.

	LISTA DE TABELAS	V
	LISTA DE FIGURAS	VIII
	RESUMO	XII
	ABSTRACT	xv
1.	INTRODUCÃO	.1
2.	OBJETIVO	.2
2.1.	. Objetivo geral	.2
2.2.	. Objetivos específicos	.2
3.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	.4
3.1.	. Processo de obtenção industrial do café solúvel	.4
	Тогтаção	4
	Moagem	5
	Extração seguida de desidratação	5
	Descafeinização	.9
3.2.	. Composição mineral do café	9
3.3.	Tratamento da amostra e análise química de	
	metais em café	10
3.4.	Espectrometria de emissão atômica	
	com plasma de argônio induzido	.15
3.5.	Decomposição de amostras pelo uso de	
	microondas	19
3.6.	A técnica de geração de hidretos acoplada a	
	espectrometria de emissão atômica (ICP-AES)	.26
	Ensaio de MARSH	27
	Ensaio de GUTZEIT	.27

 Geração de hidretos em espectrometria de
emissão atômica31
Estudo de interferências
3.7. Determinação analítica do mercúrio38
3.8. Técnicas estatísticas40
 Análise de componentes principais40
Análise de clusters ou agrupamento hierárquico43
4. PARTE EXPERIMENTAL45
4.1. Equipamentos e vidrarias45
4.2. Reagentes e soluções45
4.3. Amostragem46
4.4. Métodos de tratamento das amostras46
Definição do procedimento de mineralização
das amostras de café solúvel46
 Método de tratamento das amostras para as
determinações de Pb, Cr, Hg, As e Se50
4.5. Condições instrumentais e de trabalho para as
determinações dos elementos por ICP-AES54
Condições de operação dos espectrômetros54
 Elaboração de programas analíticos no
espectrômetro Modula da Spectro54
 Elaboração de programas analíticos no
espectrômetro <i>PSX</i> da <i>Baird</i> 57
4.6. Métodos estatísticos57
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES58
5.1. Métodos de tratamento da amostra: definição do
procedimento de mineralização mais adequado58

5.2. Determinação dos elementos em uma amostra de
café solúvel e amostra enriquecida utilizando o
procedimento de mineralização escolhido62
5.3. Otimização dos parâmetros instrumentais para as
determinações do Sn, Pb e Cr67
5.4. Otimização dos parâmetros instrumentais para as
determinações do As e Se74
 Otimização dos parâmetros de operação78
 Resultados obtidos das determinações de
As e Se nas amostras de café solúvel86
5.5. Otimização dos parâmetros instrumentais e
determinação do Hg87
 Otimização dos parâmetros de operação88
 Resultados obtidos das determinações de
Hg nas amostras de café solúvel89
5.6. Determinações dos elementos: Na,K,Mg,Al,P, S,Ca
Mn, Fe, Cu, Zn, Ni, Cd, Sb, Cr e Pb nas 21 amostras
de café solúvel disponíveis no mercado brasileiro94
Elementos de concentrações maiores:
macronutrientes102
Elementos de concentrações menores:
micronutrientes102
 Elementos contaminantes104
E7 A-flice de componentes principais o chuster
5.7. Analise de componentes principais e cluster
nierarquicos aos dados de concentrações referentes
aos elementos Na, K, Mg, Al, P, S, Ca, Mn, Fe, Sn, Cu e Zn106
Analise de Componentes Principais107
Anàlise de Clusters Hierárquicos110

	CONCLUSÕES
114	TRABALHOS FUTUROS
). REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

LISTA DE TABELAS

I – Limites máximos de tolerância de contaminantes
inorgânicos aplicados ao café2
II – Composição do grão de café verde e torrado
expresso como porcentagem de base seca5
III – Limites de detecção (μ gL ⁻¹) para elementos formadores
de hidretos30
IV – Propriedades dos hidretos de interesse analítico
V – Efeito de vários elementos na determinação de hidretos37
VI – Procedimentos de mineralização utilizados50
VII – Condições operacionais: espectrômetros de emissão
atômica com plasma de argônio induzido (ICP-AES)54
VIII – Programas analíticos e faixas de concentração
utilizadas no preparo das soluções padrão
multielementares para o estabelecimento das
curvas de calibração55
IX – Linhas de emissão e parâmetros das curvas de
calibração (mgL ⁻¹ X intensidades)56
X – Programas analíticos e faixas de concentração
utilizadas no preparo das soluções padrão
utilizadas no preparo das soluções padrão multielementares para o estabelecimento das
utilizadas no preparo das soluções padrão multielementares para o estabelecimento das curvas de calibração para as determinações do
utilizadas no preparo das soluções padrão multielementares para o estabelecimento das curvas de calibração para as determinações do As, Se e Hg
utilizadas no preparo das soluções padrão multielementares para o estabelecimento das curvas de calibração para as determinações do As, Se e Hg

XII – Resultados obtidos na análise de amostra de café
solúvel através dos diferentes procedimentos de
mineralização, expressos em g/100g e mg/Kg,
para os elementos dos programas A, B e C58
XIII – Resultados obtidos na análise de amostra de café
solúvel através dos diferentes procedimentos de
mineralização, expressos em mg/Kg, para os
elementos dos programas E e H (tabela VIII)58
XIV – Vantagens e desvantagens dos métodos de
mineralização estudados62
XV – Resultados obtidos na avaliação do procedimento
de mineralização mais adequado (n=8)63
XVI – Valores de concentração e recuperação dos
elementos adicionados e recuperados na avaliação
de uma amostra de café solúvel enriquecida64
XVII – Valores de recuperação médias de Sn, Pb e Cr
na amostra de café solúvel utilizada no item 5.269
XVIII – Resultados das determinações de As e Se em 21
amostras de café solúvel (n=3)86
XIX – Valores de recuperação médias de As e Se
em três amostras de café solúvel87
XX – Resultados da determinação do Hg nas 21 amostras
de café solúvel (n=3)89
XXI – Valores de recuperação médias de Hg
em três amostras de café solúvel90
XXII – Concentração e desvios padrão para os 17
elementos inorgânicos determinados nas 21 amostras
de café solúvel (n=3)95

XXIII – Contribuição da presença de nutrientes presentes	
em amostras de café solúvel do mercado	
brasileiro para a Ingestão Diária Recomendada (IDR)	
de adultos e crianças	104
XXIV – Estatística final	107
XXV – Matriz dos fatores ou componentes	108
XXVI – Escores dos componentes relacionados com as	
Amostras	108

LISTA DE FIGURAS

1 – Fluxograma básico para obtenção do extrato de
café solúvel8
2 – Representação esquemática do processo atomização9
3 – Diagrama esquemático de uma tocha16
4 – Campo magnético induzido17
5 – Formação do plasma17
6 – Diagrama esquemático de um sistema ICP-AES19
7 – Distribuição do tempo gasto em uma análise química20
8 – Distribuição dos erros gerados em uma análise química20
9 – Resposta molecular a um campo eletromagnético:
moléculas polarizadas alinhadas com os pólos
do campo eletromagnético22
10 – Resposta molecular a um campo eletromagnético:
desordem após remoção do campo eletromagnético22
11 – Esquema de aquecimento da amostra por condução24
12 – Esquema de aquecimento da amostra por energia
microonda
13 – Sistema microondas focalizado25
14 – Diagrama esquemático do ensaio de MARSH27
15 – Diagrama esquemático do ensaio de GUTZEIT28
16 – Diagrama esquemático do ensaio de GUTZEIT28
17 – Aparelho para determinação de As por
espectrofotometria29
18 – Gerador de hidretos utilizado por THOMPSON et al. [54]35
19 – Gerador de hidretos utilizado por OZAKI e OLIVEIRA [55]

20 – Separador de fases ou gerador de hidretos construído
e utilizado no presente trabalho de acordo com
OLIVEIRA et al.[49]36
21 – Representação espacial – componentes principais42
22 – Classe I : microondas focalizado47
23 – Classe II: via úmida convencional48
24 – Classe III: sob pressão em bombas de teflon49
25 – Método de tratamento para Pb e Cr51
26 – Método de tratamento para Hg52
27 – Método de tratamento para As e Se53
28 – Comparação dos resultados obtidos referentes as
determinações dos elementos constituintes da
tabela XII, com exceção do Al (< 5,0 mg/Kg): Mg, P,
S, Ca, Na e K59
29 – Comparação dos resultados obtidos referentes as
determinações dos elementos constituintes da
tabela XII, com exceção do AI (< 5,0 mg/Kg) :
Mn, Fe e Sn59
30 – Comparação dos resultados obtidos referentes as
determinações dos elementos constituintes da
tabela XIII: Cr, Ni, Zn, As, Se, Sb e Pb60
31 – Comparação dos resultados obtidos referentes as
determinações dos elementos constituintes da
tabela XIII: Cu, Cd e Hg61
32 – Representação dos valores de % de recuperação
dos elementos adicionados65
33 – Tipos de interferências espectrais66

34 – Espectro de varredura do Sn (espectrômetro Modula
da Spectro)68
35 – Espectro de varredura do Pb (espectrômetro Modula
da Spectro)70
36 – Espectro de varredura do Pb em 220,35 nm (espectrômetro
Modula da S <i>pectro</i>)71
37 – Espectro de varredura do Cr (espectrômetro Modula
da Spectro)72
38 – Espectro de varredura do Cr em 357,869 nm (espectrômetro
Modula da Spectro)73
39 – Representação dos valores de % de recuperação
dos elementos Sn, Cr e Pb74
40 – Espectro de varredura do As (espectrômetro Modula
da Spectro)75
41 – Espectro de varredura do Se (espectrômetro Modula
da Spectro)76
42 – Espectro de varredura do As (espectrômetro PSX
da <i>BAIRD</i>)77
43 – Espectro de varredura do Se (espectrômetro <i>PSX</i>
da <i>BAIRD</i>)78
44 – Influência da acidez na sensibilidade da análise dos
hidretos de As e Se79
45 – Espectro de varredura do As: branco + amostra +
padrão 20 μgL ⁻¹ 81
46 – Espectro de varredura do As: amostra + amostra enriquecida
com 1μgL ⁻¹ + padrão 20 μgL ⁻¹ 81
47 – Espectro de varredura do As: amostra + amostra enriquecida
com 5μgL ⁻¹ + padrão 20 μgL ⁻¹ 82

48 – Espectro de varredura do As: amostra + amostra enriquecida
com 10µgL ⁻¹ + padrão 20 µgL ⁻¹ 82
49 – Espectro de varredura do As: amostra + amostra enriquecida
com 20μgL ⁻¹ + padrão 20 μgL ⁻¹ 83
50 – Espectro de varredura do Se: branco + amostra +
padrão 20 μgL ⁻¹ 83
51 – Espectro de varredura do Se: amostra + amostra enriquecida
com 1μgL ⁻¹ + padrão 20 μgL ⁻¹ 84
52 – Espectro de varredura do Se: amostra + amostra enriquecida
com 5μgL ⁻¹ + padrão 20 μgL ⁻¹ 84
53 – Espectro de varredura do Se: amostra + amostra enriquecida
com 10μgL ⁻¹ + padrão 20 μgL ⁻¹ 85
54 – Espectro de varredura do Se: amostra + amostra enriquecida
com 20µgL ⁻¹ + padrão 20 µgL ⁻¹ 85
55 – Valores de recuperação em % de três amostras
enriquecidas com As e Se87
56 – Espectro de varredura do Hg (espectrômetro Modula
da Spectro)88
57 – Valores de recuperação em % de três amostras
enriquecidas com Hg90
58 – Espectro de varredura do Hg: branco + amostra +
padrão 20 μgL ⁻¹ 91
59 – Espectro de varredura do Hg: amostra + amostra enriquecida
com 1µgL ⁻¹ + padrão 20 µgL ⁻¹ 92
60 – Espectro de varredura do Hg: amostra + amostra enriquecida
com 5μgL ⁻¹ + padrão 20 μgL ⁻¹ 93
61 – Espectro de varredura do Hg: amostra + amostra enriquecida
com 10µgL ⁻¹ + padrão 20 µgL ⁻¹ 94

62 – Ilustração da concentração presente do Na96
63 – Ilustração da concentração presente do K96
64 – Ilustração da concentração presente do Mg97
65 – Ilustração da concentração presente do Al
66 – Ilustração da concentração presente do P98
67 – Ilustração da concentração presente do S98
68 – Ilustração da concentração presente do Ca99
69 – Ilustração da concentração presente do Mn
70 – Ilustração da concentração presente do Fe100
71 – Ilustração da concentração presente do Sn100
72 – Ilustração da concentração presente do Cu101
73 – Ilustração da concentração presente do Zn101
74 – Espectro de varredura do Cr na amostra 13
(espectrômetro Modula da Spectro)106
75 – Análise de componentes principais – componente
1 versus componente 2109
76 – Dendrograma da análise de <i>clusters</i> 110
77 – Análise de componentes principais – componente
1 versus componente 2 com a identificação dos <i>clusters</i>
obtidos do dendrograma na figura 18111

RESUMO

A produção industrial do café solúvel brasileiro destina-se, na sua maior parte, ao mercado externo, constituindo-se em um importante ítem de exportação do país. O objetivo do presente trabalho foi o desenvolvimento e aprimoramento de métodos de análise química adequados à investigação de componentes inorgânicos em café solúvel. Inicialmente foi definido o método de mineralização das amostras através da avaliação de 6 procedimentos diferentes, classificados em 3 classes: (I) microondas focalizado; (II) via úmida convencional e (III) sistema sob pressão em frascos de decomposição com tampas (bombas de teflon). As determinações dos nutrientes e contaminantes inorgânicos: Na, K, Mg, Al, P, S, Ca, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Cd, Sb, Pb, Cr, Sn, As, Se e Hg, após a utilização do procedimento de mineralização que emprega o sistema de microondas focalizado com os reagentes HNO₃ e H₂O₂, foram realizadas por espectrometria de emissão atômica com plasma induzido, ICP-AES (da nomenclatura inglesa Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry). Interferências de matriz e/ou espectrais foram detectadas nas determinações de Pb, Cr, Sn, As, Se e Hg. No caso do Sn, optou-se pela correção da radiação de fundo através do software do equipamento, pois outras linhas de emissão deste analito eram menos sensíveis e igualmente sujeitas a interferências espectrais. Para o Pb e Cr a escolha de comprimentos de ondas alternativos eliminou os problemas de interferências espectrais devido à matriz das amostras. A aplicação das técnicas de geração de hidretos para o As e Se e a geração de vapor frio para o Hg, possibilitaram as determinações destes analitos nas amostras de café solúvel, aumentando a sensibilidade das análises. Os resultados obtidos para os teores dos nutrientes e contaminantes inorgânicos em 21 amostras de café solúvel disponíveis no mercado brasileiro, foram aceitáveis para o consumo humano, tanto no aspecto nutricional como toxicológico, com exceção de uma amostra com teor de Cr igual a $0.52 \pm 0.02 \text{ mgKg}^{-1}$, acima do permitido pela legislação brasileira que fixa o valor máximo de 0,10 mgKg⁻¹. A aplicação de técnicas estatísticas, análise de clusters hierárquicos e componentes principais aos resultados obtidos, possibilitaram investigar a variabilidade das composições minerais e classificar grupos de amostras similares. O emprego da técnica instrumental ICP-AES através do sistema de nebulização convencional e a utilização do sistema de geração de hidretos e vapor frio, mostraramse adequados para as determinações dos nutrientes e contaminantes inorgânicos em café solúvel, uma vez que níveis de precisão e exatidão aceitáveis foram obtidos.

ABSTRACT

The production of Brazilian soluble coffee is almost entirely destined for exporting. Therefore, the objective of this work was the development and the establishment of appropriate methods of chemical analysis of inorganic components in soluble coffee. Firstly, the appropriate digestion procedure for soluble coffee samples was defined through the evaluation of six different digestion techniques that were classified into three groups: (I) focused microwave system, (II) conventional wet digestion and (III) pressure digestion system in teflon bombs. The determinations of nutrients and toxic elements: Na, K, Mg, Al, P, S, Ca, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Cd, Sb, Pb, Cr, Sn, As, Se, and Hg after the utilization of the focused microwave system with HNO3 and H2O2 reagents, were made by Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry (ICP-AES) technique. Matrix and spectral interferences were detected in the determination of Pb, Cr, Sn, As, Se and Hg. Correction of the background enhancement by the equipment software was made in the determination of Sn, as other analytical lines were unsuitable for this application. For Pb and Cr, the choice of other analytical lines eliminated the problem of matrix and spectral interferences. The application of the hydride generation technique for As and Se and cold atomic vapour with ICP-AES for Hg, were suitable methods to determine these analytes in soluble coffee samples with increased sensitivity of the analysis. The results obtained of nutrients and toxic elements in twentyone samples of soluble coffee collected from Brazilian market were acceptable to human consumption at nutritional and toxic level with exception of a sample with $0.52 \pm 0.02 \text{ mgKg}^{-1}$ of Cr, above the value specified in Brazilian Food Legislation, that fixes the maximum Cr contend in 0,10 mgKg⁻¹. The aplication of statistical techniques analysis of principal components and the hierarchical cluster on the results of mineral compositions, enabled to investigate the variability in the composition and to classify groups of similar samples. The application of the ICP-AES technique using the conventional pneumatic nebulization system, the hydride generation technique and the cold vapour for Hg were suitable to determine the nutrients and toxic elements in soluble coffee, as they provided acceptable results indicating accuracy and precision.

1. INTRODUÇÃO

O café é um dos produtos agrícolas mais importantes no comércio internacional, o Brasil continua sendo o maior produtor e exportador deste produto e nada indica que deverá perder este título, pelo menos nos próximos anos. Basicamente são produzidos dois tipos de café em nosso país: *coffea arabica* e *coffea canephora robusta*. Os principais estados produtores são: Minas Gerais, Espírito Santo, São Paulo e Paraná, além de uma pequena parcela em Rondônia e Bahia. O café no comércio mundial é o segundo produto em termos de valores, movimentando aproximadamente US\$ 35 bilhões por ano e perdendo apenas para o petróleo.

A produção do café solúvel brasileiro é na maior parte destinada ao mercado externo. Em 1995, as exportações chegaram a 62 mil toneladas, com o faturamento de US\$ 477 milhões. Visando manter a integridade deste produto no comércio internacional, tanto os países produtores como os importadores estabeleceram padrões comerciais convenientes e legislações específicas para o consumo do produto [1].

Muitas empresas brasileiras encontram certa dificuldade em exportar o café solúvel para alguns países, que, visando manter a qualidade deste produto, exigem a garantia de níveis baixos de elementos tóxicos. Além disto, a determinação de macronutrientes, micronutrientes e elementos tóxicos é de grande interesse, particularmente devido ao grande consumo deste produto por milhões de pessoas no mundo. Neste sentido é fundamental o desenvolvimento e aprimoramento de métodos de análise química adequados à pesquisa destes contaminantes e nutrientes.

A técnica instrumental ICP-AES (espectrometria de emissão atômica com plasma de argônio induzido) é apropriada para este tipo de avaliação, por permitir a detecção dos elementos metálicos em nível de traços e em níveis maiores de concentração, com grande segurança dos resultados e rapidez de análise [2].

Através deste estudo, espera-se contribuir para o controle de qualidade do café solúvel assegurando sua aceitabilidade no mercado internacional e nacional.

2. OBJETIVO

2.1. Objetivo geral

Desenvolver metodologia analítica adequada para determinação dos nutrientes e contaminantes inorgânicos em café solúvel através da técnica instrumental ICP-AES, definindo-se os seguintes elementos químicos a serem pesquisados:

Na, K, Ca, Mg, P, Fe, S, Mn, Cu, Zn, Sb, Sn, Ni, Pb, Cd, As, Hg, Cr, Se e Al; atendendo às especificações definidas pelo Ministério da Saúde [3], de acordo com a tabela I, a seguir.

Tabela I-Limites máximos de tolerância de contaminantes inorgânicos aplicados ao café.

Contaminante inorgânico	limite máximo de tolerância (mgKg ⁻¹)
Antimônio (Sb)	2,00	
Arsênio (As)	1,00	
Cádmio (Cd)	1,00	
Chumbo (Pb)	1,00	
Cobre (Cu)	30,00	
Cromo (Cr)	0,10	
Estanho (Sn)	150,0	
Mercúrio (Hg)	0,01	
Níquel (Ni)	5,00	
Selênio (Se)	0,30	
Zinco (Zn)	50,00	
Aluminio (Al) - aditivo intensional	20000	

2.2. Objetivos específicos

- Definição do procedimento de mineralização mais adequado através da avaliação de digestão ácida em sistema convencional e microondas focalizado;
- Aplicação do procedimento de mineralização mais adequado na determinação dos nutrientes e contaminantes inorgânicos em uma amostra de café solúvel e amostra enriquecida com quantidades conhecidas dos elementos, para avaliação da precisão e exatidão do método proposto;
- Otimização das condições instrumentais para as determinações dos elementos, com a eliminação de interferências espectrais e de matriz através da utilização de técnicas alternativas acopladas ao ICP-AES, como a geração de hidretos e geração de vapor frio de Hg.

- Determinação dos nutrientes e contaminantes inorgânicos em amostras disponíveis no mercado brasileiro;
- Aplicação de ferramentas estatísticas (análise de componentes principais e análise de *clusters* hierárquicos) aos dados obtidos de concentração dos elementos para a identificação de grupos de amostras com composições minerais semelhantes.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Processo de obtenção industrial do café solúvel

A planta do café pertence ao gênero *coffea* da família botânica *rubiaceae*. Embora ocorram numerosas espécies, somente duas são cultivadas no mundo, devido à sua importância econômica, são elas: *coffea canephora*, sendo a principal variedade *coffea robusta* e *coffea arabica* que representa 75% da produção mundial de café [4].

O café é uma planta proveniente da África e teve sua difusão a partir da Arábia. Foi introduzido no Brasil em 1727. Hoje, Brasil e Colômbia são os principais produtores de café.

