

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

INSTITUTO DE QUÍMICA

"Este exemplar corresponde a redação final da Tese defendida por NADIR JOANA MARTIN e Aprovado pela Comissão Julgadora."

01/ 12/ 1986

Frederick Carl Strong III
FREDERICK CARL STRONG III
Orientador

CONSTRUÇÃO E AVALIAÇÃO DE UM NEBULIZADOR DO
TIPO BABINGTON, PARA SUSPENSÕES DE ALIMENTOS
SÓLIDOS, PARA A DETERMINAÇÃO DE METAIS POR
ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA

Tese de Mestrado

NADIR JOANA MARTIN

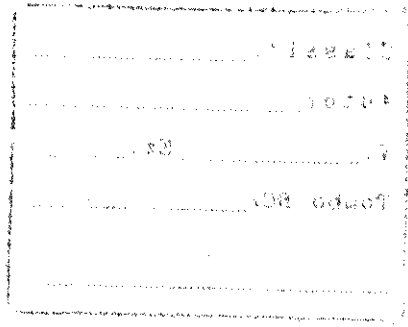
OUTUBRO - 1986

Prof.Dr. Frederick Carl Strong III
Orientador

M364c

7663/BC

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL



" Nessa ânsia de " saber cada vez mais sobre o menos " ele tem a ilusão de vir um dia a conhecer o " tudo sobre o nada " , nesse dia porém, o homem se dará conta de que na verdade ele " sabe nada sobre o tudo ". O amor é a mais forte certeza do homem. "

Dedico esse trabalho às pessoas que acreditam
que uma pesquisa científica deve ter, antes de
tudo, apoio e cooperação, devendo estar acima
dos interesses pessoais.

Aos meus pais,
Ângelo e Maria, pelo
amor e carinho.

A Cida, Ieda, Rení e Alfaya,
pelo apoio e compreensão, mes
mo nos momentos menos agradá
veis.

A Telma, Hideo, Sandra e Bete
pela amizade e incentivo.

Ao Prof. Dr. Frederick Carl Strong III,
meu agradecimento, pela orientação du
rante a realização desse trabalho.

Ao Prof. Dr. João Carlos de Andrade, meu
orientador de programa, pelas colaboraç
ões prestadas.

AGRADECIMENTOS

- À Deus, o qual sem acreditá-lo, nada seria possível.
- À Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), em especial às Diretorias do Instituto de Química (I.Q.) e da Faculdade de Engenharia de Alimentos (F.E.A.), pelas facilidades recebidas.
- À CAPES, CNPq e FAPESP, pelas bolsas concedidas.
- Ao Geovani, pela ajuda na montagem do sistema de injeção em fluxo.
- Aos funcionários das oficinas mecânicas do I.Q. e da F.E.A., e da vidraria do I.F., pelas confecções das peças do sistema de injeção em fluxo e do nebulizador.
- À Eliana, Sueli, Ronaldo, Célio e Maia, pelas colaborações.
- Ao Prof. Dr. Antonio Roque Dechen, pelo incentivo.
- Aos amigos da UNICAMP, pelo convívio e paciência.
- Aos colegas e amigos do Laboratório da Receita Federal, em especial, da Unidade de Química Inorgânica, pela compreensão.
- À todos, que direta ou indiretamente, contribuíram para a realização desse trabalho, obrigada.

ÍNDICE

	página
1. Resumo	01
2. Abstract	03
3. Introdução	05
4. Objetivo	12
5. Equipamentos	
5.1. Espectrofotômetro de absorção atômica	13
5.2. Bomba peristáltica	13
5.3. Injetor proporcional	14
5.4. Sistema analítico	16
5.5. Liquidificador e homogeneizador	17
5.6. Microscópio	17
6. Materiais	
6.1. Reagentes	18
6.2. Amostras	18
7. Parte experimental e resultados	
7.1. Construção do nebulizador do tipo Babington	21
7.2. Preparo dos padrões: em solução e em suspensão	
7.2.1. Limpeza do material	23

7.2.2.. Preparo dos padrões	
7.2.2.1. Solução padrão estoque de zinco (método A).	24
7.2.2.2. Solução padrão estoque de ferro (método A).	24
7.2.2.3. Solução padrão em suspensão (método B)	24
7.2.3. Preparo de soluções das amostras (método A)	25
7.3. Preparo de suspensões das amostras (método B)	
7.3.1. Estudo das partículas em suspensão	
7.3.1.1. Preparo de suspensões	26
7.3.1.2. Estudo do tamanho das partículas	26
7.3.2. Preparo preliminar das amostras	28
7.3.3. Homogeneização das amostras	28
7.4. Otimização do sistema analítico	
7.4.1. Padrão teste: de zinco	29
7.4.2. Condições do equipamento	30
7.4.3. Altura do queimador	31
7.4.4. Abertura de fenda	34
7.4.5. Vazão de gás oxidante	38
7.4.6. Vazão de gás combustível	41
7.4.7. Vazão de amostra	43
7.4.8. Volume de amostra	45
7.4.9. Efeito de adsorção	50

7.5. Determinação de zinco	
7.5.1. Método A - amostras em soluções	53
7.5.2. Método B - amostras em suspensões	56
7.5.3. Comparação entre os métodos A e B	64
7.6. Determinação de ferro	
7.6.1. Método A - amostras em soluções	66
7.6.2. Método B - amostras em suspensões	69
7.6.3. Comparação entre os métodos A e B	71
8. Discussão	
8.1. Eficiência	72
8.2. Exatidão	73
8.3. Precisão	73
8.4. Sensibilidade	73
8.5. Limite de detecção	74
9. Conclusões	76
10. Referências bibliográficas	79
Anexos	82

TABELAS

	página
Tabela 1: Amostras, fontes e datas de aquisição	19
Tabela 2: Resultados obtidos nas medidas de tamanho das partículas em suspensão	27
Tabela 3: Condições do manual do espectrofotômetro de absorção atômica, para o sistema ótico e a chama, na determinação de zinco usando acetileno e propano.	30
Tabela 4: Condições utilizadas para o padrão e o ajuste do equipamento, na otimização	31
Tabela 5: Resultados obtidos nas medidas de absorbância com a altura do queimador	32
Tabela 6: Condições usadas para a chama, padrão e suspensão e o ajuste do equipamento	35
Tabela 7: Resultados obtidos nas medidas de absorbância com as variações de abertura de fenda	36
Tabela 8: Resultados obtidos nas medidas de absorbância com as vazões de gás oxidante	39
Tabela 9: Resultados obtidos nas medidas de absorbância com as vazões do combustível propano	41
Tabela 10: Resultados obtidos nas medidas de absorbância com as vazões de amostra	43
Tabela 11: Resultados obtidos nas medidas de absorbância com os volumes de amostra	46

Tabela 12: Condições para o sistema ótico e a chama do espectrofotômetro de absorção atômica, na determinação de zinco em amostras de alimentos em suspensões	49
Tabela 13: Condições obtidas para o padrão e o ajuste do equipamento, na otimização	49
Tabela 14: Resultados obtidos para o teste de efeito de adsorção	51
Tabela 15: Resultados obtidos para a curva de calibração de zinco, pelo método A	54
Tabela 16: Resultados obtidos para a curva de calibração 1 de zinco, com padrões em suspensão	57
Tabela 17: Resultados obtidos para a curva de calibração 2 de zinco, com adição de padrão	59
Tabela 18: Resultados obtidos para a curva de calibração 3 de zinco, para o padrão em suspensão	62
Tabela 19: Resultados obtidos na determinação de zinco nas amostras de alimentos, através dos métodos A e B	64
Tabela 20: Condições do manual do espectrofotômetro de absorção atômica, para o sistema ótico e a chama na determinação de ferro	65
Tabela 21: Condições para o padrão e o ajuste do equipamento, na determinação de ferro	66

	página
Tabela 22: Resultados obtidos para a curva de calibração do ferro, pelo método A	67
Tabela 23: Resultados obtidos para a curva de calibração do ferro, com padrões em suspensões	69
Tabela 24: Resultados obtidos na determinação de ferro nas amostras de alimentos, através dos métodos A e B	71
Tabela 25: Sensibilidades obtidas para os métodos A e B na determinação de zinco e ferro	74
Tabela 26: Limites de detecção obtidos para os métodos A e B, na determinação de zinco e ferro	75