O fruto de forma quase esférica, verde durante a formação, tornando-se vermelho quando maduro, é constituido na parte externa por uma espécie de polpa adocicada que envolve geralmente duas sementes ou grãos cobertos por um tegumento pergamináceo. O cafeeiro, em regiões tropicais e equatoriais de clima úmido, solo fértil e bem drenado, produz no terceiro ano já uma quantidade apreciável, porém o período de melhor rendimento se inicia entre 7-8 anos e dura até 15-20 anos de idade. A colheita é realizada manualmente, quando as bagas estão maduras (sem que estejam secas) e são estendidas no solo, em camadas de 10 a 15 cm de espessura, expostas ao sol durante 3 a 4 semanas, sendo revolvidas continuamente por pás. O café em coco é submetido a uma separação por meio de cilindros, onde separa-se a baga do grão [4,5].

O processamento industrial do café pode seguir 4 etapas:

- 1º Torração processo essencial para desenvolver propriedades aromáticas do café;
- 2° Moagem estágio em que se obtém o pó de café;
- 3º Extração seguida de desidratação estágio em que se obtém o café solúvel;
- 4º- Descafeinização.

<u>Torração</u>

Este procedimento consiste na exposição dos grãos de café em um processo de aquecimento rápido, a temperaturas entre 180°C a 225°C, ocorrendo a pirólise que se caracteriza

por uma reação química provocada pela alta temperatura, sem a presença de oxigênio, modificando a composição química e aspecto exterior do grão de café, desenvolvendo o aroma, a cor e o sabor do produto. A principal modificação física dos grãos durante a torração é o escurecimento, que é consequência da caramelização de açúcares e da reação entre açúcares redutores e aminoácidos. Outra modificação é a perda de peso e densidade aparente [5]. As composições do grão de café verde e torrado são apresentadas na tabela II [4].

Tabela II - composição do grão de café verde e torrado expressa como porcentagem de base seca.

	Arabica		Robusta	
Componente	Verde	Torrado	Verde	Torrado
Minerais	3.0-4.2 %	3.5-4.5 %	4.0-4.5 %	4.6-5.0%
Cafeina	0.9-1.2 %	aprox. 1.0%	1.6-2.4 %	aprox. 2.0%
Trigonelline	1.0-1.2 %	0.5-1.0%	0.6-0.75 %	0.3-0.6%
Lipídios	12.0-18.0%	14.5-20%	9.0-13.0 %	11.0-16%
Ácidos clorogênicos totais	5.5-8.0 %	1.2-2.3%	7.0-10.0 %	3.9-4.6%
Ácidos alifáticos	1.5-2.0 %	1.0-1.5%	1.5-2.0 %	1.0-1.5%
Oligossacarídeos	6.0-8.0 %	0-3.5%	5.0-7.0 %	0-3.5 %
Polissacarídeos totais	50.0-55.0%	24.0-39%	37.0-47.0 %	-
Ácidos aminos	2.0%	-	2.0 %	0
Proteínas	11.0-13.0%	13.0-15.0 %	11.0-13.0 %	13.0-15%
Ácidos húmicos		16.0-17.0 %	-	16.0-17%

Moagem - processo final para obtenção do pó de café

O café torrado é armazenado em silos e protegido por um ambiente de gás carbônico. O moinho é alimentado com o material do silo por gravidade. Vários tipos de moinhos são usados, como os de disco para granulação fina, bastante empregados no Brasil e os de rolo. Aproximadamente a metade do gás carbônico produzido durante a torração é retida no interior dos grãos de café. Durante a moagem, a maior parte deste gás é liberado e protege o produto contra a ação do oxigênio, inclusive durante o armazenamento do café moído [6].

Extração seguida de desidratação - processo de obtenção do café solúvel

Extração

A extração consiste de um fluxo contínuo e semi-contínuo de água potável, a uma temperatura entre 160°C e 180°C, que passa em sentido contrário por colunas de aço inox (percoladores) onde o café moído é colocado. Os extratos dos percoladores são rapidamente

resfriados a 5°C, para evitar perdas por volatilização de compostos e proliferação de microorganismos. Após a sedimentação ou centrifugação, o extrato é separado do sedimento [4].

Os cafés mais pobres em compostos aromáticos, como o *coffea canephora robusta*, são tratados em temperaturas mais altas para se obter uma maior taxa de extração de sólidos solúveis, enquanto os *coffea arabica*, mais ricos em aroma, são extraídos em temperaturas inferiores, com o objetivo de conservar os compostos aromáticos. O extrato que alimenta os secadores é resultado de uma mistura (conhecida pela palavra inglesa *blend*) do extrato rico em sólidos solúveis com o extrato rico em compostos aromáticos. A figura1 apresenta o fluxograma básico para obtenção do extrato de café solúvel [7].

Desidratação

São duas as principais técnicas: atomização (spray dryer) e liofilização (freeze dried).

atomização

O extrato de café solúvel obtido é pulverizado no topo de uma coluna (recipiente de forma cilíndrica na parte superior e cônica na base - figura 2) na qual passa uma corrente de ar quente (250°C) tangencialmente. Ocorre evaporação da água e o pó do extrato de café é coletado a 50°C na base da coluna. O café solúvel é removido da câmara de secagem por meio de válvulas rotativas, que o descarregam sobre transportadores vibracionais para evitar a desintegração de partículas. O produto proveniente do secador é pesado continuamente para permitir o bom controle da operação e da produção [4,6,8].

<u>Liofilização</u>

Neste processo de desidratação, é necessário o congelamento até -50°C e a granulação do extrato. Os recipientes com o extrato congelado são transferidos para o liofilizador. Em seguida, aplica-se vácuo (0,01 a 0,005 psi) e se inicia o aquecimento por radiação ou condução, para compensar a energia consumida na sublimação da água [4,9]. Grande parte dos compostos aromáticos e a água sublimada são separados em um condensador a baixa temperatura (geralmente a -50°C). A água livre, que constitui a maior parte presente no extrato,

é sublimada em temperatura inferior à temperatura crítica de fusão. A liofilização altera menos o sabor e o aroma do café que o processo de atomização [4,6].

O café solúvel é embalado com teor de umidade de 3% em atmosfera de gás inerte, geralmente nitrogênio. Isto contribui para a estabilidade do aroma e do sabor. Para o consumidor, o café solúvel é embalado em latas e potes de vidro [6]. Para aumentar a velocidade de solubilização do café solúvel, obtido pelo processo de atomização, as partículas podem ser umidecidas, aglomeradas e secas novamente. Quanto maiores as partículas de café solúvel, mais fácil será sua dissolução. O aroma do café recém moído pode ser extraído por meio de solventes. O concentrado, rico em óleo, é atomizado sobre o pó obtido pelo processo de atomização, melhorando bastante a sua aceitação [4,9].



Figura 1 - Fluxograma básico para obtenção do extrato de café solúvel.



Figura 2 - Representação esquemática do processo de atomização (8).

Descafeinização

O processo consiste em extrair a cafeína com solventes clorados em água quente de café. A espécie *coffea canephora robusta* contém muito mais cafeína (1,6 a 2,5 %) do que a espécie *coffea arabica* (0,8 a 1,5%), embora entre os vários cultivos e variedades de *coffea arabica* ocorra uma grande variabilidade quanto ao teor de cafeína [4].

3.2 - Composição mineral do café

A composição química do café é muito complexa, segundo DEBRY [4] inclui mais de 200 substâncias. Estas variam de acordo com o tipo do café e a maneira de como este é preparado industrialmente. Nem todos os componentes do café são conhecidos, alguns dos quais têm sido identificados através da observação de efeitos fisiológicos. Da composição mineral do café, 90% são hidrossolúveis e estão presentes na bebida final [4].

A composição mineral média dos grãos de café verde, expressa em porcentagem de base seca, é a seguinte:

К	1,68 - 2%m/m
Mg	0,16 - 0,31%m/m
Са	0,07 - 0,035%m/m
P	0,04 - 0,07%m/m
SO4 ⁼	0,13%m/m

O Mn está presente em maior quantidade no *coffea arabica* (25 - 60 mgKg⁻¹) do que no *coffea canephora robusta* (10 - 33 mgKg⁻¹).O Cu está presente somente em quantidades traços no *coffea arabica*, porém, em maior quantidade no *coffea canephora robusta* (1 – 33mgKg⁻¹). Isto explica a melhor resistência do *coffea canephora robusta* ao desenvolvimento de fungos comparado ao *coffea arabica* [4].

No café solúvel, a porcentagem de K extraído do grão verde é alta, acima de 99%, mas como este nível está relacionado com o tipo de técnica usada no processamento do café, o K torna-se então um bom indicador da relação de extração obtida com a técnica utilizada.

A composição mineral média do café solúvel é a seguinte [4]:

Na	0,05%m/m
К	4%m/m
Са	0,15%m/m
Ρ	0,35%m/m
Fe	45 mgKg ⁻¹
Cu	0,5 mgKg ⁻¹
Zn	5 mgKg ⁻¹

3.3. Tratamento da amostra e determinação de metais em café

Na determinação de elementos maiores, menores e em níveis de traços em alimentos, a digestão via úmida ou o ataque ácido oxidante são os procedimentos mais utilizados, ao contrário do sistema de digestão via cinzas ou a seco, onde o tempo necessário para destruição da matéria orgânica é muito extenso, aliado a problemas de volatilizações de elementos metálicos, como o Cd, Pb e As, além de riscos maiores de contaminações, limitando desta maneira o uso desta técnica. Os reagentes mais utilizados na digestão via úmida são HNO₃, HCI, H₂SO₄, HCIO₄, HF e H₂O₂. Dependendo da composição química da amostra e do elemento de interesse, estes reagentes podem ser utilizados isolados ou combinados [10].

A AOAC (da abreviatura inglesa Association of Official Analytical Chemists) [11] tem recomendado em muitos de seus procedimentos a mistura HNO₃ e H₂O₂ na determinação de

metais traços contaminantes em alimentos como o Pb e Cd. Alguns trabalhos relatam as vantagens do uso desta mistura aliado ao aquecimento por microondas, com o objetivo de destruir a matéria orgânica e solubilizar amostras de alimentos e amostras de origem biológicas [12,13,14].

Na análise de café e seus produtos, os trabalhos realizados utilizaram com mais frequência procedimentos convencionais de mineralização das amostras por via úmida e seca.

HORWITZ e VAN DER LINDEN [15] determinaram o teor de Cd e Co por espectrometria de absorção atômica (EAA) em chá e café (pó e café solúvel). Avaliaram dois métodos de mineralização das amostras: cinzas a baixa temperatura (350°C) com posterior dissolução em HCI 1mol/L e digestão ácida direta com HNO₃ e H₂SO₄. A recuperação de Cd em amostras contaminadas foi baixa pelo processo de cinzas, ao contrário do Co, com 100% de recuperação. A digestão ácida foi o melhor método de mineralização para o Cd, sendo a porcentagem de recuperação na faixa de 95 a 110% e o teor deste metal presente no café com valores entre 0,013 a 0,052 mgKg⁻¹. Uma tentativa de extração do Cd com dietilditiocarbamato de sódio em MIBK (metilisobutilcetona) foi realizada, mas mostrou não ser adequada, pois muito sedimento passava para a fase orgânica causando o entupimento e/ou incrustações no capilar e nebulizador do equipamento. Os autores não descreveram o método de tratamento prévio da amostra para a posterior extração com solvente. O Co apresentou altos valores de recuperação pelo processo de digestão ácida, na faixa de 112 a 140%, com o teor deste metal presente no café entre 0,68 a 2,76 mgKg⁻¹. Não foram investigadas as causas da alta porcentagem de recuperação, as quais poderiam estar relacionadas com interferências espectrais ou de matriz. O objetivo principal do trabalho era determinar os teores destes dois metais e relacionar a concentração presente com possíveis problemas toxicológicos ao organismo humano.

LARA et al. [16] determinaram o teor de Cu por EAA em 100 amostras de café torrado, moído (pó) e na bebida de diferentes partes do Brasil. Cinzas das amostras de café torrado e moído foram obtidas a 500°C, seguindo extrações com HCI 20% v/v. As amostras de bebida foram preparadas através de extração a quente com água desionizada do pó de café. Os resultados encontrados mostraram um valor médio de 17,3 mgKg⁻¹ para os pós e 1,2 mgKg⁻¹ para a bebida.

KRIVAN et al. [17] realizaram um estudo bastante abrangente em grãos de café crú, analisando 20 elementos (metais e não metais) utilizando várias técnicas analíticas. Na análise de Ca, Mg e Zn por EAA e Cu, Cr, Fe, Mn e Sr por EAA com forno de grafite, as amostras foram mineralizadas através de digestão ácida com HNO₃ e HF em frascos de decomposição com tampas (bombas de teflon) a uma temperatura de 160°C por 4 horas. Os outros metais foram determinados pela técnica de ativação de neutrôns. O objetivo do trabalho era de identificar através da análise química, o país de origem do grão de café exportado para a Europa.

ORLIC et al. [18] através da técnica de espectroscopia de fluorescência de raios X (XRFS) determinaram em grãos de café cru 13 elementos metálicos. A concentração de alguns elementos de interesse como o As e Pb estiveram muito próximos do limite mínimo de detecção e como consequência os resultados obtidos relacionados com as massas da amostra sob análise deveriam ser avaliados com muito cuidado. Estes casos ressaltam a importância da utilização de técnicas de pré-concentração, através de mineralização úmida com posterior precipitação dos metais de interesse com agentes quelantes como o APDC (pirrolidinaditiocarbamato de amônio) ou através de mineralização seca a baixas temperaturas com o objetivo de melhorar os níveis de determinação dos metais pesquisados.

KAPUR e WEST [19] trabalharam na determinação de Pb em amostras de chá e café solúvel por EAA com forno de grafite. Realizaram análise da solução de extração (água desionizada a quente) das amostras de café solúvel. Mas, devido à matriz complexa, obtiveram recuperação de apenas 50% do total do Pb adicionado. Contornaram o problema através da dissolução das amostras em solução de citrato de amônio, o qual, além de solubilizar a matriz, mantinha o Pb em solução como um complexo na faixa de pH entre 8,7 a 9,3. Também utilizaram a técnica de extração por solvente por associação iônica do Pb com o KI em MIBK (metilisobutilcetona) onde obtiveram 96% de extração do metal. Um problema no uso desta técnica foi a presença de sedimento que passou para a fase orgânica, necessitando

centrifugação antes da determinação. Não foi avaliada a possibilidade da presença de Pb neste sedimento e o teor encontrado esteve na faixa de 0,5 - 1,5 mgKg⁻¹.

KOCH et al. [20] através de ICP-AES e EAA com forno de grafite, determinaram o teor de Al em folhas de chá e em grãos de café, bem como em chá e café disponíveis no mercado em pequenos envelopes usados para infusão em água fervente. As amostras de grãos de café e folhas de chá (0,25g) foram tratadas com HNO₃ e HCIO₄ (4:1), digeridas até destruição total da matéria orgânica. Café e chá para infusão (0,5 g) foram imersos em 45 mL de água desionizada a 95°C. O teor de Al nos grãos de café analisados por ICP-AES foi de 11 mgKg⁻¹ (originários da Colômbia, Costa Rica e Guatemala). Para grãos de origem Africana, o teor foi de 21 mgKg⁻¹. As amostras de café para infusão foram analisadas por EAA com forno de grafite e apresentaram valores entre 0,23 e 0,34 mgL⁻¹ com tempo de infusão de 5 minutos. Devido às condições instrumentais do equipamento utilizado, a linha de emissão do Al na análise por ICP-AES, utilizada neste trabalho, foi de 308,220 nm, menos sensível que a 167,080 nm, sendo necessária a utilização da técnica EAA com forno de grafite para análise dos baixos teores deste analito, presente nas soluções de extração das amostras de café e chá para infusão.

KUENNEN et al. [21] trabalharam em um método para determinação de Sb por geração de hidretos acoplado a EAA, em grãos de café crú e café processado. A necessidade desta determinação surgiu após a contaminação acidental de um carregamento de grãos de café crú com Sb₂O₃. As amostras de café processado foram tratadas com mistura dos ácidos HNO₃, HCIO₄ e H₂SO₄ (4:1:1) e o café crú apenas com HCl 6 mol/L para extração de Sb₂O₃ da superfície dos grãos. Alíquotas destas soluções foram tratadas com o reagente KI para reduzir o Sb V para Sb III, sendo a seguir gerado o hidreto SbH₃ pela reação com NaBH₄. Amostras de grãos de café crú contaminados apresentaram teores médios de 3,6 mgKg⁻¹ de Sb, valor confirmado pela técnica ICP-AES na qual a linha de emissão utilizada foi a de 217,6 nm. Após o processo de descontaminação, os teores de Sb em amostras de café processado apresentaram valores de 0,01mgKg⁻¹, que foram confirmados pela técnica de análise por ativação de neutrôns. O método desenvolvido apresentou precisão e exatidão aceitáveis com recuperações em

amostras enriquecidas com Sb na faixa de 85 a 120%, com baixo limite de detecção (2µgL⁻¹), sendo portanto uma técnica alternativa, quando se necessita da avaliação deste elemento em níveis menores que o estabelecido pela legislação brasileira de alimentos [3], que fixa o valor máximo tolerável de 2 mgKg⁻¹ de Sb.

SUZUKI et al. [22] determinaram Pb e Cu em vários alimentos, incluindo uma amostra de café solúvel, pela técnica EAA com forno de grafite. As amostras sólidas, tal como o café solúvel, foram tratadas com HNO₃ em frascos de decomposição com tampas (bombas de teflon) e aquecidas a 130°C por 1,5 h. A amostra de café solúvel apresentou valores de 6,6 mgKg⁻¹ de Pb e 2,4 mgKg⁻¹ de Cu. Os autores utilizaram padrões certificados de fígado de bovino e folhas de pomar para validação do método proposto. Porém, no caso do café solúvel, não foi realizado estudo com amostra enriquecida para verificação da porcentagem de recuperação e também não foram usadas técnicas alternativas para confirmação dos valores encontrados destes elementos.

GILLIES e BIRKBECK [23] realizaram estudos sobre a presença de minerais presentes no chá e café solúvel consumidos na Nova Zelândia. Amostras de café solúvel foram dissolvidas em água potável (8,5 gL⁻¹) e conservadas em frascos de polietileno com HNO₃ com concentração final de 1% (v/v), sendo determinados os teores dos metais diretamente nestas soluções por EAA. Os resultados obtidos nestas amostras foram os seguintes: Cu 18,8 - 56,5 mgKg⁻¹; Zn 12,9 - 14,0 mgKg⁻¹; Na 0,10 - 0,15 g100g⁻¹; Fe 28,2 - 35,3 mgKg⁻¹; Mn 16,5 - 17,6 mgKg⁻¹; Ca 0,25 g100g⁻¹; Mg 0,52 - 0,53 g100g⁻¹ e K 4,8 g100g⁻¹. Porém, o procedimento adotado para o tratamento das amostras não foi avaliado em termos de presença ou não de interferências espectrais e/ou de matriz, nem se realizou estudo de amostras enriquecidas com quantidades conhecidas dos elementos sob pesquisa.
3.4. Espectrometria de emissão atômica com plasma de argônio induzido

A espectrometria de emissão atômica com plasma de argônio induzido, ICP-AES (da nomenclatura inglesa *Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry*), é uma técnica analítica que pode ser utilizada para determinação de elementos maiores, menores e em níveis de traços baseada nos espectros de emissão dos elementos. Resultados analíticos favoráveis são obtidos na prática para aproximadamente 70 elementos, com limites de detecção geralmente alcançando níveis de ppb (partes por bilhão) sendo a maioria das amostras introduzidas na forma líquida como soluções aquosas [24].

Os primeiros resultados analíticos, utilizando ICP como fonte de excitação, foram publicados por GREENFIELD et al. [25] em 1964 utilizando um plasma que operava a alta frequência (36 MHz). Também FASSEL e WENDT [26] em 1965 descreveram um sistema de plasma operando a baixa frequência (3,4 MHz). Ambos os grupos de pesquisa concluíram que a nova ferramenta analítica apresentava alta sensibilidade, relativamente livre de efeitos interferentes quando comparada com outras técnicas espectroscópicas [24].

O sucesso da técnica é devido principalmente à capacidade da realização de uma análise multielementar e à determinação com uma faixa ampla de concentração dos elementos em uma mesma amostra. A alta temperatura e a atmosfera inerte do gás argônio do plasma também diminuem as interferências químicas de matriz, resultando em boa sensibilidade, alta precisão e exatidão com baixos limites de detecção, requisitos fundamentais para aplicação na análise de alimentos [27].

Um plasma é uma nuvem de gás fortemente ionizado, composto por elétrons, íons e partículas neutras, sendo que mais de 1% do total de átomos do gás estão ionizados. O plasma com acoplamento indutivo forma-se numa tocha de quartzo (figura 3), constituída por três tubos concêntricos com entradas de gás independentes. O fluxo de argônio que flui tangencialmente entre o tubo exterior e o intermediário (12-18 Lmin⁻¹) é o gás refrigerante ou plasma gás que atua para formar o plasma e previnir o aquecimento. O tubo intermediário carrega o fluxo de gás argônio auxiliar a cerca de 1,0 Lmin⁻¹, este fluxo é semeado com íons e elétrons por meio de

uma bobina tesla. O tubo central é o que conduz a amostra em forma de aerosol para dentro do plasma (0,7-1,5 Lmin⁻¹), denominado gás de arraste.



Figura 3 - diagrama esquemático de uma tocha [27].

A energia para formação e manutenção do plasma é proporcionada pela fonte externa geradora de radiofrequência, a qual induz um campo magnético oscilante com linhas de força (H) orientadas axialmente à tocha (figura 4). Os primeiros elétrons são fornecidos pela bobina tesla e a ação do campo magnético permite a aceleração dos elétrons em trajetórias perpendiculares ao campo, descrevendo uma helicóide. O campo magnético é oscilante por ser induzido por uma corrente alternada RF (fonte de radiofrequência), isto leva à aceleração dos elétrons e íons em contrafluxo em ambos os sentidos, facilitando a transferência de energia cinética para os átomos, produzindo ionizações e maior número de elétrons, entrando em um processo de cascata, até atingir o equilíbrio dinâmico (figura 5) [27,28,29,30].