FIGURAS

	página
Figura 1: Amortecedor	14
Figura 2: Injetor proporcional	15
Figura 3: Sistema analítico	16
Figura 4: Nebulizador do tipo Babington	22
Figura 5: Nebulizador do tipo Babington e a entrada auxiliar de gás oxidante	23
Figura 6: Resultados expressos graficamente para o teste de altura do queimador	33
Figura 7: Resultados expressos graficamente para o teste de abertura de fenda	37
Figura 8: Resultados expressos graficamente para o teste de vazão de gás oxidante	40
Figura 9: Resultados expressos graficamente para o teste de vazão de gás combustível	42
Figura 10: Resultados expressos graficamente para o teste de vazão de amostra	44
Figura 11: Resultados expressos graficamente para o teste de volume de amostra	47
Figura 12: Resultados obtidos no teste de volume de amostra	47
Figura 13: Resultados expressos graficamente para o estudo de efeito de adsorção	52

Figura 14: Curva de calibração para o zinco, obtida através do método A	55
Figura 15: Curva de calibração 1 para o zinco, obtida através do método B	58
Figura 16: Curva de calibração 2 para o zinco, obtida através do método B e com adição de padrão	60
Figura 17: Curva de calibração 3 para o zinco, obtida através do método B e com a utilização acetileno ...	63
Figura 18: Curva de calibração para o ferro, obtida através do método A	68
Figura 19: Curva de calibração para o ferro, obtida através do método B	70

1. RESUMO

No presente trabalho estudou-se a construção e aplicação de um nebulizador do tipo Babington, para a determinação direta de elementos metálicos, em suspensões de alimentos sólidos, por espectrofotometria de absorção atômica. Para ter vazão cons tante da amostra, foi usada uma bomba peristáltica.

São apresentados os estágios de otimização do sistema analítico utilizado e as curvas de calibração obtidas.

A eficiência obtida para o nebulizador tipo Babington é igual a eficiência do nebulizador pneumático, aproximadamente de 10%.

No estudo comparativo da análise de uma área de 17 alimentos, foi possível concluir que os resultados obtidos são

aceitos ao nível de 40% e 30% para ferro e zinco, respectivamente.

Para a determinação de ferro, as sensibilidades e os limites de detecção não são muito diferentes. Para zinco foi necessário usar acetileno como combustível no caso de suspensões, para ter uma padronização linear, em lugar do propano usado para soluções. Por isso, a sensibilidade e o limite de detecção para soluções são melhores, mas em nossa opinião, a conveniência do uso de suspensões é mais importante.

2. ABSTRACT

The present work refers to the construction and application of a Babington type nebulizer to the direct determination of metallic elements in solid foodstuff suspensions by atomic absorption spectrophotometric techniques. The steps for optimizing the analytical system and the calibration curves obtained are given. The Babington, nebulizer efficiency is equal to that of pneumatic ones, i.e. approximately 10%.

Iron and zinc were chosen as examples for the routine determination of metals in foodstuffs by atomic absorption spectrophotometry of suspensions. In the case of iron, sensibility and detection limit for suspension were not quite as good as for solution, but quite acceptable. For zinc, in order to obtain a linear calibration curve, it was necessary to change from propane to acetylene, resulting in a considerable decrease in sensibility and increase in detection limit. However the determination was satisfactory. From a statistical study of the analysis of a series of 17 foodstuffs, using (A) solutions, and (B) suspensions, it is calculated that the results do not show a significant difference at the 30% level for zinc and the 40% level for iron.

3. INTRODUÇÃO

Na história do mundo, o crescimento e sobrevivência das diversas culturas, estiveram e estão absoluta e diretamente relacionados com a habilidade do homem em alimentar a si próprio. A atividade humana exige cada vez mais recursos básicos de sobrevivência, o qual implica o aperfeiçoamento tecnológico. A química analítica tem ocupado lugar de destaque na determinação dos constituintes da natureza, os quais tem sido objeto de estudo de muitas gerações, onde os campos de interesse são amplos.

Atualmente, uma das maiores preocupações dirige-se para o controle de qualidade dos alimentos de consumo humano, em especial os níveis de elementos metálicos que vem aumentando conside

deravelmente, decorrente do crescimento de centros industriais, do uso excessivo de pesticidas e fungicidas na agricultura, etc..

Essa preocupação torna-se mais evidente com o aumento das restrições legais impostas pela legislação de cada país, uma vez que muitos elementos metálicos são essenciais¹ ao desenvolvimento das plantas e dos animais em determinadas concentrações, podendo porém, tornar-se tóxicos se estas concentrações limites são, em cada caso particular, ultrapassadas.

No Brasil, os níveis máximos para elementos metálicos em alimentos foram fixados pela Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos (CNNPA),² atual Câmara Técnica de Alimentos do Ministério da Saúde, tendo como base a literatura científica e o apoio nas normas do Codex Alimentarius.

O Comitê Misto de Peritos da FAO/WHO* sobre aditivos para alimentos da Comissão do Codex Alimentarius, classificou os elementos metálicos As, Cd, Cu, Pb, Sn, Fe, Hg e Zn como contaminantes, ou seja, estão presentes nos alimentos devido aos tratamentos prévios a que tenham sido submetidos a matéria prima e o alimento " in natura ", e do contato desses com os utensílios nas suas diversas fases de fabricação, manipulação, embalagem, estocagem, transporte ou venda. Embora esses elementos sejam considerados contaminantes e por tanto, tenham suas concentrações em alimentos fixadas pelo comitê da FAO/WHO*, os elementos Zn, Fe, Cu, Sn e outros, apresentam características de essencialidade ao metabolismo humano, estando presentes nos processos enzimáticos, transporte de moléculas, como O₂, etc., sendo portanto, fixados mais em concordância com as suas qualidades do

*FAO — Food Agricultura Organization

WHO — Word Health Organization

do que com os problemas toxicológicos, visto serem contaminantes não tóxicos.

As concentrações de outros elementos metálicos em alimentos, como Pb, Hg, Cd, As, etc., sofrem um controle mais rigo-roso, visto que até o presente, não apresentam características de essencialidade. Esses elementos são considerados tóxicos aos organismos, e interagem com um grande número de biomoléculas, cau-sando bloqueio dos grupos funcionais necessários à ação enzimáti-ca, ou deslocando outros elementos metálicos essenciais.

Muitos casos de intoxicações agudas e mortes, têm sido relacionados com os níveis de elementos metálicos nos organismos, proveniente, entre outras fontes, dos alimentos contamina-dos.

Para o controle e fiscalização das concentrações de elementos metálicos nos alimentos, vários métodos e técnicas ana-líticas podem ser empregados³. No entanto, uma das técnicas mais utilizadas é a espectrofotometria de absorção atômica, por apre-sentar características de simplicidade e principalmente, por ser uma técnica muito seletiva, sendo usada para mais de 60 elemen-tos.

A determinação de elementos metálicos em soluções por espectrofotometria de absorção atômica é simples e rápida⁴. A amostra em solução é aspirada até o nebulizador, sendo que o ae-rosol gerado é carregado pelos gases até a chama, onde ocorre a dessolvatação, atomização e a absorção atômica. A intensidade de radiação absorvida é proporcional à concentra-ção do elemento metálico a ser determinado, idealmente de acordo

com a Lei de Bouguer-Beer⁵.