Figura 4 - Campo magnético induzido H [27].



Figura 5 - Formação do plasma : **a** - gás Argônio entrando tangencialmente na tocha; **b** - força RF é aplicada na bobina; **c** - uma faísca produz alguns elétrons livres no Ar; **d** - os elétrons são acelerados pelo campo magnético causando ionizações e formando o plasma [29].

A amostra, geralmente uma solução líquida, é introduzida no plasma em forma de aerosol por meio de um sistema nebulizador. A primeira função da alta temperatura do plasma é a remoção do solvente através da evaporação, deixando partículas microscópicas sólidas (sais dos elementos constituintes da amostra). A etapa seguinte envolve a volatilização-dissociação, com a produção de vapores atômicos - vapores iônicos, os quais são excitados na forma de átomos-íons. O mecanismo de excitação é do tipo colisacional, no qual a energia cinética das partículas que colidem (íons-átomos da amostra com elétrons-íons do argônio) se transforma em todo ou em parte em energia de excitação e haverá passagem de elétrons dos íons-átomos da amostra, do nivel fundamental ou de menor energia, para um nível de maior energia, ficando assim as partículas excitadas. A tendência dos elétrons excitados é de retornarem ao estado fundamental e ao fazerem-no, devolvem a energia na forma de emissão de radiação eletromagnética, onde os comprimentos de onda são característicos de cada elemento e a intensidade da linha do espectro de emissão é proporcional à concentração do elemento sob análise. O espectro de emissão contém todas as raias emitidas pela amostra. As raias passam através de uma fenda e incidem em um sistema ótico com monocromadores, que isola as raias de emissão de interesse, sendo estas enviadas para o foto-multiplicador do sistema detector, representado na figura 6 a seguir [29,30].





3.5. Decomposição de amostras pelo uso de microondas

Uma das etapas mais importantes na determinação de elementos maiores, menores e em níveis de traços em alimentos é a solubilização da amostra. Procedimentos convencionais de abertura por via úmida e cinzas envolvem o aquecimento da amostra em chapa elétrica, banho-maria, banho de areia ou mufla, na presença de ácidos por longos períodos de tempo, necessitando um trabalho de laboratório intenso e cuidadoso (figura 7). A etapa de solubilização da amostra, entre todas as operações analíticas, é a mais crítica, onde se consome maior tempo e normalmente se cometem erros e, portanto é a etapa de maior custo (figura 8). A solubilização pelo uso de microondas é uma alternativa que torna este processo mais rápido, efetuando solubilizações mais confiáveis e exatas que as efetuadas pelos métodos convencionais, com maior eficiência e menor tempo [31,32].



Figura 7 : distribuição do tempo gasto em uma análise química [31].



Figura 8: distribuição dos erros gerados em uma análise química[31].

Microondas é uma forma de energia eletromagnética não ionizante, que causa movimentos moleculares através da migração dos íons e/ou rotação de dipolos sem, contudo, causar mudanças nas estruturas moleculares. A energia de microondas está situada dentro do espectro eletromagnético entre as frequências de 300 a 300.000 MHz, sendo que a mais utilizada em instrumentos de laboratório é a frequência de 2450 MHz com comprimento de onda (λ) próximo a 12,2 cm [31,33].

Tipicamente, energia de microondas é transformada em energia térmica através de dois mecanismos: condução iônica e rotação de dipolo. Em muitas aplicações práticas, estes dois fenômenos ocorrem simultaneamente. Na condução iônica, soluções líquidas contendo ácidos minerais ou sais, contêm íons (cátions e ânions) que são condutores de corrente elétrica. Na presença de um campo elétrico de energia de microondas, estes íons migrarão se alinhando ao campo elétrico. Este campo elétrico muda de polaridade em um número elevado de vezes a cada segundo, forçando os íons a mudarem de direção também muitas vezes por segundo. Durante a migração, ocorrerão colisões entre estes íons solvatados com moléculas vizinhas, aumentando a energia cinética e consequentemente a temperatura da solução [31,34].

No caso da rotação de dipolo ocorre quando moléculas que possuem dipólos elétricos permanentes (solventes polares) como a água, na presença de um campo elétrico de energia de microondas, irão se alinhar ou rotacionar em resposta a este campo. Esta rotação causará colisões com moléculas vizinhas (figuras 9 e 10), provocando um aumento da energia cinética e consequentemente aumento da temperatura da solução. A oscilação do campo elétrico da energia de microondas causará, portanto, muitas colisões provocando um rápido aumento da temperatura. A rotação da molécula com dipólo permanente é dependente da viscosidade. Como o líquido aquece, sua viscosidade diminui, aumentando desta maneira a absorção de energia de microondas [31,34].



Figuras 9 e 10 - Resposta molecular a um campo eletromagnético: 9 - moléculas polarizadas alinhadas com os pólos do campo eletromagnético; 10 - desordem após remoção do campo eletromagnético [31].

Em grande extensão, é a temperatura que determina a contribuição de cada um dos dois mecanismos de conversão de energia. Para pequenas moléculas, como água e outros solventes presentes em uma amostra, a perda dielétrica devida à contribuição da rotação de dipolo diminui com o aumento da temperatura. Ao contrário, a perda dielétrica devida à condução iônica é elevada com o aumento da temperatura. Desta maneira, se uma amostra iônica é aquecida por energia de microondas, a perda dielétrica da amostra é inicialmente dominada pela contribuição

da rotação de dipólo. Quanto mais a temperatura aumenta, a perda dielétrica é dominada pela condução iônica. A contribuição porcentual destes dois mecanismos de aquecimento depende em grande parte da mobilidade e concentração dos íons na amostra [31,34].

No sistema convencional, o tempo normalmente necessário para se completar uma digestão via úmida é de 1 a 2h. Em alguns casos, um tempo muito maior é consumido. Os frascos de reação usados geralmente não são bons condutores de calor, exigindo tempo considerável para seu aquecimento e transferência do calor para a solução. Devido à vaporização que ocorre na superfície dos líquidos, um gradiente térmico é estabelecido através de uma corrente de convecção e somente uma pequena porção do fluído está à temperatura de aquecimento aplicada ao frasco de reação (figura 11). Desta maneira, resulta um aquecimento não uniforme e portanto uma digestão da amostra com baixa eficiência, requerendo tempo relativamente elevado para completá-la.

Por outro lado, o aquecimento por microondas aquece toda a solução, simultaneamente, alcançando o ponto de ebulição mais rapidamente e em recipientes abertos podem ser completados de 5 a 15 minutos. Devido a velocidade de aquecimento ser muito alta, um superaquecimento localizado pode ocorrer (figura 12).



Figura 11 - esquema de aquecimento da amostra por condução [31].



Figura 12 - Esquema de aquecimento por energia microonda [31].

Neste trabalho, foi utilizado o forno microondas com sistema focalizado, operando à pressão atmosférica. A figura 13 apresenta as partes constituintes deste sistema. As vantagens da mineralização por microondas incluem:

- velocidades de reação mais altas;
- decréscimo de contaminação pelo ambiente do laboratório;
- uso de menor quantidade de reagentes;
- solubilização mais controlada e portanto mais maleável para automação.



Figura 13 - Sistema microondas focalizado [31].

3.6. A técnica de geração de hidretos acoplada a espectrometria de emissão atômica (ICP-AES)

A técnica de geração de hidretos é uma poderosa ferramenta que pode ser utilizada como método de separação em química analítica. Em conjunto com a espectrometria de absorção atômica ou com a espectrometria de emissão atômica por plasma, permite a préconcentração dos analitos formadores de hidretos voláteis, como o As e Se, eliminando problemas de matriz presentes em amostras complexas e melhorando sensivelmente os limites de detecção encontrados na análise direta das soluções pelo sistema convencional.

O conceito mais usado, segundo HUSSEL [33], define hidretos como os compostos nos quais o hidrogênio está ligado a um elemento mais eletropositivo. O átomo de hidrogênio pode receber um elétron para preencher o orbital 1s, resultando no íon hidreto H⁻. Isto ocorre com elementos altamente positivos, como os metais alcalinos e alcalino terrosos. Esses hidretos podem ser preparados pela combinação direta dos elementos a temperaturas elevadas. A reação, *(1)*, para obtenção de hidreto de sódio, segundo HUSSEL [33], é a seguinte:

 $Na(I) + 2H^{\circ} = NaH_2 (400^{\circ}C) (1)$

Hidretos iônicos possuem características salinas típicas. São sólidos cristalinos, brancos, com retículos compostos de íons metálicos e íons hidretos. Contudo, o hidrogênio também pode adquirir o estado –1, compartilhando um elétron com um átomo mais eletropositivo, o que ocorre em hidretos covalentes, tais como AsH₃ e SbH₃. Diferente dos hidretos iônicos, são substâncias voláteis, porque as atrações intermoleculares são forças fracas de London ou forças de dispersão (momento dipolar momentâneo em um átomo ou molécula) [33], sendo esta propriedade de grande interesse para a química analítica.

A geração de hidretos tem sido utilizada há mais de 100 anos em ambos procedimentos de teste qualitativo e quantitativo, conhecidos como ensaio de **MARSH** e ensaio de **GUTZEIT** [35].

Ensaio de MARSH

Os compostos de As são reduzidos por meio de hidrogênio nascente em solução ácida, produzindo a arsina (AsH₃). O gás misturado com hidrogênio é conduzido por um tubo de vidro aquecido e se decompõe em hidrogênio e arsênio metálico, que se deposita, formando um espelho preto pardacento, logo acima da parte aquecida do tubo (figura 14). As seguintes equações químicas, (2,3,4), representam o processo:

$$As^{3^{+}} + 3Zn^{\circ} + 3H^{+} = AsH_{3}(g) + 3Zn^{2^{+}} (2)$$

$$AsO_{4}^{3^{-}} + 4Zn^{\circ} + 11H^{+} = AsH_{3}(g) + 4Zn^{2^{+}} + 4H_{2}O$$
(3)
$$4AsH_{3}(g) + calor = 4As^{\circ} + 6H_{2}(g)$$
(4)

Pela comparação com espelhos padrões, pode-se estimar a concentração de As presente na amostra [36].



Figura 14 - diagrama esquemático do ensaio de MARSH [35].

Ensaio de GUTZEIT

Em 1857 GUTZEIT modificou o ensaio de MARSH onde a principal diferença consiste em que apenas é necessário um tubo de ensaio (figura 15) onde AsH₃ é detectada pelo AgNO₃ ou HgCl₂. A figura 16 apresenta o esquema de análise de As pelo gerador de hidretos de Gutzeit. Pela comparação com papeis sensibilizados com AgNO₃ ou HgCl₂ após a geração de quantidades conhecidas de As, pode-se estimar a concentração presente na amostra.



Figuras 15 e 16 - diagrama esquemático do ensaio de GUTZEIT [35,36].

O uso da técnica de geração de hidretos para aplicação em análise espectrofotométrica também teve início com a determinação do As. Um dos primeiros procedimentos descreve a geração de AsH₃ pela reação de Zn[°] com HCI/H₂SO₄ e os produtos da reação eram borbulhados em uma solução contendo molibdato de amônio e sulfato de hidrazina (figura 17). A arsina (AsH₃) reage com o molibdato, formando o composto chamado heteropolimolibdoarsenato (arsenomolibdato), o qual é reduzido pela ação do sulfato de hidrazina, formando um composto de coloração azul, o azul de molibdênio. Este composto tem uma absorção máxima a 840 nm e

não evidencia modificação apreciável por 24 horas. Esta análise e também a reação com o dietilditiocarbamato de prata são ainda muito utilizadas atualmente [35,37].



Figura 17 - aparelho para determinação de As por espectrofotometria [37].

A partir da descrição deste procedimento em 1951, publicou-se um número muito grande de outros procedimentos espectrofotométricos similares envolvendo a geração de hidretos [35,36,37].

O rápido desenvolvimento da espectrometria de absorção atômica, introduzida em 1955, com seus aspectos relevantes se iniciando em 1960, atingiu rapidamente sucesso comercial, devido à sua especificidade, sensibilidade e facilidade de operação na determinação de metais de um modo geral e também na determinação de traços de elementos [38]. A nebulização direta da solução era quase que exclusivamente usada como método de introdução da amostra. Contudo, a atomização em chama mostrava-se ineficiente para a determinação de alguns elementos em nível de traços, particularmente em casos envolvendo elementos cujas linhas de absorção ótimas eram localizadas na região do ultravioleta do espectro eletromagnético, tais como As (193,7 nm) e Se (196,0 nm). Uma das dificuldades primárias encontradas era a presença de absorção de radiação de fundo que chegava a 60% usando uma chama ar/acetileno. KAHN e SCHALLIS [39] introduziram a chama de argônio/hidrogênio, mais fria que a chama ar/acetileno, em 1968, o qual reduziu a absorção de fundo para 15%. Contudo este significante abaixamento de temperatura também aumentava o potencial para reações químicas envolvendo o analito com outros compostos presentes na chama. Em 1969, HOLAK [40] gerou AsH₃ pela reação do Zn° com HCl, transportando-a para a chama de ar/acetileno para a determinação de As por EAA. Ele demonstrou que as interferências eram substancialmente reduzidas ou eliminadas. Hoje, esta técnica é bastante utilizada devido aos valores favoráveis para os limites de detecção alcançados, quando comparados com as técnicas de nebulizações convencionais. A tabela III apresenta os limites de detecção aplicados às técnicas EAA e ICP-AES, segundo CARUSSO et al. [41].

Tabela III - lim	ites de detecção (µgL ') para eleme	entos formadores o	le hidretos [41].
ELEMENTO	Nebulização convencional (ICP)	Gerador de hidretos (ICP)	Nebulização convencional (EAA)	Gerador de hidretos (EAA)
Ge	200	0.25	20	4
As	20	0.23	630	0.8
Se	20	0.37	230	1.8
Sn	100	0.37	150	0.5
Sb	20	0.31	60	0.5
Те	20	0.96	44	1.5
Pb	30	1	17	0.1
Bi	40	0.26	44	0.2

A combinação EAA-HG proposta em 1969 só foi acrescida de ICP-AES-HG em 1978 por indicação de THOMPSON et al.[42]. Desde então houve um aumento no número de publicações. Embora a proposta original tenha sido dirigida especialmente para solucionar as dificuldades encontradas com As e Se, atualmente as determinações foram estendidas para Bi, Ge, Pb, Sn, Te, Sb e contemplam tentativas para a determinação de TI e In [38].

A tabela IV mostra algumas propriedades físicas dos hidretos covalentes [38].

ELEMENTO	HIDRETO	Ponto fusão (°C)	Ponto ebulição (°C)
As	AsH ₃	-116.6	-62.5
Bi	BiH ₃		-22
Ge	GeH₄	-165.9	-88.5
Pb	PbH₄		-13
Sb	SbH ₃	-88	-18.4
Se	SeH ₂	-65.7	-41.3
Sn	SnH₄	-150	-51.8
Те	TeH ₂	-51	-2.3

Tabela IV- Propriedades dos hidretos de interesse analítico [38].

Geração de Hidretos em espectrometria de emissão atômica

Segundo LAJUNEN [43] os métodos de geração de hidretos basicamente envolvem três passos sucessivos:

- 1º o hidreto é gerado pela redução química da amostra;
- 2º o hidreto formado é transportado por um gás carregador para a fonte de plasma;
- 3º o hidreto é decomposto na fonte de plasma.

Métodos de redução

Os primeiros métodos utilizavam redução ácida/metal os quais os reagentes mais utilizados nesta categoria eram o Zn[°] e o HCI. A redução é representada de acordo com as seguintes equações químicas:

 $Zn^{\circ} + 2H^{*} + 2CI^{-} \rightarrow Zn^{2*} + 2CI^{-} + 2H^{\circ}$ (5) $E^{m*} + (m+n+2) H^{\circ} \rightarrow EHn + H_{2} (excesso) + mH^{*}$ (6)

onde: E é o analito e **m** pode ou não ser igual a **n** (exemplo: As³⁺ e As⁵⁺ são ambos reduzidos a AsH₃).

Outras reações ácido/metal investigadas incluem misturas de Mg[°] e TiCl₃ com HCl e H₂SO₄ para produzir AsH₃, SeH₂, SbH₃, BiH₃ e TeH₂ [43,44]. Para alguns elementos, especialmente Sn, Pb e Te, a reação de formação de hidreto é relativamente lenta e portanto um recipiente de coleta é necessário [43]. No caso do As, em reações envolvendo ácido/metal, é necessário fazer redução prévia de As⁵⁺ para As³⁺, com o objetivo de aumentar a velocidade de formação da arsina (AsH₃), pela combinação de SnCl₂ e KI antes da formação do hidreto. ROBBINS e CARUSSO [44] afirmam que a redução ácido/metal é capaz de formar mais eficientemente apenas os hidretos de As, Se e Sb.

O segundo tipo de reação, o mais utilizado atualmente, emprega o uso do NaBH₄ (borohidreto de sódio) como método de geração de hidretos. A redução é representada de acordo com as equações químicas (7) e (8) a seguir [43,44]:

 $BH_4^{-} + H^* + 3H_2O \rightarrow H_3BO_3 + 8H^{\circ}$ (7) $E^{m*} + (m+n+2) H^{\circ} \rightarrow EHn + H_2 (excesso) + mH^{*}$ (8)

onde: E é o analito e m pode ou não ser igual a n [44].

As soluções do NaBH₄ utilizadas são estabilizadas pelo seu preparo em meio alcalino (NaOH 0,1M) devido à hidrólise, de acordo com Lajunen [43]:

 $NaBH_4 + 2H_2O \rightarrow 4H_2 + NaBO_2$ (9)

As principais vantagens do uso do NaBH₄ como redutor são [43]:

- tempo de reação (varia de 10 a 30 segundos);
- NaBH₄ pode ser empregado para produzir todos os oito elementos formadores de hidretos voláteis;
- NaBH₄ pode ser adicionado em forma de solução.

Com a introdução deste redutor, uma mudança marcante ocorreu na técnica de geração de hidretos. Usando o NaBH₄, SHIMIDT e ROYER [45] determinaram Sb, As, Bi, e Se; POLLOCK e WEST [46] determinaram Ge; e FERNANDEZ [47] otimizou as condições para estes elementos e também para Te e Sn. THOMPSON e THOMERSON [48] relataram o sucesso na determinação do Pb usando o NaBH₄ como redutor e assim aumentaram para oito o número de metais que podem ser determinados por esta técnica. Além disto o uso deste reagente possibilita a determinação simultânea de elementos formadores de hidretos, entre eles, o As e Se, elementos determinados no presente trabalho.

OLIVEIRA et al. [49] descrevem a determinação simultânea de As, Se e também do Sb em amostras marinhas utilizando o NaBH₄ como redutor. O ataque oxidante usado nos procedimentos de digestões das amostras levaram os elementos As e Se aos seus mais elevados estados de oxidação, resultando portanto em As (V) como AsO₄³⁻ e Se (VI) como SeO₄²⁻. Vários autores [50,51,52] relatam a necessidade de uma pré-redução do As(V) e Sb(V) para As(III) e respectivamente Sb(III), com o objetivo de melhorar a sensibilidade da análise, aumentando a velocidade de formação da arsina (AsH₃) e estibina (SbH₃), através do tratamento da solução da amostra com o reagente redutor KI, como mostram as seguintes equações químicas:

$$AsO_{4}^{3} + 2I^{-} + 2H^{+} \rightarrow AsO_{3}^{3} + I_{2}(g) + H_{2}O$$
(10)
$$SbO_{4}^{3} + 2I^{-} + 2H^{+} \rightarrow SbO_{3}^{3} + I_{2}(g) + H_{2}O$$
(11)

Porém, seria impossível a utilização deste recurso para determinação simultânea do As e Se, pois Se (VI) e Se (IV) são reduzidos ao estado elementar pela ação do KI, equações químicas (12) e (13), não produzindo hidreto volátil:

$$SeO_{4}^{2^{-}} + 4I^{-} + 8H^{+} \rightarrow Se^{\circ} + 2I_{2}(g) + 4H_{2}O$$
(12)
$$SeO_{3}^{2^{-}} + 4I^{-} + 6H^{+} \rightarrow Se^{\circ} + 2I_{2}(g) + 3H_{2}O$$
(13)

Ao realizar o estudo de intensidade relativa dos analitos em diferentes estados de oxidação, OLIVEIRA et al. [49] mostraram que a diferença de intensidade relativa produzida pelo As(III) e As(V) é pequena, ao contrário do Sb(III) e Sb(V). Sendo assim, a determinação

simultânea de As e Se é possível sem a utilização do reagente redutor KI, sendo necessário apenas tratar a amostra de modo a reduzir quantitativamente o Se(VI) para Se(IV). Com esta finalidade, BRIMMER, FAWEETT e KULHAVY [53] realizaram estudo sobre a redução quantitativa de íons selenatos (SeO₄²⁻) a íons selenitos (SeO₃²⁻) e concluíram que as condições mais adequadas eram obtidas através do uso de HCI 6 mol/L com aquecimento a 90°C por 30 minutos. Neste processo 99,9% de SeO₄²⁻ foi convertido a SeO₃²⁻.

As seguintes reações, representadas pelas equações químicas a seguir, ocorrem no processo de análise simultânea de As e Se:

 $90^{\circ}C$ $SeO_{4}^{2^{-}} + 4H^{+} + 2CI^{-} \rightarrow H_{2}SeO_{3} + H_{2}O + Cl_{2}(g) \qquad (14)$ $BH_{4}^{-} + H^{+} + 3H_{2}O \rightarrow H_{2}BO_{2} + 8H^{\circ} \qquad (15)$

$$8H^{\circ} + 5H^{+} + AsO_{4}^{3-} \rightarrow AsH_{3}(g) + 4H_{2}O + H_{2}(g)$$
(16)

$$8H^{\circ} + 2H^{+} + SeO_{3}^{2-} \rightarrow SeH_{2}(g) + 3H_{2}O + H_{2}(g)$$
 (17)

Transporte do hidreto formado para a fonte de plasma

Em ICP-AES, para o transporte do hidreto formado utiliza-se mais frequentemente o sistema de geração contínua. O(s) reagente(s) e amostra são continuamente bombeados, geralmente por uma bomba peristáltica multicanal, até um tubo misturador, onde ocorre a reação da amostra com o NaBH₄ e/ou HCI. Os produtos formados na reação, ou seja, o hidrogênio e os hidretos, são então arrastados até o sistema de separação líquido-gás, onde o líquido se dirige para o dreno e a mistura gasosa é levada ao plasma com auxílio do gás carregador, ocorrendo então o processo de emissão atômica [41].