Os tipos mais comuns de nebulizadores usados em análises por espectroscopia atômica, incluindo a fluorescência atômica e a emissão de plasma acoplado indutivamente, são: pneumático⁴, de fluxo transversal⁶ e ultra-sônico⁷.

Quando a amostra é sólida, como a maior parte dos alimentos, exceto sucos e leite, torna-se necessário a preparação da amostra na forma de uma solução, para o uso dos nebulizadores acima. Os métodos utilizados incluem incineração e posterior dissolução das cinzas com ácido⁸ (dry ashing), ou digestão por via úmida⁹ com ácidos: nítrico, sulfúrico e/ou perclórico (wet ashing). Esses métodos são trabalhosos e lentos, podendo causar perdas dos elementos de interesse por volatilização, formação dos silicatos insolúveis, ou ainda contaminações por adição de reagentes que podem interferir na análise.

Outro método para a digestão de amostras de alimentos sólidos, envolve a utilização de uma bomba de digestão ácida, revestida com Teflon¹⁰. A amostra sólida, juntamente com um ácido, são introduzidos na bomba, e essa é colocada em um estufa por 30 minutos. Esse método, porém, não é apropriado para grandes quantidades de amostras ou para um número elevado de digestões de amostras sólidas.

Na tentativa de eliminar a incineração ou a digestão úmida, alguns autores¹¹⁻¹² estudaram a nebulização de amostras sólidas pulverizadas e agitadas vigorosamente. Nesses estudos os resultados apresentaram baixa sensibilidade.

Fry e Denton¹³⁻¹⁴ investigaram a viabilidade de construção e aplicação de um nebulizador baseado no princípio Babington, para a introdução direta de amostras com altas concentrações de sólidos em suspensão, para a determinação de elementos metálicos por espectrofotometria de absorção atômica. Esse princípio envolve a formação de um filme da amostra sobre uma esfera, cuja interrupção desse filme sobre o orifício de saída de gás oxidante com alta velocidade, gera o aerosol. Esse nebulizador permite produzir aerosol de altas densidades, finamente dispersado, para uma variedade de matrizes complexas, como óleo combustível, produtos alimentícios, tintas, etc.. Possíveis aplicações do nebulizador de Babington em sistemas de fabricação de gelo seco, inseticidas, perfumes e umificadores de ambiente, tem sido sugeridas¹⁵. Uma recente aplicação desse nebulizador tem sido na produção de aerosol para o tratamento e controle de doenças de obstrução respiratórias¹⁶. Esse nebulizador para fins terapêuticos produz o aerosol com 95% das partículas menores de 5 μm .

No estudo, realizado por Fry e Denton¹³⁻¹⁴, o tubo capilar presente nos nebulizadores pneumáticos é substituído por uma bomba peristáltica, sendo que o uso desse, elimina o problema de entupimento do tubo capilar e mantém constante a vazão das amostras de altas concentrações de sólidos em suspensão. Na determinação de cobre e zinco em amostras complexas como sangue, leite concentrado e suco de tomate, realizada com a utilização do nebulizador baseado no princípio de Babington, observou-se que o sistema proposto é de fácil operação, sem entupimentos e a sensibilidade não é alterada, quando comparada com as análises realizadas com a utilização do nebulizador pneumático.

Fry e Mohamed¹⁷ criaram um novo nebulizador do tipo Babington para a determinação rápida e direta de traços de metais por espectrofotometria de absorção atômica em tecidos de animais homogeneizados. Esse método envolve o princípio de Willems, o qual tem sido desenvolvido pela Brinkmann Co.¹⁸, que permite obter partículas homogeneizadas de amostras complexas como: órgãos de animais, ossos, alimentos, etc., com diâmetros de micrômetros e submicrômetros em dois minutos. Nas análises realizadas, não foi observado interferência de absorção molecular. Aliquotas de 500 μ L foram suficientes para a determinação de cobre, manganês e zinco, com recuperação de $100 \pm 3\%$, indicando que as partículas foram suficientemente pequenas para atingirem a chama.