Muitos dos métodos de geração contínua de hidretos seguem as sugestões de THOMPSON et al. [54] na determinação multielementar de As, Bi, Sb, Se e Te. Um diagrama esquemático do gerador de hidretos utilizado por THOMPSON et al. [54] é apresentado na figura 18. OZAKI e OLIVEIRA [55] utilizaram o gerador de hidretos apresentado na figura 19, na pesquisa de As, Bi, e Sb em ligas de níquel e aços, sendo que o separador de fases consiste de dois blocos de acrílico separados por uma fita de teflon. No presente trabalho foi construído um

separador de fases de acordo com o modelo utilizado por OLIVEIRA et al. [49] na determinação simultânea de As e Se, figura 20.



Figura 18 - Diagrama do gerador de hidretos utilizado por THOMPSON et al. [54].



Figura 19 -- Diagrama do gerador de hidretos utilizado por OZAKI e OLIVEIRA [55].



Figura 20 - Separador de fases ou gerador de hidretos construído e utilizado no presente trabalho de acordo com OLIVEIRA et al.[49].

De acordo com THOMPSON et al. [54], os principais requisitos de um gerador de hidretos são:

mistura eficiente da solução da amostra ácida com o NaBH₄;

- um curto período de tempo para a completa reação;
- separação eficiente dos produtos gasosos do líquido;
- mistura uniforme dos produtos gasosos com o gás argônio que os conduz ao plasma;
- uma pequena pressão positiva para condução dos produtos gasosos ao plasma.

Decomposição do hidreto formado na fonte de plasma

Na fonte de plasma, a energia normalmente necessária para desolvatação e vaporização de um elemento metálico de uma amostra líquida está disponível para a atomização

e excitação do elemento formador de hidreto, intensificando deste modo o sinal de emissão e melhorando a sensibilidade e o limite de detecção [41].

Estudo de Interferências

THOMPSON et al. [42] em 1978 apresentaram um dos estudos mais completos sobre interferências quando da geração de hidretos voláteis para ICP-AES. Efeitos de interferências mútuas entre elementos que formam hidretos são negligenciáveis em situações em que todos os elementos de uma amostra são constituintes traços ou menores. A tabela V apresenta os efeitos de vários elementos na determinação de hidretos [42].

	, [Mudança no sinal do analito,%				
Interferente	Concentração	As	Sb	Bi	Se	Te
A way of the particular and the second	(μg mL ⁻¹)	Tall a state of the state				and the second
Na (I)	10000	0	0	-2	+2	+2
K (I)	10000	0	0	0	+1	+1
Mg (II)	10000	0	+1	+1	0	+1
Ca (II)	10000	+2	-2	0	+2	+1
Fe (III)	10000	-2	-5	-8	-26	-10
and a provide star of the star	1000	0	0	0	-6	-3
Fe (II)	10000	Ó	+6	+10	-81	0
Mn (II)	10000	+1	+2	0	0	-10
AI (III)	10000	+1	+7	0	0	-6
Ti (IV)	1000	+1	-1	-1	-3	-5
V (V)	1000	0	-15	0	-11	-50
	100	0	0	0	-1	-1
Cr (VI)	1000	-50	-34	-2	-5	-60
the ball of the second second	100	-5	-2	0	0	-8
Cr (III)	1000	-3	-3		0	a start and a start and
Mo (VI)	1000	0	0	0	-15	-10
Co (II)	1000	+1	+1	4	-4	-39
	100	0	0	0	0	0
Ni (II)	1000	-2	-11	-6	-12	-72
	100	0	0	-1	0	0
Cu (II)	1000	0	-4	-92	-99	-99
di senara sua sua di se	100	0	0	-77	-77	-99
Zn (II)	1000	-6	-7	-3	-7	-61
	100	0	0	0	0	-3
Cd (II)	1000	+2	-7	-4	-12	-99
	100	+1	+2	0	-2	-3
Ha (11)	1000	0	+15	-83	0	-70
and the second sec	100	0	+10	-20	0	-15
Pb (II)	1000	-2	-16	-5	-53	-99
and the second	100	O	0	0	-2	-12

Tabela V - efeito de vários elementos na determinação de hidretos [42].

No caso específico da determinação simultânea de As e Se , pequenas variações no sinal da intensidade de emissão ocorrem quando as matrizes ácidas são variadas, sendo importante o mesmo tratamento aplicado a amostra e padrões [37]. De acordo com o estudo realizado por THOMPSON et al. [42] os elementos Fe (II), Cu (II) e Pb (II) para o hidreto de Se e Cr (VI) para o hidreto de As, são os que podem reduzir mais significativamente a resposta de intensidade de emissão destes analitos. Contudo, de acordo com *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* [37], estas interferências são menos pronunciadas quando a concentração ácida está entre 4 a 6 mol/L em HCI. Óxidos de nitrogênio resultantes da digestão com HNO₃ também podem diminuir a resposta analítica dos hidretos de As e Se. No presente trabalho, as amostras foram tratadas de maneira a eliminar o excesso de HNO₃ utilizado durante o processo de mineralização das amostras de café solúvel [37,49,53].

3.7. Determinação analítica do mercúrio

O método de análise mais utilizado para a determinação do Hg é o da espectrometria de absorção atômica por geração de vapor frio, que consiste em produzir e arrastar o vapor deste elemento para uma cela de absorção, no caminho ótico do espectrômetro, onde a absorção pode ser medida a 253,7 nm (quando é utilizado ar como gás de arraste) ou 184,95 nm (quando é utilizado nitrogênio ou argônio como gás de arraste). A transformação das diferentes espécies químicas de Hg presentes nas amostras em íons Hg²⁺ é realizada por via úmida através de oxidantes fortes em meio ácido. Normalmente, a amostra é tratada com uma mistura de H₂SO₄ e KMnO₄ onde o permanganato oxida compostos organomercuriais, bem como o Hg elementar para a produção de íons Hg²⁺. O excesso de permanganato é destruído com hidroxilamina e um agente redutor, normalmente o SnCl₂, é adicionado para redução dos íons Hg²⁺ a Hg elementar. Este, devido à sua pressão de vapor favorável, é arrastado por um gás inerte (injetado na solução) até a cela de absorção de quartzo. Nesta cela, o feixe de luz, emitido por uma lâmpada de cátodo oco de Hg com comprimento de onda (λ) especifico deste analito, é absorvido pelos átomos de Hg, sendo a absorção proporcional à sua concentração. As seguintes equações químicas, representam o processo [37,56,57]:

$$5Hg^{\circ} + 2MnO_{4}^{-} + 16 H^{+} \rightarrow 5Hg^{2+} + 2 Mn^{2+} + 8 H_{2}O (+ *xCO_{2})$$
(18)
(* R-Hg-R')
$$6MnO_{4}^{-} + 5NH_{4}OH + 13H^{+} \rightarrow 6Mn^{2+} + 5NO_{3}^{-} + 14H_{2}O$$
(19)
$$Hg^{2+} + SnCl_{2} + 2Cl^{-} \rightarrow Hg^{\circ} + SnCl_{4}$$
(20)

(* R-Hg-R' onde R e R' representam grupamentos orgânicos)

O uso do NaBH₄ na determinação do Hg foi proposto inicialmente por TOFFALETTI e SAVORI [58] e ROONEY [59]. O NaBH₄ é capaz de reduzir os íons Hg²⁺ em soluções fortemente ácidas, o que pode ser utilizado empregando-se o sistema de análise em fluxo contínuo acoplado ao ICP-AES (exemplo figura 20), da mesma maneira que para as determinações dos elementos formadores de hidretos. As maiores diferenças entre os dois redutores, NaBH4 e SnCl₂, é que o NaBH₄ é um agente redutor mais forte, liberando uma grande quantidade de H₂ durante a reação com a amostra ácida, o que contribui para o transporte da maior parte do vapor de Hg formado até a cela de absorção, no caso da EAA, ou fonte de atomização no ICP-AES. No sistema que utiliza o SnCl₂, a solução do redutor é injetada no frasco de reação, reagindo com a solução ácida da amostra e formando o Hg metálico. Neste processo normalmente é recomendado um tempo de espera de 1 minuto, durante o qual um equilíbrio é estabelecido entre a fase aquosa e a fase gasosa no interior do frasco de reação. A seguir, o gás inerte é injetado para o interior da cela de reação, arrastando o vapor do Hg até a cela de absorção, na qual através do sistema de integração de pico mede-se a absorbância em função do tempo. Já no sistema que utiliza o NaBH₄, em fluxo contínuo acoplado ao ICP-AES, o redutor reage continuamente com a amostra formando gás H2 e vapor do Hg, sendo portanto a reação de formação do analito imediata. Simultaneamente o sistema é alimentado pelo gás argônio de arraste, que transporta os gases e vapor do Hg formados diretamente para a fonte do plasma. A dinâmica do sinal assim gerado é normalmente um pouco menor que aquela produzida pelo sistema que utiliza o SnCl₂, contudo esta pequena desvantagem é equilibrada pela alta frequência de amostragem oferecida pelo sistema de geração contínua [60,61].

Mais recentemente, THOMPSON e WALSH [30], no caso da determinação de Hg por ICP-AES, reforçaram as vantagens do uso do NaBH₄ como redutor, empregando um sistema de

geração contínua construído conforme a figura 18. Os autores destacam a baixa emissão de radiação de fundo, principalmente em relação à nebulização convencional da amostra; a alta eficiência de transferência do analito para o plasma (próximo de 100% em relação a 2-5% obtido na nebulização pneumática) e a separação do analito da matriz da amostra. Este último fator é relevante no caso do Hg, que pode sofrer interferência de emissão de radiação de fundo e espectral quando Mg, Ca, Al, Fe, Mn e Ti estão presentes. O emprego deste sistema acoplado ao ICP-AES também possibilita a determinação do Hg em linhas de emissão mais sensíveis, situadas na região do UV mais afastadas, como 194,163 nm e 184,95 nm, sem necessidade de alterar as condições de trabalho.

3.8. Técnicas Estatísticas

Análise de componentes principais

Esta ferramenta estatística permite que variáveis altamente correlacionadas sejam determinadas, de modo que a variabilidade de um sistema complexo possa ser expressa por estas variáveis tão bem quanto seria se usássemos o conjunto das variáveis originais. O método matemático utilizado é sofisticado e pode ser aplicado através do uso de programas computacionais, como SPSS para *windows* (da abreviatura inglesa *Statistical Package for Social Sciences*) [62].

O objetivo principal da análise de componentes principais, segundo KAUFMANN [63], é a redução de dados de uma determinada matriz, por exemplo, matriz Z que relaciona amostras de café solúvel com as variáveis que são os valores de concentrações dos elementos químicos (nutrientes e contaminantes inorgânicos), no caso do presente trabalho. Através deste método, uma nova matriz é produzida com poucas variáveis, que são os componentes principais. Esta nova matriz Z deverá conter tantas informações quanto possível da matriz Z original. A análise de componentes principais poderá ser realizada com sucesso somente se existir correlações entre as variáveis contidas na matriz Z original. Caso não ocorram correlações, a matriz Z original não poderá ser substituída por uma nova matriz Z com menos variáveis. Somente a remoção de informações redundantes (correlação) permitirá a redução dos dados. A primeira variável (componente principal 01) pertencente à nova matriz Z representa a direção da maior quantidade de variância explicada dos dados. A porcentagem de variância explicada por componente diminui à medida que são obtidas novas componentes [63].

A matriz original de dados Z de ordem n x m, utilizada na análise de componentes principais, pode ser representada geometricamente, considerando-se as m variáveis (elementos químicos) como eixos cartesianos e as n amostras como pontos distribuídos dentro do espaço m dimensional. A matriz transformada Z dos componentes principais é de ordem n x a onde a < n. Os componentes principais são combinações lineares obtidas a partir das variáveis originais e são representados pelos autovetores no espaço. O primeiro autovetor. correspondente ao maior autovalor, é por definição a direção no espaço definido pelas colunas da matriz Z que descreve a fração máxima da variação das amostras. A figura 21 mostra como exemplo a representação gráfica de um espaço definido por três variáveis. As amostras são representadas através dos pontos x e os componentes principais correspondem às duas retas ortogonais contidas dentro do espaço tridimensional, que passam pelo ponto médio Teoricamente pode haver tantos componentes guanto o número de variáveis, mas a grande vantagem deste modelo é que somente com alguns componentes (os componentes principais) consegue-se explicar a maior parte da variância total do sistema. No exemplo ilustrado na figura 21 a dimensionalidade do sistema é reduzida de três variáveis para dois componentes principais [64]. Na notação da análise de componentes principais, os pesos dos componentes (loadings) são dados pelos cossenos dos ângulos formados entre as retas dos componentes principais e os eixos das variáveis originais. No exemplo correspondem aos ângulos a1, a2 e a3 com o componente 01. Esses pesos podem variar de -1 a +1 e quanto mais altos forem os seus valores, maior será a correlação entre o componente e a variável (elemento químico analisado). Por outro lado, os escores dos componentes representam as projeções de cada ponto x (amostras) no plano definido dos componentes principais 01 e 02, representados através dos pontos x. A distância t entre as projeções x de cada ponto x no espaço definido através dos

componentes principais e o ponto médio orrespondem aos escores dos componentes, os quais indicam a correlação entre cada componente e as amostras [64,65].



Figura 21:representação espacial - componentes principais

Esta figura representa um exemplo com três variáveis e seguiu as seguintes etapas para a sua construção:

1° - As amostras foram distribuídas no espaço tridimensional de acordo com os valores das três variáveis e a seguir foi determinado o ponto central ou ponto médio onde o valor médio para cada elemento analisado é representado.

 2° - Foi utilizada uma reta para melhorar o modelo matemático: **modelo linear** o qual minimiza as distâncias perpendiculares entre os pontos e a reta, isto é o **COMPONENTE PRINCIPAL 01**. A porcentagem de variância que ela explica é ± 40%.

3° - Os pontos estão próximos da reta mas para ajustá-los melhor foi estabelecido o **COMPONENTE PRINCIPAL 02** perpendicular a 1° que passa pelo ponto central com o objetivo de explicar a maior quantidade possível de variância não explicada pelo componente 01.

4° - Alguns pontos podem cair fora destas 2 retas (muito acima ou muito abaixo) e portanto podemos calcular o 3° componente para explicar estes resíduos.

5°- Na prática foi realizada a projeção bidimensional do espaço p-dimensional pela projeção dos pontos no plano definido através dos 2 componentes principais.

6° - O plano foi traçado e os pontos **x** formam uma estrutura que aproxima o comportamento dos dados reais em **x**.

portanto: x = pontos originais. O computador faz cálculos exatos usando estes pontos.

 x = projeção dos pontos originais no plano definido pelos componentes principais é o que o cientista visualiza.

Análise de Clusters ou agrupamento hierárquico

Esta ferramenta estatística consiste em classificar objetos ou elementos similares (dentro de um espaço definido) baseando-se em medidas de distância ou similaridade [64].

Os métodos de agrupamento se iniciam com a construção da matriz de distância ou similaridade entre os objetos e resultam em um dendrograma ilustrando as sucessivas fusões dos objetos e grupos até o estágio máximo alcançado, quando todos os objetos são unidos em um só conjunto [66].

Primeiramente recomenda-se autoescalonar os dados. Esta normalização também é realizada através do "*Z score*" onde a concentração de cada variável é substituída em :

Zij = [Cij - C(médio)ij] ÷ Sci

onde Ci = concentração da variável i

Sci = desvio padrão

A seguir é calculada a matriz de distância para todos os valores, sendo a **distância euclideana ao quadrado** (SED, *Square Euclidean Distance*) uma das mais utilizadas correspondendo à soma dos quadrados das diferenças dos valores das coordenadas de cada amostra [64]:

$$\begin{aligned} & \underset{K=1}{\overset{m}{\sum}} \left(X_{ik} - X_{jk} \right)^2 \end{aligned}$$

onde X_{ik} = valor da i-nésima variável para k-inésima amostra, e

X_{ik} = valor da j-nésima variável para k-inésima amostra

Uma vez obtida a matriz de distância para todos os valores, o processo de agrupamento segue as seguintes etapas:

1° - são determinados os elementos com valores menores na matriz de distância e estes são unidos formando um *cluster* inicial;

2° - a seguir é calculada a nova matriz de distância considerando que os dois valores que formaram o primeiro *cluster* na etapa anterior representam um novo elemento ou objeto nesta nova matriz;

3º - estas duas etapas são aplicadas repetitivamente até ser obtido o último cluster [66].

Há uma série de métodos de agrupamentos disponíveis que se diferenciam principalmente na implementação da 2° etapa. Segundo ADAMS [66], a nova matriz de distância pode ser definida em termos gerais através da fórmula matemática:

$$\mathbf{d}_{\mathbf{k}(\mathbf{i},\mathbf{j})} = \alpha_{\mathbf{i}} \mathbf{d}_{\mathbf{k},\mathbf{i}} + \alpha_{\mathbf{j}} \mathbf{d}_{\mathbf{k},\mathbf{j}} + \beta \mathbf{d}_{\mathbf{i},\mathbf{j}} + \gamma |\mathbf{d}_{\mathbf{k},\mathbf{i}} - \mathbf{d}_{\mathbf{k},\mathbf{j}}|$$

onde $\mathbf{d}_{i,j}$ é a distância entre os objetos i e j e $\mathbf{d}_{\mathbf{k}(i,j)}$ é a distância entre o grupo K e o novo grupo (i, j) formado da fusão dos grupos i e j. Os valores dos coeficientes $\alpha_{i}, \alpha_{j}, \beta \in \gamma$ são escolhidos de acordo com o método de agrupamento a ser utilizado.

Todos os métodos de agrupamento hierárquico são conceitualmente iguais, porém com variações matemáticas nas definições de grupos e como estes grupos se relacionam com outros grupos de pontos. Um dos mais utilizados em quimiometria é o método de *Ward*, onde um ponto central é calculado para todas as combinações de dois *clusters* e a distância entre este ponto e todos os objetos são calculadas. Na prática esta técnica favorece a produção de pequenos *clusters*. Os coeficientes utilizados na equação acima, através da aplicação do método de *Ward*, são os seguintes [66]:

 $\alpha_i = \underbrace{n_k + n_j}_{n_k + n_i + n_j} \qquad \alpha_j = \underbrace{n_k + n_j}_{n_k + n_i + n_j} \qquad \beta = \underbrace{-n_k}_{n_k + n_i + n_j} \qquad \gamma = 0$

onde o número de objetos em um cluster i é ni.

Da mesma forma que na análise de componentes principais, este método também foi aplicado através do programa computacional SPSS para *windows* [62].

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1. Equipamentos e vidrarias

- Espectrômetros de emissão atômica de plasma indutivamente acoplado (ICP-AES) modelo Modula da Spectro Co. e PSX da BAIRD Co.,com as condições instrumentais e de trabalho definidas no item 4.5, página 54;
- Forno de microondas focalizado modelo 350 da Spex equipado com tubos de vidro com capacidade de 250 mL;
- Balança analítica, Mettler,
- Chapa elétrica de aquecimento;
- Micropipeta 20-200μL;
- Micropipeta 100-1000μL;
- Copos de bequer de fôrma alta, 400 mL;
- Pipetas graduadas de 10 mL e 5 mL;
- Pipeta volumétrica de 5 mL;
- Pipeta volumétrica de 25 mL;
- Vidros de relógio;
- Bombas de teflon (frascos de decomposição com tampas), capacidade de 45 mL;
- Bloco digestor com capacidade para 5 bombas de teflon, Tecnal;
- Separador de fases ou gerador de hidretos construído conforme figura 20.

4.2. Reagentes e soluções

- Água destilada-desionizada (deionizador permution);
- Soluções padrões de 1000 mgL⁻¹ de todos os elementos sob análise, Titrisol merck e Carlo Erba;
- HNO₃, Merck, min. 65% pa;
- HCI, Merck, min. 37% pa:
- H₂O₂, Merck, min. 30% pa;

- H₂SO₄, Merck, min. 98% pa;
- NaBH₄, Merck, min.99,9% pa, uso de solução 1%m/v em NaOH 0,1M;
- KI, Merck, min. 99,9 % pa, uso de solução 5%m/v;
- NaOH, Merck, min. 99,9% pa.

4.3. Amostragem

As amostras de café solúvel foram adquiridas no mercado brasileiro, marcas: Café Pelé, Gran Classic, Nescafé Matinal, Nescafé Tradição, Café do Ponto Freeze-Dried, Café do Ponto Descafeinado, Café Solúvel Parmalat, Ariscafé, Café Solúvel Iguaçu e Bassil Coffee. Para a definição do <u>procedimento adequado de mineralização</u> foram utilizadas duas amostras de café solúvel, de um mesmo produtor, sendo que a primeira estava contaminada com os metais: Cr, Ni, Cd, Sb e Pb e, não disponível no mercado.

4.4. Métodos de tratamento das amostras

Definição do procedimento de mineralização das amostras de café solúvel

Inicialmente foram testados 6 procedimentos diferentes de mineralização, classificados em 3 classes:

I - microondas focalizado;

II - via úmida convencional;

III - sob pressão em frascos de decomposição com tampas (bombas de teflon).

As figuras 22,23 e 24 a seguir apresentam os fluxogramas dos três processos gerais.







A tabela VI a seguir apresenta os 6 procedimentos de mineralização utilizados:

Identificação	classe	sistema	Massa amostra (g)/ Volume final (mL)	Reagentes	Tempo/potência ou temperatura
1		Microondas Focalizado	1,0/50	HNO3 (6 mL) H2O2 (0,5 mL)	10 min./ 105 W 5 min./ 105 W
2	I.	Microondas Focalizado	2,0/100	H2SO4 (15 mL)	10 min./ 105 W
3	i Tai Ist	Microondas	2,0/100	H2O2 (10 mL) HNO3 (15 mL)	5 min./ 105 W 10 min./ 105 W
4	- 8	Via úmida	1,0/100	H2O2 (10 mL) HNO3 (6 mL) H2O2 (1 ml.)	5 min./ 105 W
		convencional		H2SO4 (3 mL)	1,5 h/ 100°C
5	I	Via úmida	1,0/50	HNO3 (6 mL) HNO3 (5 mL)	1 h/ 100°C 1h
		CONVENCIONAI		H2O2 (3 mL) HINO3 (5 mL)	6h 1h/80°C
6	III .	Sob pressão em frascos de	1,0/100	HNO3 (6 mL) H2O2 (0,5 mL)	2h 1h
		com tampas (bombas de teffon)			30 min./ 120°C

Tabela VI - procedimentos de mineralização utilizados.

Método de tratamento das amostras para as determinações de Pb, Cr, Hg, As e Se

As figuras 25 a 27 a seguir apresentam os fluxogramas dos processos de tratamento das amostras utilizados para as determinações de Pb, Cr, Hg, As e Se.






4.5. Condições instrumentais e de trabalho para a determinação dos elementos por ICP-AES.

Condições de operação dos espectrômetros

As condições de operação dos equipamentos espectrômetros de emissão atômica foram utilizadas de acordo com a tabela VII a seguir.

Tabela VII- condições operacionais: espectrômetros de emissão atômica com plasma de argônio induzido (ICP-AES).

Espectrômetro	Spectro, modelo Modula	Baird, modelo PSX (determinações de Hg, As e Se)
Potência	1,2 KW	1,0 KW
Tempo de Integração	5 ds	5 ds
Fluxo do gás refrigerante Ar	12,0 L min ⁻¹	7,5 L min ⁻¹
Fluxo do gás carregador Ar	1,2 L min ⁻¹	0,6 L mìn ⁻¹
Fluxo do gás auxiliar Ar	1,0 L min ⁻¹	1,2 L min ⁻¹
Vazão de introdução da amostra	1,5 mL min ⁻¹	1,5 mL min-1 (vazão amostra) 2.5 mL min-1 (vazão NaBH/)
Pressão do nebulizador	26 psi	26 psi
Altura de observação (actima da bobina de inducão)	12 mm	12 mm

Elaboração de programas analíticos no espectrômetro Modula da Spectro

Inicialmente foram elaborados programas analíticos para a determinação de todos os elementos de interesse. O espectrômetro de emissão atômica modelo Modula da *Spectro Co.* dispõe de recursos em seu *software* que permitem fazer uma escolha criteriosa das linhas de emissão a serem utilizadas para cada elemento. Utilizou-se o método da curva de calibração na determinação dos elementos, através do uso de soluções padrão multielementares de todos os elementos presentes. As faixas de concentração e os programas analíticos realizados no espectrômetro de emissão atômica da *Spectro*, modelo Modula, são apresentados na tabela VIII a seguir.

Tabela VIII – Programas analíticos e faixas de concentração utilizadas no preparo das soluções padrão multielementares para o estabelecimento das curvas de calibração.

IDENTIFICAÇÃO	ELEMENTOS	FAIXA DE CONCENTRAÇÃO
PROGRAMA A	Na e K	100,0 - 500,0 mgL ⁻¹
PROGRAMA B	К	100,0 – 500,0 – 1000,0 mgL ⁻¹
PROGRAMA C	Mg, Al, P, S, Ca, Mn, Fe e Sn	1,0 - 10,0 - 100,0 mgL ⁻¹
PROGRAMA D*	Mg, Al, P, S, Ca, Mn e Fe	1,0 - 10,0 - 100,0 mgL ⁻¹
PROGRAMA E	Cr, Ni, Cu, Zn, As, Se, Cd, Sb e Pb	0,1 - 1,0 - 10,0 mgL ⁻¹
PROGRAMA F**	Ni, Cu, Zn, Cd e Sb	0,1 - 1,0 - 10,0 mgL ⁻¹
PROGRAMA G	Cr e Pb	0,1 - 1,0 - 10,0 mgL ⁻¹
PROGRAMA H	Hg	0,01 - 0,1 - 1,0 - 10,0 mgL ⁻¹
PROGRAMA I	Sn	0,1 - 1,0 - 10,0 mgL ⁻¹

*Excluído Sn, **excluído As, Se, Pb e Cr.

As curvas de calibração obtidas são representadas pela equação da reta ou regressão linear, sendo a concentração de cada analito dada pela equação :

Conc. $(mgL^{-1}) = A_0 + A_{1,lR}$

onde: Ao = coeficiente linear;

A1 = coeficiente angular da regressão;

IR = intensidade relativa da emissão do analito.

De acordo com THOMPSON [67], o limite de detecção instrumental é definido como a concentração do analito que fornece uma resposta igual a três vezes o valor do desvio padrão do branco ou *background*, o qual, no presente trabalho, foi calculado pelo software do equipamento. Contudo, para maior segurança das determinações, devido à matriz das amostras de café, foram utilizados valores de limites de detecção práticos ou limites de detecção, que, de acordo com THOMPSON [67], correspondem a 5 vezes o limite de detecção instrumental. No caso do Cr, no comprimento de onda 357,869 nm, foi possível utilizar o limite de detecção instrumental como limite de detecção prático ou limite de determinação. A tabela IX a seguir apresenta as linhas de emissão e parâmetros das curvas de calibração.

	Linha de	Coeficiente	coeficiente	Coeficiente		limite de
Elemento	emissão (λ) nm	linear (Ao)	angular (A1)	de correlação linear (r)	Concentração máxima (mgL ⁻¹)	determinação LD (mgL ⁻¹)
Na	588,995	- 0,7743	1,0369x10 ⁻⁴	1,0000	600	0,1
к	766,491	- 3,3549	1,1777x10 ⁻³	1,0000	600	0,5
К*	766,491	- 9,7663	1,5488x10 ⁻³	0,9996	1000	1,0
Mg	285,213	- 0,3579	9,1608x10 ⁻⁶	1,0000	120	0,05
Al	167,080	- 1,0510	1,6801x10 ⁻⁵	0,9994	120	0,1
P	178,290	- 0,3985	1,6906x10 ⁻⁴	1,0000	120	0,05
S	182,040	- 0,9916	1,5915x10 ⁻⁴	1,0000	120	0,1
Ca	422,673	- 0,5674	2,7911x10 ⁻⁵	0,9999	120	0,1
Mn	293,930	- 0,6073	2,9262x10 ⁻⁴	1,0000	120	0,05
Fe	259,940	- 1,0930	2,6105x10 ⁻³	0,9999	120	0,1
Sn	189,926	- 0,3620	1,6229x10 ⁻⁴	1,0000	120	0,05
Sn**	189,926	- 0,1410	9,3238x10 ⁻⁴	0,9995	12	0,1
Cr	284,325	- 0,3955	2,7761x10 ⁻⁴	1,0000	12	0,04
Cr**	357,869	- 0,3776	8,9826x10 ⁻⁵	1,0000	12	0,01
Ni	352,454	- 1,3386	4,1800x10 ⁻⁴	1,0000	12	0,05
Cu	324,754	- 0,08817	1,5887x10 ⁻⁵	1,0000	12	0,01
Zn	213,856	- 0,07228	5,9600x10 ⁻⁶	1,0000	12	0,005
As	188,979	- 0,3619	1,9970x10 ⁻⁴	1,0000	12	0,05
Se	196,020	- 0,6121	2,0057x10 ⁻⁴	1,0000	12	0,1
Cd	226,502	- 0,06134	9,9533x10 ⁻⁶	1,0000	12	0,005
Sb	217,581	- 0,8281	1,7265x10 ⁴	1,0000	12	0,04
Pb	168,220	- 0,2301	4,5517x10 ⁻⁴	1,0000	12	0,045
Pb**	220,353	-2,2400	1,0236x10 ⁻³	0,9999	12	0,10
Hg	184,950	- 0,1302	4,7160x10 ⁻⁶	1,0000	12	0,005

Tabela IX - Linhas de emissão e parâmetros das curvas de calibração (mgL⁻¹ x intensidade).

*Para a determinação do K em amostras com teores maiores que 600 mgL⁻¹ na solução de análise;

**Nos casos do Cr e Pb foram escolhidos comprimentos de ondas alternativos e para o Sn foi realizada correção de radiação de fundo.

Elaboração de programas analíticos no espectrômetro PSX da Baird

As determinações dos analitos As, Se e Hg foram realizadas no espectrômetro de

emissão atômica Baird, modelo PSX. Os programas analíticos são apresentados na tabela X.

Tabela X-Programas analíticos e faixas de concentração utilizadas no preparo das soluções padrão multielementares para o estabelecimento das curvas de calibração para as determinações do As, Se e Hg.

IDENTIFICAÇÃO	ELEMENTOS	FAIXA	DE CONCENTR	RAÇÃO
PROGRAMA J	As e Se	5,0	- 10,0 – 20,0 μ	gL ⁻¹
PROGRAMA K	Hg	5,0	- 10,0 – 20,0 μ	gL*1

As linhas de emissão e parâmetros das curvas de calibração são apresentadas na

tabela XI.

		inteode o parame		a do dambiagad	lunder vancou	ordadoj.
Elemento	linha de emissão (λ) nm	Coeficiente linear (Ao)	Coeficiente angular (A1)	coeficiente de correlação linear (r)	Concentração máxima (μgL ⁻¹¹)	Limite de detecção LD ((µgL ⁴¹)
As	193,696	-24,1218	5,744x10 ⁻¹	0,9982	30	1,0*
Se	196,026	-13,8789	3,6250 x10 ⁻¹	0,9976	30	0,5*
Hg	194,163	-5,9155	8,6700 x10 ⁻²	0,9986	30	0,98*
Contraction of the second second		Contraction of the Contraction		An and the second second		States and the states of the

Tabela XI - Linhas de emissão e parâmetros das curvas de calibração (mgL⁻¹ x intensidade).

*limites de detecção instrumentais calculados como três vezes o desvio padrão do branco.

**limites de detecção práticos (limites de determinação): menor quantidade possível de ser detectada com segurança

4.6 Métodos Estatísticos

Todo o tratamento estatístico através da utilização dos métodos da análise de *clusters* hierárquicos e componentes principais foi realizado utilizando-se os programas computacionais do SPSS para *windows* de acordo com NORUSIS [62].

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1. Métodos de tratamento da amostra: definição do procedimento de mineralização mais adequado

Na avaliação da eficiência dos diferentes procedimentos de mineralização, inicialmente

foi utilizada uma amostra de café solúvel que, de acordo com o produtor, estava contaminada

com Cr, Ni, Cd, Sb e Pb. Os resultados obtidos são apresentados a seguir nas tabelas XII e XIII.

Tabela XII - resultados obtidos na análise de amostra de café solúvel através dos diferentes procedimentos de mineralização, expressos em g/100g e mg/Kg, para os elementos dos programas A, B e C (tabela VIII, página 55).

Identificação (*)	Mg g/100g	Al mg/Kg	P g/100g	S g/100g	Ca g/100g	Mri mg/Kg	Fe mg/Kg	Sn mg/Kg	Na g/100g	K g/100g
1	0,35	<5,0	0,44	0,20	0,13	18,0	60,0	7,0	0,060	3,74
2	0,23	<5,0	0,41		0,09	8,5	52,0	37,5	0,043	2,53
3	0,36	<5,0	0,43	0,21	0,13	18,5	57,5	10,0	0,065	3,80
4	0,34	<10,0	0,42		0,12	18,0	57,5	20,0	0,052	3,57
5	0,36	<5,0	0,44	0,21	0,12	21,0	61,0	29,0	0,060	3,42
6	0,36	<10,0	0,44	0,21	0,14	21,5	62,5	6,5	0,063	3,50

(*) identificação dos métodos de mineralização conforme tabela VI, página 50.

Tabela XIII - resultados obtidos na análise de amostra de café solúvel através dos diferentes procedimentos de mineralização, expressos em mg/Kg, para os elementos dos programas E e H (tabela VIII, página 55).

Identifica- ção (*)	Cr mg/Kg	Ni Mg/Kg	Cu mg/Kg	Zn mg/Kg	As mg/Kg	Se mg/Kg	Cd mg/Kg	Sb mg/Kg	Pb mg/Kg	Hg mg/Kg
1	2,93	4,38	0,54	2,87	6,00	8,90	0,50	5,01	12,24	0,43
2	<2,0	<2,50	<0,50	2,08	4,66	6,19	0,40	<2,00	2,44	0,10
3	3,12	5,07	0,53	3,25	5,54	8,10	0,45	4,67	11,07	0,40
4	3,18	6,01	<1,0	5,24	4,63	7,01	0,61	8,46	4,16	0,20
5	3,59	6,72	1,16	4,25	10,21	11,21	1,13	11,64	15,57	0,52
6	2,17	4,05	0,73	3,00	6,50	10,00	0,68	7,71	11,75	0,42

(*) identificação dos métodos de mineralização conforme tabela VI, página 50.

Nas determinações dos elementos constituintes da tabela XII, observa-se que resultados equivalentes, com exceção do estanho, são obtidos para os métodos de mineralização 1,3,4,5 e 6, demonstrados nas figuras 28 e 29. As determinações dos elementos constituintes da tabela XIII apresentam considerável variação de resultados entre os elementos. De uma maneira geral os métodos 1 e 3 apresentam resultados equivalentes, conforme demonstrado nas figuras 30 e 31.



* K : valores expressos como $(g100g^{-1}) \times 10^{+1}$



Figuras 28 e 29: comparação dos resultados obtidos referentes às determinações dos elementos constituintes da tabela XII, com exceção do Al (< 5,0 mg/Kg).





Figuras 30 e 31: comparação dos resultados obtidos referentes às determinações dos elementos constituintes da tabela XIII.

A recuperação de metais traços em várias matrizes ricas em matéria orgânica, como alimentos e materiais biológicos, tem sido objeto de muitos estudos. Contudo, poucos se propõem a estabelecer uma maneira de avaliação da eliminação da matéria orgânica presente. Estudos essencialmente qualitativos ou indiretos foram realizados a este respeito. Se uma solução resultante de uma mineralização apresenta-se límpida ou levemente amarelada, assume-se que a oxidação da matéria orgânica foi completa [12].

Uma alternativa para a obtenção desta informação é a determinação do conteúdo de carbono residual na amostra após a digestão. NAKASHIMA et al. [68] usaram este método para mostrar que a completa destruição da matéria orgânica não é totalmente alcançada quando da utilização dos reagentes HNO₃ e H₂O₂ na digestão de material biológico empregando vários sistemas fechados de aquecimento com microondas.

O procedimento de digestão escolhido como o mais adequado foi o nº 1, da classe I, sistema microondas focalizado, pois é o que emprega a menor quantidade de reagentes aliado ao tempo e facilidade de mineralização da amostra.

O fator limitante na utilização dos métodos de mineralização que empregam H₂SO₄ é a impossibilidade da análise de S presente na amostra, não sendo adequados também para a análise de Pb a baixas concentrações [10], formando o composto PbSO₄, sal de solubilidade muito baixa, tornando portanto os métodos 2 e 4 não adequados às propostas deste trabalho.

O método de mineralização que utiliza frascos de decomposição com tampas (bombas de teflon) sob pressão apresenta a inconveniência de admitir somente massa reduzida de amostra, devido a riscos de vazamento e explosão resultantes da alta pressão dos gases produzidos como produtos da oxidação da matéria orgânica, representado pelas equações

químicas:
$$(CH_2)x + 2HNO_3 \rightarrow CO_2(g) + 2NO(g) + 2H_2O$$
 (21)

NO (g) +
$$1/2O_2(g) \rightarrow NO_2(g)$$
 (22)

$$H_2O_2 \rightarrow H_2O + 1/2O_2(g)$$
 (23)

$$H_2O_2 + (CH_2)x + O_2(g) \rightarrow CO_2(g) + 2H_2O$$
 (24)

* matéria orgânica

A quantidade de amostra utilizada nesta etapa do trabalho causou vazamento em alguns frascos de decomposição com tampas (bombas de teflon), demonstrando ser necessária uma avaliação cuidadosa da quantidade limite de amostra necessária para digestão segura.

A tabela XIV a seguir apresenta de forma resumida as vantagens e desvantagens dos métodos de mineralização estudados.

Tabela XIV- vantagens e	desvantagens de	os métodos de	mineralização	estudados.
-------------------------	-----------------	---------------	---------------	------------

MÉTODO	VANTAGENS	DESVANTAGENS
01	MINERALIZAÇÃO EFICIENTE QUANTIDADE REAGENTES TEMPO	
02		 USO H₂SO₄ MINERALIZAÇÃO NÃO EFICIENTE
03	MINERALIZAÇÃO EFICIENTE TEMPO	MAIOR QUANTIDADE DE REAGENTES EM RELAÇÃO AO MÉTODO 01
04	MINERALIZAÇÃO EFICIENTE	 USO H₂SO₄ TEMPO
05	MINERALIZAÇÃO EFICIENTE	• TEMPO
06	MINERALIZAÇÃO EFICIENTE	TEMPO RISCOS DE EXPLOSÃO FATOR LIMITANTE : RELAÇÃO MASSA/VOLUME

5.2 - Determinação dos elementos em uma amostra de café solúvel e amostra enriquecida utilizando o procedimento de mineralização escolhido

Uma nova amostra de café solúvel, do mesmo produtor que a anterior, foi submetida à

análise empregando o procedimento de mineralização escolhido como o mais adequado:

- sistema : microondas focalizado;
- massa da amostra: 1,0 g;
- reagentes : 6 mL HNO₃ (10 min. / 105 W) e 0,5 mL H₂O₂ (5 min. / 105 W);
- volume final da solução de trabalho : 50 mL.

Os resultados obtidos, com número de repetição igual a 8, são apresentados na tabela

XV.

Elemento	Concentração presente	Coeficiente de variação
Mg	0,334 ± 0,004 g/100g	3,0
AI	<5,0 mg/Kg	-
Р	0,335 ± 0,010 g/100g	3,0
Ca	0,131 ± 0,003 g/100g	2,3
Mn	7,00 \pm 0,50 mg/Kg	7,1
Fe	$38,0\pm2,5$ mg/Kg	6,6
Sn	16,0 \pm 4,0 mg/Kg	25
S	0,180 ± 0,008 g/100g	4,2
Na	0,0580 ± 0,0015 g/100g	2,6
ĸ	3,77 ± 0,06 g/100g	1,6
Cr	1,50 \pm 0,5 mg/Kg	33
Ni	< 2,50 mg/Kg	
Cu	1,55 \pm 0,15 mg/Kg	9,7
Zn	$3,75\pm0,35$ mg/Kg	9,3
As	$3,95\pm0,55$ mg/Kg	14
Se	3,30 \pm 1,10 mg/Kg	33
Cd	<0,25 mg/Kg	
Sb	<2,00 mg/Kg	
Pb	17,0 \pm 3,5 mg/Kg	21
Hg	2,40 \pm 1,3 mg/Kg	54
	and the second se	

Tabela XV: resultados obtidos na avaliação do procedimento de mineralização mais adequado (n = 8).

Devido à inexistência de amostras de referência certificadas de café solúvel, foi realizado estudo em amostras enriquecidas sinteticamente com quantidades conhecidas dos elementos, passando estas por todas as etapas do processo de análise sofrido pela amostra, realizando-se 3 repetições. Os resultados são apresentados na tabela XVI e na figura 32.

Elemento	Concentração presente *	Concentração Adicionada	Recuperação (n=3)	% Recuperação
Mg	0,334 ± 0,004 g/100g	0,250 g/100g	0,206 ± 0,005 g/100g	82,4 ± 2,2
AI	<5,0 mg/Kg	25,0 mg/Kg	21,0 \pm 1,0 mg/Kg	84,0 ± 4,0
Р	0,335 ± 0,010 g/100g	0,250 g/100g	$0,236 \pm 0,018$ g/100g	94,4 ± 7,2
Ca	0,131 ± 0,003 g/100g	0,125 g/100g	$0,118 \pm 0,012$ g/100g	94,4 ± 9,6
Mn	7,00 \pm 0,50 mg/Kg	25,0 mg/Kg	24,5 \pm 2,0 mg/Kg	98,0 ± 8,0
Fe	$38,0\pm2,5$ mg/Kg	50,0 mg/Kg	$47,0\pm3,5$ mg/Kg	94,0 ± 7,0
Sn	16,0 \pm 4,0 mg/Kg	25,0 mg/Kg	20,0 \pm 4,5 mg/Kg	80,0 ± 18,0
S	0,180 ± 0,008 g/100g	0,125 g/100g	0,139 ± 0,014 g/100g	111,2 ± 11,2
Na	0,0580 ± 0,0015 g/100g	0,0500 g/100g	0,0495 \pm 0,005 g/100g	99,0 ± 10,0
к	3,77 ± 0,06 g/100g	0,50 g/100g	$0,41 \pm 0,02$ g/100g	82,5 ± 4,0
Cr	1,50 \pm 0,5 mg/Kg	25,0 mg/Kg	23,5 \pm 0,5 mg/Kg	94,0 ± 2,0
Ni	< 2,50 mg/Kg	25,0 mg/Kg	20,0 \pm 0,5 mg/Kg	80,0 ± 2,0
Cu	1,55 \pm 0,15 mg/Kg	25,0 mg/Kg	23,5 \pm 0,5 mg/Kg	94,0 ± 2,0
Zn	$3,75\pm0,35$ mg/Kg	25,0 mg/Kg	21,5 \pm 1,5 mg/Kg	86,0 ± 6,0
As	$3,95\pm0,55$ mg/Kg	25,0 mg/Kg	27,0 \pm 1,0 mg/Kg	108,0 ± 4,0
Se	$3,30\pm1,10$ mg/Kg	25,0 mg/Kg	31,0 \pm 1,0 mg/Kg	124,0 ± 4,0
Cd	<0,25 mg/Kg	25,0 mg/Kg	22,0 \pm 0,5 mg/Kg	88,0 ± 2,0
Sb	<2,00 mg/Kg	25,0 mg/Kg	21,5 \pm 1,0 mg/Kg	86,0 ± 4,0
Pb	17,0 \pm 3,5 mg/Kg	25,0 mg/Kg	$37,0\pm9,0$ mg/Kg	148,0 ± 36,0
Hg	2,40 \pm 1,3 mg/Kg	25,0 mg/Kg	$\textbf{22,5} \pm \textbf{1,0} \text{ mg/Kg}$	90,0 ± 4,0

Tabela XVI: valores de concentração e recuperação dos elementos adicionados e recuperados na avaliação de uma amostra de café solúvel enriquecida.

* concentração presente de acordo com a tabela XV, página 63.





Valores muito altos de recuperação foram obtidos apenas para o Pb e Se, conforme pode ser observado na tabela XVI, página 64, e figura 32. Recuperações entre 80 a 120% são consideradas aceitáveis para o caso da análise de metais, ânions e nutrientes, de acordo com *Standard Methods of the Examination of Water and Wastewater* [37], incluindo portanto, a maioria dos elementos.

Os resultados obtidos, expressos na tabela XV, página 63, indicam boa precisão na determinação dos elementos cujos coeficientes de variação apresentam valores abaixo de 10%. Já os elementos Sn, Pb, Cr, As, Se, e Hg, por apresentarem valores do coeficiente de variação

relativamente altos, indicam baixa reprodutibilidade nos resultados, indicando possivelmente a presença de problemas relacionados a algum tipo de interferência (matriz e/ou espectral).

De acordo com THOMPSON [67] e OLIVEIRA [27], interferências espectrais resultam da não habilidade de um espectrômetro em separar uma linha espectral emitida por um analito específico da luz emitida por outros átomos, íons ou espécies moleculares, ou seja, ocorre quando outras espécies apresentam linhas espectrais próximas ou coincidentes com aquela do elemento em determinação. O valor da intensidade medida será maior, resultando em uma concentração aparente maior do que a real. A figura 33 ilustra os tipos de interferências espectrais.



A - linha espectral sem interferência

B - pico do analito com um pequeno pico coincidente do interferente

C - pico do analito com sobreposição originário do pico de forte interferente

D - pico do analito com intensa radiação de fundo ou background

Figura 33 : tipos de interferências espectrais [67].

A interferência de matriz se relaciona a todas as etapas do processo que se inicia desde a introdução da amostra até a excitação e emissão . As interferências associadas às etapas de nebulização, transporte, desolvatação e vaporização estão ligadas à mudança na velocidade com que a amostra é transportada para a fonte de excitação e formação do aerosol (devido às propriedades físicas da amostra em solução, como a tensão superficial, viscosidade, densidade e presença de sólidos em suspensão) sendo recomendável a preparação de padrões semelhantes à amostra ou equivalência de matriz. Nas interferências associadas à etapa de atomização e ionização, o efeito é fortemente relacionado à energia necessária para elevar átomos-íons do analito do estado fundamental ou de um estado de menor nível de energia para um estado de maior nível de energia. Linhas do analito com alto potencial de excitação são mais suscetíveis ao efeito do que aqueles com baixos potenciais de excitação. No caso da fonte plasma, devido à alta temperatura atingida, as linhas de emissão de íons constituem a maior parte das linhas de leitura. Em alguns casos, como para o Na e K, a energia da fonte não é suficiente para excitar os íons, sendo detectadas as linhas de emissão de átomos [27,67].

O item 5.3 a seguir apresenta as otimizações dos parâmetros instrumentais para as determinações dos elementos Sn, Pb e Cr através do espectrômetro Modula da *Spectro* e os itens 5.4 e 5.5 apresentam as otimizações dos parâmetros instrumentais e os resultados das determinações dos elementos As, Se e Hg em 21 amostras de café solúvel disponíveis no mercado brasileiro, através do espectrômetro *PSX* da *Baird*.

5.3. Otimização dos parâmetros instrumentais para as determinações do Sn, Pb e Cr

Os espectros de varredura (intensidade de emissão versus comprimento de onda) foram obtidos para os elementos Sn, Pb e Cr, e estão ilustrados nas figuras 34 a 38. No caso do Sn, a elevação da emissão de radiação de fundo apresentada pela amostra estava presente no comprimento de onda escolhido (189,926 nm). Optou-se por efetuar a correção da radiação de fundo através do *software* do equipamento neste comprimento de onda, pois outras linhas de emissão do analito se mostraram menos sensíveis e mais sujeitas a interferências espectrais devido a matriz das amostras.

A correção foi realizada nos seguintes comprimentos de onda :

- comprimento de onda prático de emissão do Sn: 189,903 nm;
- correção à direita: 189,923 nm;
- correção à esquerda: 189,883 nm.

A figura 34 a seguir apresenta as posições das correções de emissão de radiação de fundo.



Figura 34 – espectro de varredura do Sn (espectrômetro Modula da Spectro).

No caso do Pb, o espectro de varredura, figura 35, apresentou diferenças significativas de intensidade da linha base de emissão da amostra com a linha base de emissão do padrão (1mgL⁻¹) e um pico próximo de um ou mais elementos presentes na matriz. Neste caso, optou-se pela escolha de um comprimento de onda alternativo, sendo definida a linha de emissão 220,35 nm que apresentou-se livre de interferências espectrais e de matriz, conforme pode ser visto na figura 36.

O espectro de varredura apresentado pelo Cr, figura 37, apresentou instabilidade do sinal emitido pelo analito da amostra, estando muito próximo ao sinal emitido pelo branco. Como

no caso do Pb, também optou-se pela escolha de um comprimento de onda alternativo, sendo definida a linha de emissão 357,869 nm.

Nos casos do Pb e Cr, como as linhas de emissão selecionadas não apresentaram sensibilidade adequada, a relação massa de amostra/volume de solução relacionada com os limites de determinações destes elementos (Cr:0,01 µgmL⁻¹ e Pb: 0,10 µgmL⁻¹, conforme tabela IX, página 56) não foi conveniente para os níveis exigidos pela legislação brasileira vigente [3] que fixa os valores máximos permitidos de 1mgKg⁻¹ para o Pb e 0,1mgKg⁻¹ para o Cr. Por isto, estabeleceu-se o aumento da relação massa de amostra/volume de solução de 1g para 5g, implicando em um maior cuidado na mineralização da amostra e definindo-se as melhores condições conforme descrito no item 4.4.2, figura 25.

A amostra de café solúvel utilizada no item 5.2, página 62, foi enriquecida com Sn a uma concentração de 25 mgKg⁻¹ (equivalente a 0,5 µgmL⁻¹ na solução de análise) e tratada conforme descrito neste item. Os elementos Pb e Cr foram adicionados em concentrações de 5 mgKg⁻¹, equivalentes a 0,5 µgmL⁻¹ na solução de análise e a amostra foi tratada conforme descrito no item 4.4.2, figura 25.

A tabela XVII a seguir e a figura 39, apresentam os valores de recuperação médias destes elementos.

Tabela XVII: valores de recup	eração médias de Sn,	Pb e Cr na amostr	a de café solú	vel utilizada
no item 5.2.				

Elemento	Concentração presente	Concentração adicionada	Recuperado (n=3)
Sn	7,5 mgKg ⁻¹	25,0 mgKg ⁻¹	$26,0 \pm 0,3 \text{ mgKg}^{-1}$
Pb	< 1,0 mgKg ⁻¹	5,0 mgKg ⁻¹	5,1 \pm 0,5 mgKg ⁻¹
Cr	< 0,10 mgKg ⁻¹	5,0 mgKg ⁻¹	4,8 ± 0,3 mgKg ⁻¹



Figura 35 – espectro de varredura do Pb (espectrômetro Modula da Spectro).



Figura 36 – espectro de varredura do Pb em 220,35 nm (espectrômetro Modula da *Spectro*).

.



Figura 37 – espectro de varredura do Cr (espectrômetro Modula da Spectro).



Figura 38 – espectro de varredura do Cr em 357,869 nm (espectrômetro Modula da *Spectro*).





5.4. Otimização dos parâmetros instrumentais e determinação do As e Se

Foram obtidos os espectros de varreduras referentes aos elementos As e Se, figuras 40 a 43, nas mesmas soluções da amostra, em dois espectrômetros diferentes: Modula da *Spectro* e *PSX* da *Baird*. Estes espectros revelam a elevação da radiação de fundo nas determinações destes dois analitos, além de não apresentarem picos de emissão bem definidos, representados pela instabilidade do sinal emitido pela amostra (próximo ao sinal emitido pelo branco). Para as determinações do As e Se optou-se pela aplicação da técnica de geração de hidretos que permite a formação dos hidretos voláteis destes dois elementos separando-os da matriz da amostra e produzindo mais eficientemente átomos e íons destes analitos no plasma reduzindo, portanto, interferências de matriz e espectral e fornecendo menores valores de limites de determinação [69].



Figura 40 - espectro de varredura do As (espectrômetro Modula da Spectro).



Figura 41 – espectro de varredura do Se (espectrômetro Modula da Spectro).



Figura 42 - espectro de varredura do As (espectrômetro PSX da Baird).



Figura 43 – espectro de varredura do Se (espectrômetro PSX da Baird).

Otimização dos parâmetros de operação

O separador de fases ou gerador de hidretos construído de acordo com as especificações contidas no artigo publicado por OLIVEIRA et al. [49], figura 20, foi utilizado com sucesso sob as condições operacionais do espectrômetro *PSX* da *Baird*, tabela VII, página 54. O fluxo do gás argônio carregador de 0,6 L min⁻¹, normalmente usado na nebulização convencional por este equipamento, mostrou ser estável também para as determinações dos hidretos de As e Se. Com fluxo menores que este valor, a formação de bolhas (de gás hidrogênio) era alta e o dreno do separador de fases não funcionava perfeitamente. Em fluxos maiores, o argônio forçava todo o líquido do dreno a sair para fora do separador de fases com bastante violência, causando mudanças drásticas de pressão e como consequência a extinção do plasma.

Estudou-se também como OLIVEIRA et al. [49], a influência da concentração do HCI na sensibilidade da análise e o efeito da adição do KI (5 mL de uma solução a 5%m/v) como redutor do As(V) a As(III). Para este estudo foram preparadas as seguintes soluções:

- soluções do branco (Br) em concentrações de HCI de 1 a 7 mol/L;
- soluções de 50μgL⁻¹ de As(V) e Se(IV) em HCI (1 a 7 mol/L);
- soluções de 50µgL⁻¹ de As(V) e Se(IV) em HCI (1 a 7 mol/L) com adição de 5mL de solução de KI (5%m/v) com a geração dos hidretos realizada após 30 minutos de repouso, de acordo com Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater [37];
- solução de NaBH₄ 1% m/v em NaOH 0,1 mol/L.

A figura 44 apresenta as diferentes concentrações de HCI versus as intensidades de emissões em cps (contagens por segundo) dos analitos As e Se presentes nas condições especiais descritas acima.



Figura 44 - Influência da acidez na sensibilidade da análise dos hidretos de As e Se.

A linha de base representada pela solução do branco (Br) tanto do As como do Se apresentou-se com valores constantes nas diferentes concentrações do HCI. Uma maior sensibilidade, representada pela maior intensidade de emissão, é apresentada pelo Se(IV) em HCI 5 mol/L e 6 mol/L, porém a ação dos íons l⁻ como redutores do Se(IV) a Se elementar ficou evidenciada, resultando na emissão constante deste analito com intensidade próxima a linha de base do branco. A experiência também evidenciou a ação dos íons l⁻ na redução do As(V) a As(III) o qual melhorou a sensibilidade de análise deste analito pelo aumento da intensidade de emissão, como relatado por vários autores [49,50,51,52], contudo impede a determinação simultânea do Se(IV). Baseado nestas informações e no estudo realizado por BRIMMER, FAWEETT e KULHAVY [53], a concentração de ácido da matriz escolhida para a análise simultânea do As e Se foi 6 mol/L, sendo realizada eliminação prévia do HNO₃ através de evaporação lenta quase até a secura e redução do Se(VI) a Se(IV) através de aquecimento a $90 \pm 5^{\circ}$ C por 30 minutos em HCI 6 mol/L, conforme descrito no item 4.4.2, figura 27.

As matrizes das amostras influenciaram diferentemente na intensidade da radiação de fundo daquelas produzidas pelo branco e padrões durante a geração de hidretos. Para maior segurança da análise utilizou-se valores do limite de detecção prático ou limite de determinação, sendo 2µgL⁻¹ para o As e 1µgL⁻¹ para o Se. Estes limites, quando relacionados à massa de amostra e ao volume de solução, apresentam valores que atendem aos fixados pela legislação brasileira de alimentos [3].

Nas figuras 45 a 54 são apresentados os gráficos de varreduras dos analitos As e Se empregando-se a técnica de geração de hidretos, de acordo com as condições instrumentais defindas na tabela VII, página 54, sendo os espectros relativos ao branco, amostra, amostra enriquecida (adição de quantidades conhecidas de As e Se após mineralização e tratamento da amostra conforme apresentado na figura 27, item 4.4.2) com 1µgL⁻¹, 5µgL⁻¹, 10 µgL⁻¹, 20 µgL⁻¹, branco e padrão de 20µgL⁻¹.



Figura 45 - espectro de varredura do As: branco +amostra + padrão de 20µgL⁻¹.



Figura 46 - espectro de varredura do As: amostra + amostra enriquecida com 1µgL⁻¹ + padrão de 20µgL⁻¹.



Figura 47 - espectro de varredura do As: amostra + amostra enriquecida com 5µgL⁻¹ + padrão de 20µgL⁻¹.



Figura 48 - espectro de varredura do As: amostra + amostra enriquecida com 10µgL⁻¹ + padrão de 20µgL⁻¹.



Figura 49 – espectro de varredura do As: amostra + amostra enriquecida com 20µgL⁻¹ + padrão de 20µgL⁻¹.



Figura 50 - espectro de varredura do Se: branco +amostra + padrão de 20µgL⁻¹.



Figura 51 - espectro de varredura do Se: amostra + amostra enriquecida com 1µgL⁻¹ + padrão de 20µgL⁻¹.



Figura 52 – espectro de varredura do Se: amostra + amostra enriquecida com 5µgL⁻¹ + padrão de 20µgL⁻¹.



Figura 53 – espectro de varredura do Se: amostra + amostra enriquecida com $10\mu gL^{-1}$ + padrão de $20\mu gL^{-1}$.



Figura 54 - espectro de varredura do Se: amostra + amostra enriquecida com 20µgL⁻¹ + padrão de 20µgL⁻¹.

Resultados obtidos das determinações de As e Se nas amostras de café solúvel

A tabela XVIII apresenta os resultados das determinações de As e Se realizadas em triplicata em 21 amostras de café solúvel disponíveis no mercado brasileiro utilizando o espectrômetro *PSX* da *Baird*, de acordo com as condições instrumentais definidas na tabela VII, página 54.

	Elemento	As mgKg ⁻¹	Se mgKg ⁻¹
Amostra			
01		<0,2	<0,1
02	and the second second	<0,2	<0,1
03		<0,2	<0,1
04		<0,2	<0,1
05		<0,2	<0,1
06		<0,2	<0,1
07		<0,2	<0,1
08		<0,2	<0,1
09		<0,2	<0,1
10		<0,2	<0,1
11		<0,2	<0,1
12		<0,2	<0,1
13		<0,2	<0,1
14	and the second	<0,2	<0,1
15		<0,2	<0,1
16	Second a second second second	<0,2	<0,1
17		<0,2	<0,1
18	and a standard and a second second	<0,2	<0,1
19		<0,2	<0,1
20		<0,2	<0,1
21		<0,2	<0,1

Tabela XVIII: resultados das determinações de As e Se nas 21 amostras de café solúvel (n=3).

Os resultados obtidos apresentaram-se abaixo dos limites de determinação atendendo aos valores estabelecidos pela legislação brasileira de alimentos vigente [3], que fixa concentrações máximas para o As de 1,00 mgKg⁻¹ e Se de 0,3 mgKg⁻¹. Três amostras enriquecidas com 1mgKg⁻¹ equivalente a 10µgL⁻¹ de As e Se nas soluções de análise, passando por todo o processo de preparação das amostras, apresentaram valores médios de recuperações aceitáveis. A tabela XIX e a figura 55 a seguir apresentam estes valores para cada amostra.
Tabela XIX: valores	de recuperação médias	de As e Se em três	amostras de café solúvel.
	and the superior streams		

Amostra	As mgKg ⁻¹	Se mgKg ⁻¹
02	1,0 ± 0,1	1,1 ± 0,1
05	1,0 ± 0,1	1,0 ± 0,1
13	1,1 ± 0,1	1,0 ± 0,1





5.5. Otimização dos parâmetros instrumentais e determinação do Hg

De acordo com a tabela XVI, página 64, a determinação do Hg através do sistema de nebulização convencional apresentou boa porcentagem de recuperação, contudo baixa precisão. O espectro de varredura obtido, figura 56 a seguir, apresentou pequena variação do sinal emitido pela amostra, e o pico de emissão do analito não esta bem definido. Além disto o limite de determinação (0,005 mgL⁻¹), quando relacionado com a massa de amostra e volume da solução de análise (1g/50mL), não é adequado para garantir níveis de concentrações abaixo do especificado pela legislação brasileira de alimentos [3]. Um método alternativo para avaliação segura do Hg sem a presença de interferência de matriz e espectral é a utilização da técnica de .geração de vapor frio que foi aplicado no presente trabalho para a determinação deste analito.



Figura 56 – espectro de varredura do Hg (espec. trômetro Modula da Spectro).

Otimização dos parâmetros de operação

Da mesma maneira que nas determinações do As e Se, o separador de fases ou gerador de hidretos construído de acordo com as especificações contidas no artigo publicado por OLIVEIRA et al.[49], figura 20, foi utilizado com sucesso sob as condições operacionais do espectrômetro *PSX* da *Baird*. As soluções padrões de Hg foram preparadas levando-se em conta a concentração de HNO₃ adicionado às ^a.mostras, ou seja, 60% v/v, e mesmo através desta elevada acidez, o sistema apresentou-se estável, sendo obtido bons valores de intensidades de emissão representados pelo aceitável coeficiente de correlação linear, tabela XI, página 57.

Resultados obtidos das determinações de Hg nas amostras de café solúvel

Os resultados da determinação do Hg realizadas em triplicata nas 21 amostras de café solúvel são apresentados na tabela XX.

Amostras	Hg mgKg ⁻¹
01	<0,01
02	<0,01
03	<0,01
04	<0,01
05	<0,01
06	<0,01
07	<0,01
08	<0,01
09	<0,01
10	<0,01
11	<0,01
12	<0,01
13	<0,01
14	<0,01
15	<0,01
16	<0,01
17	<0,01
18	<0,01
19	<0,01
20	<0,01
21	<0,01

Tabela XX: resultados da determinação do Hg nas 21 amostras de café solúvel (n=3).

Os resultados obtidos apresentaram-se abaixo do limite de determinação da técnica, porém atendendo ao valor estabelecido pela legislação brasileira de alimentos vigente [3], que fixa a concentração máxima para o Hg de 0,01 mgKg⁻¹. Três amostras enriquecidas com 0,1mgKg⁻¹ deste elemento, equivalente a 10µgL⁻¹ na solução de análise, apresentaram recuperações médias de 70 a 95%, considerados bons valores levando em consideração a possibilidade de perda por volatilização deste analito que pode ocorrer no presente método de análise proposto. A tabela XXI e figura 57 a seguir apresentam estes valores para cada amostra.



Tabela XXI: valores de recuperação médias de Hg em três amostras de café solúvel.



As matrizes das amostras não causaram nenhum tipo de instabilidade no sistema nem apresentaram variações significativas de intensidades de emissão durante a reação com o NaBH₄, onde o vapor de Hg, caso presente, era formado através da reação de redução com este reagente. Desta maneira foi possível a utilização do limite de detecção instrumental de 0,98µgL⁻¹ ou 1,0µgL⁻¹, como limite de detecção prático ou limite de determinação. As figuras 58 a 61, apresentam gráficos de varredura de uma amostra, amostra enriquecida (adição de quantidades conhecidas de Hg após mineralização e tratamento da amostra conforme apresentado na figura 26, item 4.4.2) com de 1µgL⁻¹, 5µgL⁻¹, 10µgL⁻¹, branco e padrão de 20 µgL⁻¹.



Figura 58 - espectro de varredura do Hg: branco + amostra + padrão de 20 μ gL⁻¹.



Figura 59 - espectro de varredura do Hg: amostra + amostra enriquecida com $1\mu gL^{-1}$ + padrão de 20 μgL^{-1} .



Figura 60 – espectro de varredura do Hg: amostra + amostra enriquecida com $5\mu gL^{-1}$ + padrão de 20 μgL^{-1} .



Figura 61 - espectro de varredura do Hg: amostra + amostra enriquecida com 10μ gL⁻¹ + padrão de 20 μ gL⁻¹.

5.6. Determinações dos elementos: Na, K, Mg, Al, P, S, Ca, Mn, Fe, Cu, Zn, Ni, Cd, Sb, Cr e Pb nas 21 amostras de café solúvel disponíveis no mercado brasileiro

A tabela XXII a seguir apresenta os valores de concentração e desvios padrão obtidos das determinações realizadas em triplicatas de cada amostra de café solúvel. As figuras 62 a 73 ilustram as concentrações de Na, K, Mg, Al, P, S, Ca, Mn, Fe, Sn, Cu e Zn presente nas diferentes amostras. Os elementos Ni, Cd, Sb, Cr (exceção amostra 13) e Pb não foram detectados nos níveis dos limites de determinação.

	Cr Pb	mg/Kg mg/Kg		<0,1 <1,00		<0,1 <1,00		<0,1 <1,00		<0,1 <1,00		<0,1 <1,00		<0,1 <1,00		<0,1 <1,00		<0,1 <1,00		<0,1 <1,00		<0,1 <1,00		<0,1 <1,00		<0,1 <1,00		0,52 <1,00	± 0,02	<0,1 <1,00		<0,1 <1,00		<0,1 <1,00		<0,1 <1,00		<0,1 <1,00		<0,1 <1,00		<0,1 <1,00		/0.1
	qS	mg/Kg		<2,00		<2,00		<2,00		<2,00		<2,00		<2,00		<2,00		<2,00		<2,00		<2,00		<2,00		<2,00		<2,00		<2,00		<2,00		<2,00		<2,00		<2,00		<2,00		<2,00		~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~
l (n=3).	Cd	mg/Kg		<0,25		<0,25		<0,25		<0,25		<0,25		<0,25		<0,25		<0,25		<0,25		<0,25		<0'52		<0,25		<0,25		<0,25		<0,25		<0,25		<0,25		<0,25		<0,25		<0,25		/0 JE
solúvel	ïN	mg/Kg		<2,50		<2,50		<2,50		<2,50		<2,50		<2,50		<2,50		<2,50		<2,50		<2,50		<2,50		<2,50		<2,50		<2,50		<2,50		<2,50		<2,50		<2,50		<2,50		<2,50		/2 ED
s de café	Zn	mg/Kg		3,17	±0,29	5,67	±0,29	8,50	± 0,80	8,17	± 0,29	10,67	± 1,44	7,75	± 0,35	10,00	± 0,71	15,00	± 1,00	15,17	± 0,76	7,25	± 0,35	4,33	± 0,50	3,80	± 0,29	7,83	± 0,29	5,33	± 0,29	10,17	± 0,76	3,50	± 0,3	3,33	± 0,29	4,33	± 0,29	7,83	± 0,29	4,00	± 0,38	£ 17
amostra	Cu	mg/Kg		1,58	± 0,01	1,38	± 0,06	1,47	± 0,01	2,27	± 0,11	2,33	± 0,23	2,15	± 0,13	1,26	± 0,15	0,53	± 0,02	1,87	± 0,14	1,18	± 0,11	1,09	± 0,01	0,95	± 0,09	1,51	± 0,06	0,50	± 0,03	1,72	± 0,20	0,51	± 0,01	0,54	± 0,01	0,87	± 0,02	0,79	± 0,01	1,32	± 0,07	1 0.5
s nas 21	Sn	mg/Kg		9,3	± 0,5	8,5	± 1,3	8,7	± 0,5	0 '6	± 0,5	7,6	± 1,0	6,4	± 0,4	8,8	± 1,1	6,4	± 1,3	6'6	± 0,7	8,9	± 0,6	9,4	± 1,0	9,4	± 1,2	8,5	± 1,1	7,7	± 0,6	11,6	± 0,9	9,6	± 0,8	9,6	± 0,7	8,5	± 1,1	8,5	± 0,7	8,1	± 0,9	9
minados	Fe	mg/Kg		39,8	± 1,0	37,9	± 3,6	32,1	± 1,8	31,6	± 2,1	39,9	± 2,9	31,1	± 1,7	144,3	± 8,8	107,8	± 7,2	287,2	± 13,4	48,9	± 2,5	24,6	± 1,7	17,8	± 2,0	450,8	± 5,0	46,2	± 0,4	256,3	± 2,0	14,0	± 0,3	16,8	± 0,2	37,0	± 1,5	17,8	± 1,6	38,2	± 1,4	A 7 A
cos detei	Mn	mg/Kg		6,82	± 0,61	5,60	± 0,08	9,48	± 0,79	14,24	± 0,67	27,90	± 1,00	12,20	± 0,54	14,52	± 1,35	15,18	± 1,58	21,27	± 0,82	15,06	± 0,60	8,48	± 0,17	4,26	± 0,05	38,85	± 0,58	19,38	± 0,76	22,66	± 0,46	13,86	± 0,26	3,62	± 0,08	18,06	± 0,56	13,38	± 0,32	17,70	± 0,62	14.02
inorgâni	Ca	g/100g		0,135	± 0,003	0,130	± 0,001	0,150	± 0,006	0,159	± 0,002	0,167	± 0,003	0,146	± 0,004	0,136	± 0,005	0,125	± 0,006	0,142	± 0,004	0,156	± 0,002	0,116	± 0,001	0,111	± 0,001	0,189	± 0,004	0,106	± 0,001	0,144	± 0,001	0,134	± 0,001	0,117	± 0,003	0,149	± 0,001	0,131	± 0,003	0,143	± 0,002	0 114
lementos	S	g/100g		0,173	E 0,004	0,170	E 0,002	0,172	E 0,008	0,199	E 0,002	0,191	E 0,004	0,206	E 0,005	0,148	E 0,004	0,184	E 0,012	0,175	E 0,005	0,182	E 0,004	0,156	E 0,001	0,169	E 0,001	0,175	± 0,004	0,162	± 0,003	0,176	± 0,001	0,164	± 0,001	0,173	± 0,005	0,204	± 0,002	0,164	± 0,004	0,197	± 0,002	0 174
a os 17 e	۵.	/100g		,336	0,005	,316	0,004	,358	0,012	,361	o,007 ∃	,372	0,006	,400	0,009	,272	o,006 ∣ ∃	,344	0,020	,297	0,007	,410	0,013	,344	0,003	,356	°,006),223	0,002	,345	0,008),313	0,002	,378	0,002	,354	0,009	,407	0,003),367	0,005	0,386	0,004	1406
lrão para	AI	J/Kg g/		5,0 0	++	5,0 0	++	5,0 0	++	5,0 0	++	5,0 0	+	5,0 0	Ŧ	18,6 0	6,3 ±	7,9 0	4,1 ±	6,4 0	5,0 ±	5,0 0	++	5,0 0	++	2,7 0	0,6 ±	18,2 0	5,4 ±	9,7 0	1,5 ±	33,4 C	7,4 ±	5,0 0	++	5,0 0	++	4,4	2,2 ±	5,0 0	++	6,0	2,2 ±	
ios pac		g		× _	2	~ _	90	~	5	×	4	~	8	×	4	1	2 ±	°° O	+ 53	1	+	~	5	•	33	9)5 +	2 14	+ 90	5)5 <u>±</u>	4	4	~ 	6	~ ~	12	7	+ 60	2 2	96	-	12	-
e desv	Mg	g/100		0,32	± 0,0C	0,31	± 0,00	0,31	± 0,01	0,384	± 0,01	0,39	± 0,01	0,41	± 0,02	0,28	± 0,0	0,36(± 0,02	0,30	± 0,01	0,37	± 0,00	0,37	± 0,00	0,32	± 0,00	0,21	± 0,0(0,32	± 0,00	0,27.	± 0,0	0,37	+ 0,0	0,32	± 0,0	0,37	± 0,0(0,37	± 0,0(0,36	± 0,0	0.35
entração	¥	g/100g		3,63	± 0,08	3,46	± 0,02	3,47	± 0,14	3,65	± 0,04	3,92	± 0,16	4,58	± 0,08	4,73	± 0,16	3,89	± 0,21	5,17	± 0,20	3,46	± 0,11	3,58	± 0,04	3,48	± 0,04	3,98	± 0,02	3,46	± 0,06	4,76	± 0,08	3,64	± 0,05	3,25	± 0,07	3,49	± 0,04	3,50	± 0,08	3,43	± 0,05	3 55
XII - Conce	Na	g/100g		0,0583	± 0,0012	0,0531	± 0,0008	0,1550	± 0,0063	0,1743	± 0,0042	0,1483	± 0,0067	0,1084	± 0,0025	0,0322	± 0,0019	0,0325	± 0,0022	0,0363	± 0,0007	0,0274	± 0,0002	0,0322	± 0,0005	0,0290	± 0,0005	0,3225	± 0,0018	0,6665	± 0,0170	0,0327	± 0,0005	0,0288	± 0,0006	0,0298	± 0,0005	0,1492	± 0,0012	0,0376	± 0,0009	0,1489	± 0,0010	0 0287
Tabela X	Elem.		Am.	01		02		03		04		05		90		07		08		60		10		11		12		13		14		15		16		17		18		19		20		21



Figuras 62 a 73:ilustração das concentrações presentes de Na, K, Mg, Al, P, S, Ca, Mn, Fe, Sn, Cu e Zn nas amostras.























Elementos de concentrações maiores: macronutrientes

Os macronutrientes se apresentaram nas seguintes faixas de concentrações, de acordo com a tabela XXII, página 95:

- Na: 0,03 a 0,200%m/m, com exceção das amostras 13 (0,32%m/m) e 14 (0,67%m/m);
- K: 3,5 a 5,2%m/m;
- Mg: 0,20 a 0,40%m/m;
- P: 0,20 a 0,40%m/m;
- S: 0,15 a 0,20%m/m;
- Ca: 0,10 a 0,20%m/m.

DEBRY [4] relata que a concentração de Na, K, Ca e P presentes no café solúvel possuem em média os seguintes valores:

- Na: 0,05%m/m;
- K: 4%m/m;
- Ca: 0,15%m/m;
- P: 0,35%m/m.

O teor de S e Mg presentes nos grãos de café crú são em média de 0,13%m/m para o S e 0,16 a 0,31%m/m para o Mg. Os valores encontrados estão bastante próximos aos relatados por esta referência. Contudo, as diferentes concentrações obtidas, principalmente o valor de Na nas amostras 13 e 14, podem ser devidos à região de origem do cultivo do grão de café e/ou diferentes processos na industrialização para obtenção do café solúvel.

Elementos de concentrações menores: micronutrientes

Os micronutrientes se apresentaram nas seguintes faixas de concentrações, de acordo com a tabela XXII, página 95:

- Mn: 3,6 a 28 mgKg⁻¹, exceção da amostra 13 (38,85 mgKg⁻¹);
- Fe: 14 a 49 mgKg⁻¹ (76% das amostras)

107 a 287 mgKg⁻¹ (4 amostras representando 19% do total)

450,8 mgKg⁻¹ valor apresentado pela amostra 13;

- Cu: 0,5 a 2,3 mgKg⁻¹;
- Zn: 3 a 15 mgKg⁻¹.

No caso dos micronutrientes, DEBRY[4] relata que em média os teores presentes no café solúvel são os seguintes:

- Fe: 45 mgKg⁻¹;
- Cu: 0,5 mgKg⁻¹;
- **Zn:** 5 mgKg^{-1} .

SUZUKI et al. [22] relatam que a concentração do Cu é de 2,4 mgKg⁻¹. LARA et al.[16] trabalharam com o café bebida a partir da extração com água fervente do pó de café no qual apresentam o teor médio de Cu igual a 1,2 mgKg⁻¹. As amostras analisadas são bastante ricas em micronutrientes, com algumas apresentando teores elevados de determinados elementos. Em termos de concentrações presentes a níves de contaminação, a legislação brasileira [3] fixa valores máximos entre os micronutrientes apenas para o Cu (30 mgKg⁻¹) e Zn (50 mgKg⁻¹), nenhuma das amostras portanto, apresentam valores próximos a estes.

O Fe foi o que apresentou maior variação com teores altos em 5 amostras. Da mesma maneira que o Na, a concentração presente deste elemento deve estar provavelmente relacionada com o tipo de solo onde foi cultivado o café e/ou pelas diferenças de processos industriais de obtenção do produto.

Considerando o consumo diário de 1 copo de café (aproximadamente 200 mL correspondente a 2g de café solúvel) podemos calcular a contribuição dos nutrientes para a **Ingestão Diária Recomendada (IDR)**, definida como a quantidade de vitaminas, minerais e proteínas que deve ser consumida diariamente para atender às necessidades nutricionais da maior parte dos indivíduos e grupos de pessoas de uma população sadia, segundo a Portaria nº 33 de 13 de janeiro de 1998 da Secretaria de Vigilância Sanitária do Brasil [70].

A tabela XXIII a seguir apresenta esta contribuição dos nutrientes Ca, P, Mg, Fe, Zn, Cu, Mn, Na e K.

Tabela XXIII : contribuição da presença de nutrientes presentes em amostras de café solúvel do mercado brasileiro para a Ingestão Diária Recomendada (IDR) de adultos e crianças.

Nutriente	IDR-crianças	IDR-Adultos	Am. Café sol.	contribuição	Contribuição
	7 – 10 anos	11 - 50+ anos	Nutrientes	IDR-crianças	IDR-adultos
	(mg)	(mg)	(mg)	(%)	(%)
¹ Ca	800	800	2,0 a 4,0	0,25 a 0,5	0,25 a 0,5
¹ P	800	800	4,0 a 8,0	0,5 a 1,0	0,5 a 1,0
¹ Mg	170	300	4,0 a 8,0	2,6 a 4,7	1,3 a 2,7
¹ Fe	10	14	0,028 a 0,1	0,28 a 1	0,20 a 0,7
			0,21a 0,57	2,1 a 5,7	1,5 a 4,1
			0,90 (am13)	9,9 (am 13)	6,4 (am 13)
¹ Zn	10	15	0,0060 a 0,03	0,06 a 0,3	0,04 a 0,2
¹ Cu	Média 1,5 1,0 a 2,0	3,0	0,0010 a 0,0046	0,07 a 0,31	0,03 a 0,15
¹ Mn	Média 2,5 2,0 a 3,0	5	0,0072 a 0,056	0,28 a 2,24	0,14 a 1,12
² Na	400	500	0,6 a 4,0	0,15 a 1	0,12 a 0,8
			6,4 (am13)	1,6 (am 13)	1,3 (am 13)
			13,4 (am 14)	3,35 (am 14)	2,70 (am 14)
²K	1600	2000	70 a 104	4,4 a 6,5	3,5 a 5,2

¹ Fonte: Portaria nº 33, de 13 de janeiro de 1998 [70];

² Fonte: Foods & Nutrition [71].

De uma maneira geral, considerando o consumo diário de 1 copo de café solúvel, a contribuição dos nutrientes Ca, P, Mg, Fe, Zn, Cu, Mn, Na e K para a Ingestão Diária recomendada (IDR) é de 2,1 a 3,4 % para crianças (7 a 10 anos) e 1,8 a 2,9 % para adultos (sendo a faixa de idade de 11 a 50+ anos). Contudo, é necessário um estudo complementar da biodisponibilidade destes nutrientes presentes no café solúvel.

Elementos contaminantes

Os elementos considerados como contaminantes inorgânicos apresentaram-se nas seguintes concentrações:

Al: não detectado ao nível de 5,0 mgKg⁻¹ (57% das amostras);

16 a 38 mgKg⁻¹ (5 amostras representando 24% do total das amostras);

119 a 233 mgKg⁻¹ (4 amostras representando 19% do total das amostras).

■ Sn: 6 a 12 mgKg⁻¹;

- Ni: não detectado ao nível de 2,50 mgKg⁻¹;
- Cd: não detectado ao nível de 0,25 mgKg⁻¹;
- Sb: não detectado ao nível de 2,00 mgKg⁻¹;
- Cr: não detectado ao nível de 0,1 mgKg⁻¹;
- Pb: não detectado ao nível de 0,45 mgKg⁻¹;

Apesar de um grupo de amostras apresentar teores variados do Al, o valor definido pela legislação brasileira [3] é de no máximo 2%m/m, portanto bem acima do que aqueles encontrados nas diferentes amostras analisadas. O trabalho de KOCH et al. [20] relata a presença de Al em café para infusão na faixa de 20,7 a 30,6 mgKg⁻¹, estando próximo à faixa de 16 a 38 mgKg⁻¹ encontrados em 5 amostras.

O teor de Sn (6 a 12 mgKg⁻¹) está abaixo do limite especificado pela legislação brasileira [3], com valor máximo de 150 mgKg⁻¹.

Os valores definidos pela legislação brasileira [3] para os demais elementos são:

- Ni: 5,00 mgKg⁻¹ máximo;
- Sb: 2,00 mgKg⁻¹ máximo;
- Cd: 1,00 mgKg⁻¹ máximo;
- Cr: 0,10 mgKg⁻¹ máximo;
- Pb: 1,00 mgKg⁻¹ máximo;
- As: 1,00 mgKg⁻¹ máximo;
- Se: 0,30 mgKg⁻¹ máximo;
- Hg: 0,01 mgKg⁻¹ máximo.

Ni, Sb, Cd, Cr, Pb, As, Se e Hg não foram detectados aos níveis de concentrações definidos pela legislação brasileira [3] com exceção do Cr na amostra 13. O valor encontrado deste elemento, 0,52 ± 0,02 mgKg⁻¹, indica contaminação do produto, pois o teor presente é 5 vezes maior que o valor permitido. Grande probabilidade da fonte de contaminação pode ser atribuído a embalagem utilizada pelo fabricante, pois trata-se de recipiente de metal. A figura 74 a seguir apresenta o gráfico de varredura da amostra 13 enriquecida com quantidades

conhecidas de Cr, sendo: branco, amostra 13, amostra 13 + 0,1μgCr/mL, amostra 13 + 0,5μgCr/mL e padrão de 1 μgCr/mL..



Figura 74 - espectro de varredura do Cr na amostra 13 (espectrômetro Modula da Spectro).

5.7. Análise de componentes principais e *cluster* hierárquicos aos dados de concentrações referentes aos elementos Na, K, Mg, Al, P, S, Ca, Mn, Fe, Sn, Cu e Zn

As ferramentas estatísticas **análise de componentes principais e** *cluster* **hierárquicos** foram aplicados aos dados de concentrações da tabela XXII, página 95, referentes aos elementos Na, K, Mg, AI, P, S, Ca, Mn, Fe, Sn, Cu e Zn. Os elementos As, Se, Ni, Cd, Sb, Cr (exceção amostra 13), Pb e Hg não foram detectados aos níveis dos limites de determinação e por isto não foram relacionados aos dados para as análises estatísticas.

Análise de componentes principais

As tabelas XXIV, XXV e XXVI a seguir apresentam os dados referentes a estatística final

após a aplicação do software estatístico SPSS para windows [62].

Variavel	Comunalidade ¹	variavel	comunalidade	fator ²	Autovalor ³	% variância ⁴	% variância acumulada ⁵
Al	0,88972	Mn	0,85659	1	4,94472	41,2	41,2
Ca	0,85482	Na	0,76652	2	2,55101	21,3	62,5
Cu	0,72296	P	0,83297	3	1,57159	13,1	75,6
Fe	0,93118	S	0,78528	4	1,02759	8,6	84,1
K	0,86480	Sn	0,83198				
Mg	0,88983	Zn	0,86826				

Tabela XXIV: Estatística final

•comunalidade¹ - refere-se à porcentagem da variância que é explicada (para cada variável) pelos componentes.

 Fatores (ou componentes)² - estão sendo interpretados como os possíveis fatores que influenciam a composição das amostras no caso do presente trabalho.

• Autovalor³, porcentagem de variância⁴ e porcentagem de variância acumulada⁵ - para escolher o número de componentes necessários para explicar os dados obtidos deve-se observar a porcentagem total da variância que é explicada pelos componentes. Os **autovalores** representam a variância total explicada em cada componente. Por exemplo o componente 1 possui autovalor igual a 4,94472, o qual representa 41,2 % da variância total (coluna de **porcentagem de variância⁴**). A última coluna, **porcentagem de variância acumulada⁵** indica a porcentagem de variância atribuída ao respectivo componente somada aos seus valores precedentes.

Na tabela XXV, página 108, as matrizes dos fatores (ou matriz dos componentes) são colocadas as variáveis e os valores dos pesos dos componentes que indicam qual é o peso atribuído a cada componente para explicar cada variável. A análise da influência de cada fator ou componente para explicar as variáveis foi realizada observando-se esta tabela com a figura 75 que mostra o gráfico: escores do componente 1 versus escores do componente 2 onde temos a maior porcentagem (62,5%) das variâncias explicadas. No presente trabalho foram considerados os valores dos pesos mais significativos iguais a no mínimo 0,7 (positivo ou

negativo). Assim, no componente 1 encontramos os maiores pesos para os elementos Fe e Al (correlação positiva) e Mg e P (correlação negativa) e no componente 2 Ca, Cu e S (correlação positiva). Os escores são apresentados na tabela XXIV e são estes valores que relacionam as amostras com os componentes.

Variáveis	componente 1	Componente 2
Mg	- 0,93592	0,06870
Р	- 0,86713	0,07400
Fe	0,81700	0,29990
Al	0,79190	0,16054
Са	0,20632	0,88537
Cu	0,02729	0,77325
S	- 0,48162	0,73450
Mn	0,45678	0,55238
Zn	0,13529	0,15876
К	0,36803	0,21419
Na	0,1764	0,01747
Sn	0,60340	- 0,01548

Tabela XXV: matriz dos fatores ou componentes

Tabela XXVI:	escores dos	componentes :	relacionados	com as amostras
	0000100 000	00111001100110001		

Amostras	escores (componente 1)	Escores (componente 2)
01	0,18338	0,03925
02	0,11665	- 0,51596
03	- 0,02394	0,06957
04	- 0,60607	1,55175
05	-0,86742	1,62086
06	- 1,73767	1,04038
07	1,05924	- 1,05783
08	- 0,96920	- 1,174 <u>5</u> 9
09	1,03086	0,21963
10	- 0,57496	0,61732
11	- 0,06859	- 1,02306
12	0,03734	- 0,99347
13	2,72770	1,47715
14	0,28052	-1,66244
15	1,82712	0,66130
16	-0,08502	- 0,58418
17	0,06711	- 0,98180
18	- 0,65050	0,85638
19	- 0,48261	- 0,79371
20	- 0,51304	0,76177
21	- 0,75089	- 0,12834

Na figura 75 onde temos 62,5% da variância total do sistema explicado, observa-se que a maioria das amostras possuem composições diferentes umas das outras resultando em uma certa dispersão no plano definido pelos componentes 1 e 2. A amostra 13 é a que se destaca pela separação em relação as demais devido a sua alta correlação positiva com os dois componentes. Esta amostra é rica em minerais, se destacando pelo valor de concentração maior dos elementos Na, Al, Ca, Mn e Fe e ao contrário das demais que foram produzidas nos estados do Paraná, São Paulo e Minas Gerais, esta é a única amostra de origem do estado do Espirito Santo, evidenciando condições diferentes do solo onde é cultivado o café e/ou provavelmente diferenças no processo industrial para a obtenção do café solúvel.



Figura 75: análise de componentes principais - componente 1 versus componente 2.

Análise de Clusters hierárquicos

A figura 76 apresenta o **dendrograma** que mostra como ocorrem os agrupamentos após aplicação do método de *Ward* através do programa computacional SPSS para *windows* [62] aos dados de concentração da tabela XXII, página 95. A escala superior do dendrograma vai de 0 a 25 (linha pontilhada) a qual serve para o observador ter uma idéia das distâncias em que ocorrem os agrupamentos.



Distância entre clusters reescalonada

Figura 76 - Dendrograma da análise de cluster

A análise de *clusters* no estágio representado por (*) nos revela 10 *clusters* principais: *cluster* 1 agrupando as amostras 12,17,16 19 e 11; *cluster* 2 com as amostras 1, 2 e 3; *cluster* 3 a amostra 14; *cluster* 4 as amostras 4 e 5; *cluster* 5 a amostra 6; *cluster* 6 as amostras 18, 20,10 e 21; *cluster* 7 a amostra 8; *cluster* 8 as amostras 9 e 15; *cluster* 9 a amostra 7 e o *cluster* 10 a amostra 13. Os *clusters* 1, 2, 4, 6 (amostras 18 e 20) e 8 possuem amostras que estão disponíveis no mercado com nomes e/ou embalagens diferentes, porém cada *cluster* com seu respectivo conjunto de amostras são de um mesmo produtor. Assim por exemplo as amostras 12, 17, 16, 19 e 11 do *cluster* 1, são todas produzidas pelo mesmo produtor, mas disponíveis no mercado em embalagens e/ou nomes diferentes e apresentam portanto uma composição mineral semelhante entre elas porém diferente das amostras de outros produtores. A análise de *clusters* também nos revela que a amostra 13 é a que apresenta menos semelhança com as demais. A figura 77 apresenta a análise de componentes principais onde temos os escores do componente 1 versus os escores do componente 2 com a identificação dos *clusters* obtidos do dendrograma na figura 76. Uma boa concordância entre estas duas ferramentas estatísticas é observada considerando que o componente 1 versus o componente 2 explicam 62,5% da variância total apresentada na análise dos constituintes minerais presentes nas amostras de café solúvel.



Figura 77 - Análise de componentes principais - componente 1 versus componente 2 com a identificação dos *clusters* obtidos do dendrograma na figura 18.

6.0. CONCLUSÕES

Quanto aos métodos de mineralizações

Nas determinações dos elementos **Na**, **K**, **Mg**, **AI**, **P**, **S**, **Ca**, **Mn**, **Fe**, **Sn**, **Ni**, **Cu**, **Zn**, **Cd Sb** e no tratamento inicial para análise do **As** e **Se**, a utilização do sistema microondas focalizado empregando HNO₃ e H₂O₂ permitiu uma mineralização rápida e eficiente das amostras utilizando poucas quantidades destes reagentes em um tempo de somente 15 minutos. O mesmo sistema de microondas focalizado empregando HNO₃ e H₂O₂, apesar de consumir maior tempo e menor potência, também foi eficiente na mineralização das amostras de café solúvel onde foram determinados os elementos **Pb**, **Cr** e **Hg**, o que foi comprovado através dos valores aceitáveis de recuperação em amostras enriquecidas com quantidades conhecidas destes analitos.

Quanto às determinações de Na, K, Mg, Al, P, S, Ca, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Cd e Sb

A determinação destes elementos não apresentou problemas de interferências de matriz e/ou espectral sendo que os resultados obtidos apresentaram-se com níveis satisfatórios de precisão e exatidão.

Quanto à determinação de Sn

A correção da radiação de fundo possibilitou a determinação deste analito com segurança.

Quanto às determinações de Pb e Cr

A escolha de comprimentos de onda alternativos possibilitaram as suas determinações e com o aumento da relação massa de amostra/volume de solução atingiu-se limites de determinação coerentes com os valores especificados pela legislação brasileira de alimentos.

Quanto às determinações de As, Se e Hg

O emprego da técnica de geração de hidretos e vapor frio acoplado ao ICP-AES através da utilização do gerador de hidretos ou separador de fases, permitiu as determinações de As, Se e Hg nas amostras de café solúvel, eliminando os problemas de interferências de matriz e espectral, fornecendo baixos limites de determinação.

Quanto aos resultados gerais obtidos

A maior parte das amostras de café solúvel do mercado brasileiro se apresentam com composições minerais variadas. A aplicação das ferramentas estatísticas análise de *clusters* hierárquicos e componentes principais possibilitaram mais facilmente a identificação e visualização das amostras com diferentes composições minerais, agrupando as mais similares e relacionando os elementos químicos de maior contribuição para estas diferenças. Estas variações de composições minerais presentes nas amostras de café solúvel, podem ser devidas a diferenças existentes no processo de obtenção industrial do produto e/ou a fatores que influenciam no cultivo da planta do café, como o tipo de solo, o uso de corretivos com diferentes composições químicas e condições ambientais a que estão sujeitas as plantações. Assim, mesmo as amostras onde ocorreram maiores similaridades indicando serem pertencentes a um mesmo produtor, as composições minerais não foram as mesmas apresentando pequenas diferenças. Contudo os valores se apresentaram aceitáveis para o consumo humano, tanto no aspecto nutricional como toxicológico com exceção de uma amostra com teor de Cr acima do permitido pela legislação brasileira [3], sendo que a fonte de contaminação pode ser atribuída a embalagem de metal desta marca de café solúvel.

7.0. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Estudo da aplicação da técnica de geração de hidretos na determinação do Sb;
- Ampliação do número de amostras de café solúvel a serem analisadas e dos elementos nutrientes pesquisados, tais como o B, I⁻, F⁻ e Mo;
- Estudo e identificação das principais origens dos nutrientes e/ou possíveis fontes de contaminação por elementos tóxicos iniciando-se a pesquisa desde a plantação e cultivo até o processo de industrialização do café solúvel;
- Estudo da biodisponibilidade dos nutrientes presentes no café solúvel.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS¹

- [1] SILVA, Paulo. O Mercado de Café no Brasil.In:REVISTA ALIMENTOS & TECNOLOGIA, n.
 64. São Paulo, p.26-30. 1996.
- [2] OLIVEIRA, Elisabeth. Espectrometria de Emissão Atômica de Plasma de Argônio Induzido. In: I ENCONTRO NACIONAL SOBRE CONTAMINANTES INORGÂNICOS EM ALIMENTOS, 1988 : São Paulo. Anais, São Paulo, SP: Instituto Adolfo Lutz, 1988.
- [3] Compêndio da Legislação de Alimentos Atos do Ministério da Saúde. In: ADITIVOS INCIDENTAIS, v.1, capítulo 3, resolução nº 4, 1988.
- [4] DEBRY, Gerard. Coffee and Health. Paris: John Libbery Eurotext, 1994.
- [5] MASSON, Maria Lúcia; SOCCOL, Carlos Ricardo; VASSÃO, Eloise et al. Tecnologia do Café Solúvel I. Boletim do Centro de Processamento de Alimentos (CEPPA), UFPR, Curitiba, PR, v. 2 (2), p.1-16,1984.
- [6] QUAST, Dietrich G. Tecnologia do Café Solúvel. Boletim do Centro Tropical de Pesquisas e Tecnologia de Alimentos, Campinas, SP, v. 14,p.37 70, 1968.
- [7] JARDINE, José Gilberto; MORETTI, Roberto Hermínio. Tratamento Enzimático de Café para Redução da Viscosidade visando a obtenção de Café Solúvel. Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, v. 27(1), p.14-23, 1993.
- [8] MASSON, Maria Lúcia; CARLOS, Ricardo Soccol; VASSÃO, Eloise et al. Tecnologia do Café Solúvel II. Boletim do Centro de Processamento de Alimentos (CEPPA), UFPR, Curitiba, PR, v. 3 (1), p.13-20, 1985.
- [9] ENCICLOPÉDIA Mirador internacional . São Paulo: Encyclopaedia Britannica do Brasil, v.5, 1976.
- [10] OLIVEIRA, Elisabeth. Preparação de Amostras em Absorção Atômica. CG Instrumentos Instrumentos Científicos, Boletim Técnico, São Paulo, SP, 1991.
- [11] ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). Official Methods of Analysis, 15th Ed. Arlington, USA, v.1, p.237-242,1990.
- [12] MATUSIEWICZ, H.; STURGEON, R.E.; BERMAN,S.S. Trace Element Analysis of Biological Material Following Pressure Digestion with Nitric Acid - Hydrogen Peroxide and Microwave Heating. Journal of Analytical Atomic Spectrometry, v.4, p.323-327, 1989.
- [13] MUNILLA, M.;GOMEZ-PINILLA, I.; RODENAS, S.; LARREA, M.T. Determination of Metals in Seaweeds used as Food by Inductively Coupled Plasma Atomic - Emission Spectrometry. Analusis, v.23, p.463-466, 1995.
- [14] De La GUARDIA, M.; CARBONELLI, V.; MORALES-RUBIO, A.; SALVADOR, A. On-line Microwave – Assisted Digestion of Solid Samples for their Flame Atomic Spectometric Analysis. Talanta, v.40,11,p.1609-1617,1993.

¹De acordo com a Norma NBR 6023/89 preconizada pela Associação Brasileira de Normas Técnicas – ABNT.

- [15] HORWITZ, C.; VAN DER LINDEN, S. E. Cadmium and Cobalt in Tea and Coffee and their Relationship to Cardiovascular Disease. S. Afr. Medical Journal, v. 48,p. 230 -233, 1974.
- [16] LARA, H.M.; TOLEDO, M.; TAKAHASHI. Teores de Cobre em Café Torrado e Moído e em Café Bebida. Revista Instituto Adolfo Lutz, v. 35/36, p. 17-22, 1975/76.
- [17] KRIVAN, V.; BARTH, P.; MORALES, A. F. Multielement Analysis of Green Coffee and its Possible Use for the Determination of Origin. Mikrochimica Acta,v.110, p.217-236, 1993.
- [18] ORLIC, I.; MAKJANIC, J.; VALKOVIC, V. Optimization of XRFS for the Analysis of toxic Elements and Heavy Metals in Coffee Products. Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, v. 102, p.203-210, 1986.
- [19] KAPUR, J. K.; WEST T. S. Determination of Lead in Instant Coffee and Tea Powders by by Carbon Filament Atomic Absorption Spectrometry. Analytical Chimica Acta, v.73,p.180-184, 1974.
- [20] KOCH, K.R.; POUGNET, M.A.B.; STEPHANIE De VILLIERS.Determination of Aluminium Levels in Tea and Coffee by Inductively Coupled Plasma Emission Spectrometry and Grafite Furnace Atomic Absorption Spectrometry.Analyst, v. 114, p. 911-913, 1989.
- [21] KUENNEN, R. W.; HAHN, M. H.; FRICKE, F. L.; WOLNIK, K. A Hydride Generation and Condensation Flame Atomic Absorption Spectroscopic Determination of Antimony in Raw Coffee Beans and Processed Coffee. Journal of Association of Official Analytical Chemists, v. 65 (5), p.1146 - 1149, 1982.
- [22] SUZUKI, M.; OHTA,K.; KATSUNO,T. Determination of Traces of Lead and Copper in Foods by Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry with Metal Atomizer. Mikrochimica Acta, v. II, p.225-230, 1982.
- [23] GILLIES, M. E.; BIRKBECK, J. A. Tea and Coffee as Sources of Some Minerals in the New Zealand Diet. American Journal of Clinical Nutrition, v. 38, p.936 -942, 1983.
- [24] AMERICAN SOCIETY FOR METAL ACM HANDBOOK. Material Characterization, v.10 p.31-42,1986.
- [25] GREENFIELD,S; JONES,I. L; BERRY, CT. High- Pressure Plasmas as Spectroscopic Emission Source. Analyst, v.89, p.713-720,1964.
- [26] FASSEL, V.A.; WENDT, R.H. Induction-Coupled Plasma Spectrometric Excitation Source Analytical Chemistry, v.37, p.920-922,1965.
- [27] OLIVEIRA, Elisabeth. Espectrometria de Emissão Atômica (ICP- AES).Universidade de São Paulo, USP, Laboratório de Espectrometria de Emissão Atômica (apostila),1996.
- [28] GINÉ, M.F. Análises Químicas por Espectrometria de Plasma com Detetor de Massa. XXXVI Congresso Brasileiro de Química, ABQ,apostila do curso 02, 1996.
- [29] BOSS,C. B.;FREDEEN, K.J.Concepts, Instrumentation, and Techniques in Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry. Perkin Elmer Corporation, USA, 1989.

- [30] THOMPSON, M.; WALSH, J. N. Handbook of Inductively Coupled Plasma Spectrometry. 2nd, New York, 1989.
- [31] KINGSTON, H. M.; JASSIE, L. B.Introduction to Microwave Sample Preparation. ACS, Washington, 1988.
- [32]-OLIVEIRA, E. Solubilização de Amostras de Alimentos. In: IV ENCONTRO NACIONAL SOBRE CONTAMINANTES INORGÂNICOS EM ALIMENTOS, 1994: São Paulo. Anais, São Paulo, SP: Instituto Adolfo Lutz, 1994.
- [33] RUSSEL, J. B. Química Geral. McGroaw-Hill, São Paulo, 1982.
- [34] GENERAL GUIDELINES FOR MICROWAVE SAMPLE PREPARATION. CEM Corporation, 1988.
- [35] VOGEL, Arthur I. Química Analítica Qualitativa.Ed. 5. Mestre Jou. São Paulo, SP. p.252-256,1981.
- [36] FURMAN, N. N. Standard Methods of Chemical Analysis.Ed. 6. v.1: The Elements. USA, 1965.
- [37] Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 17th Edition. 1989.
- [38] BACCAN, Nivaldo. Técnicas de Geração de Hidretos em Espectrometria Atômica. In : IV ENCONTRO NACIONAL SOBRE CONTAMINANTES INORGÂNICOS EM ALIMENTOS, 1994: São Paulo. Anais, São Paulo, SP : Instituto Adolfo Lutz, 1994.
- [39] KAHN, H. L; SCHALLIS, J. Atomic Absorption Newsletter, 7, (5), 1968.
- [40] HOLAK, W. Gas Sampling Techinique for Arsenic Determination by Atomic Absorption Spectrophotometry. **Analytical Chemistry**, v. 41(12), p.1712-1713, 1969.
- [41] -CARUSO, J. A.; WOLNIK K.; FRICKE, F. Inductively Coupled Plasma in Analytical Atomic Spectrometry: Injection of Gaseous Samples into Plasmas.VHC, p. 487-525, 1987.
- [42] THOMPSON, M.; PAHLAVANPOUR, B.; WALTON, S. J. Simultaneous Determination of Trace Concentrations of Arsenic, Antimony, Bismuth, Selenium and Tellurium in Aqueous Solution by Introduction of the Gaseous Hydrides into an Inductively Coupled Plasma Source for Emission Spectrometry – Part II: Interference Studies. Analyst, v. 103, p. 705-713, 1978.
- [43] LAJUNEN, L. H. Spectrochemical Analysis by Atomic Absorption and Emission. Royal Society of Chemistry. p. 117-125, England, 1992.
- [44] ROBBINS, W. B.; CARUSO, J.A. Development of Hydrides Generation Methods for Atomic Spectroscopic Analysis. Analytical Chemistry, v. 51 (8), p.889A - 899A, 1979.
- [45] SCHIMIDT, F. J.; ROYER, J. L. Sub Microgram Determination of Arsenic, Selenium, Antimony and Bismuth by Absorption Utilizing Sodium Borohydrides Reduction. Analytical Letters, v.6 (1),p.17-23, 1973.

- [46] POLLOCK, E. N.; WEST, S.J. The Generation and Determination of Covalent Hydrides by Atomic Absorption. Atomic Absorption Newsletter, v.12 (1), p.6-8, 1973.
- [47] FERNANDEZ, F.J. Atomic Absorption Determination of Gaseous Hydrides Utilizing Sodium Borohydride Reduction. Atomic Absorption Newsletter, v.12 (4),p.93-97, 1973.
- [48] THOMPSON, K. C.; THOMERSON, D.R.Atomic-Absorption Studies on the Determination of Antimony, Arsenic, Bismuth, Germanium, Lead, Selenium, Tellurium and Tin by Utilising the Generation of Covalent Hydrides. Analyst, v. 99,p. 595-601, 1974.
- [49] OLIVEIRA E., MCLAREN J. W., BERMAN S.S. Simultaneous Determination of Arsenic, Antimony, and Selenium in Marine Samples by Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry. Analytical Chemistry, v. 55 (13),p. 2047-2050, 1983.
- [50] PAHLAVANPOUR B., THOMPSON M., THORNE L. Simultaneous Determination of Trace Concentrations of Arsenic, Antimony and Bismuth in Soils and Sediments by Volatile Hydride Generation and Inductively Coupled Plasma Emission Spectrometry. Analyst, v.105,p.756-761, 1980.
- [51] NAKAHARA T. Application of Hydride Generation to the Determination of Trace Concentrations of Arsenic by Inductively - Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry. Analytica Chimica Acta, v.131, p.73-82, 1981.
- [52] NYGAARD D. D., LOWRY J. H. Sample Digestion Procedures for Simultaneous Determination of Arsenic, Antimony, and Selenium by Inductively Coupled Argon Plasma Emission Spectrometry with Hydride Generation. Analytical Chemistry, v.54, p.803-807, 1982.
- [53] BRIMMER S.P., FAWCETT W. R., KULHAVY K. A. Quantitative Reduction of Selenate Ion to Selenite in Aqueous Samples. **Analytical Chemistry**, v. 59, p.1470-1471, 1987.
- [54] -THOMPSON, M.; PAHLAVANPOUR, B.; WALTON, S. J. Simultaneous Determination of Trace Concentrations of Arsenic, Antimony, Bismuth, Selenium and Tellurium in Aqueous Solution by Introduction of the Gaseous Hydrides into an Inductively Coupled Plasma Source for Emission Spectrometry – Part I: Preliminary Studies. Analyst, v.103, p.568-579, 1978.
- [55] OZAKI, Elisa Ozaki; OLIVEIRA, Elisabeth.Simultaneous Determination of Arsenic, Bismuth, and antimony in Steels and Nickel Alloys by Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry with hydride Generation. Journal of Analytical Atomic Spectrometry, v.8, p. 367-370,1993.
- [56] QUEIROZ, Isa Ramos. Determinação de Metilmercúrio em Peixes de Região de Garimpo, São Paulo, SP, 1985, Dissertação (Mestrado), Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo (USP).
- [57] CHRISTIAN, G. D. Analytical Chemistry. John Wiley & Sons, p. 738, 1994.
- [58] TOFFALETTI,J.; SAVORY, J. Use of Sodium Borohydride for Determination of Total Mercury in Urine by Atomic Absorption spectrometry. Analytical Chemistry, v.47(13), p.2091-2095, 1975.

- [59] ROONEY, R.C. Use of Borohydride for Cold-vapour Atomic-absorption Determination of Inorganic Mercury. Analyst, v. 101 p. 678-682, 1976.
- [60] WELZ, B. Atomic Absorption Spectrometry, VHC, second edition, p.79-81,1985.
- [61] -THOMPSON,M; COLES, B.J.Enhanced Sensitivity in the Determination of Mercury by Inductively Coupled Plasma Atomic-emission Spectrometry. Analyst, v.109, p.529 – 530, 1984.
- [62] -NORUSIS, N. J. SPSS for windows, professional statistics, release 6.0, SPSS-INC, USA, 1993.
- [63] KAUFMANN, A. Multivariate Statistics as a Classification Tool in the Food Laboratory. Journal of AOAC International, v.80 (3), p. 665-675, 1997.
- [64] MARQUEZ, K. S. G. Caracterização dos Componentes lônicos Solúveis do Aerossol Atmosférico da Serra do Navio - Amapá, São Paulo, SP, 1995, Dissertação (Mestrado), Instituto de Química, Universidade de São Paulo (USP).
- [65] BRUNS, ROY E.; FAIGLE, J.F.G. Quimiometria. Química Nova, abril, p.84-99, 1985.
- [66] ADAMS, MIKE J. Chemometrics in Analytical Spectroscopy. The Royal Society of Chemistry, p. 105-109,1985.
- [67] THOMPSON, M. Analytical Performance of Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry . In: MONTASER, A.; GOLIGHTLY, D.W. Inductively Coupled Plasmas in Analytical Atomic Spectrometry. New York: VHC publishers INC, p.163-199, 1987.
- [68] NAKASHIMA,S.;STURGEON, R.E.; WILLIE, S.N.; BERMAN, S.S. Acid Digestion of Marine Samples for Trace Elements Analysis using Microwave Heating. Analyst, v.113, p.159, 1988.
- [69] CARUSO,J.; WOLNIK, K.; FRICKE, F.L. Injection of Gaseous Samples into Plasmas. In: MONTASER,A.; GOLIGHTLY, D.W. Inductively Coupled Plasmas in Analytical Atomic Spectrometry. New York : VHC publishers INC, p.487-526, 1987.
- [70] BRASIL. Portaria nº33, de 13 de Janeiro de 1998. Estabelece níveis de Ingestão Diária Recomendada (IDR) para vitaminas, minerais e proteínas, a ser utilizada como parâmetro de ingestão destes nutrientes por indivíduos e diferentes grupos populacionais. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, nº 11-E, p. 5-6, 16 de Janeiro de 1998. Seção 1.
- [71] ENSMINGER, A.H.; ENSMINGER, M. E.; KONLANDE, J.; ROBSON, R.K. Foods & Nutrition 2nd Edition, vol. 2, CRC Press, London, 1994.