A partir dessas primeiras aplicações do princípio de Babington para a espectrofotometria de absorção atômica, vários autores¹⁴⁻²³ tem recentemente desenvolvido estudos desses nebulizadores para a determinação de elementos metálicos na presença de sólidos suspensos, empregando outras técnicas analíticas.

Em um trabalho mais recente¹⁹, um nebulizador do tipo Babington foi aplicado para a determinação direta de sódio e potássio em "hot dogs" por espectrofotometria de emissão atômica, obtendo-se recuperação de 102 e 99% para sódio e potássio, respectivamente. O desvio padrão de aproximadamente 3% para a metodologia proposta, foi similar ao método convencional.

O estudo da aplicação do nebulizador tipo Babington para a espectrometria de emissão de (plasma de corrente contínua) (DCP) foi descrito por Mohamed e colaboradores.²⁰ A combinação

do DCP com o nebulizador tipo Babington, resultou em um sistema de análise espectroquímica sem restrições para a nebulização direta e transporte do aerosol de amostras sólidas homogeneizadas, como os tecidos de animais.

A aplicação desses nebulizadores tipo Babington aos queimadores de fenda e tipos tocha do ICP, podem apresentar problemas de caramelização, formação de gomas ou encrustação com os sais ou açúcares presentes nas amostras com sólidos em suspensão. Nesses casos, recomenda-se o uso de amostras com o máximo de 20 % de sólidos em suspensão¹⁴.

Wolcott e Sobel²² observaram que o problema de encrustação ou solidificação de matéria orgânica na tocha do ICP ocorria quando a concentração de sólidos suspensos na solução ultrapassava a 50%, em um sistema baseado em um nebulizador de corte em forma de "V". Esse nebulizador²³ com funcionamento similar ao dos nebulizadores tipo Babington, foi desenvolvido para a aplicação em espectrometria de emissão de plasma acoplado indutivamente (ICP), para a análise de amostras com altas concentrações de sais. Esse nebulizador pode operar continuamente sem problemas de entupimento.

Com a utilização desses nebulizadores tipo Babington para a determinação de elementos metálicos em alimentos, muitas vantagens podem ser obtidas, principalmente a rapidez e facilidade da metodologia, além de proporcionar menor custo por análise.

4. OBJETIVO

O presente trabalho tem como objetivo a construção de um nebulizador do tipo Babington e o estudo da viabilidade de sua utilização na determinação de elementos metálicos presentes em alimentos sólidos em suspensão, por espectrofotometria de absorção atômica.

Acreditamos que esta metodologia venha a facilitar as análises rotineiras de alimentos sólidos, no tocante a determinação de elementos metálicos por espectrofotometria de absorção atômica.

5. EQUIPAMENTOS

5.1 Espectrofotômetro de absorção atômica

Utilizou-se um espectrofotômetro de absorção atômica Pye-Unicam, modelo SP 92 A - série 2, equipado com registrador modelo Unicam AR 25, para medir os sinais transitórios de absorção.

5.2 Bomba peristáltica

Para o bombeamento das soluções padrões, bem como das amostras, utilizou-se uma bomba peristáltica (fabricação própria), provida de tubos Tygon - Technicon.

Para minimizar os pulsos da bomba peristáltica, colocou-se na linha do carregador, entre a bomba e o injetor proporcional, um amortecedor²⁴, que está representado na figura 1.

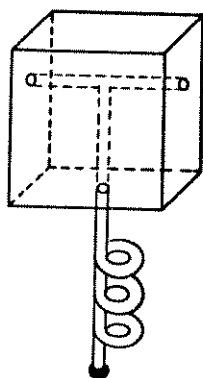


Figura 1: Amortecedor

5.3. Injetor proporcional²⁵

Utilizou-se um injetor proporcional, com uma secção de comutação, para as injeções em fluxos das soluções padrões e das amostras.

O injetor proporcional de acrílico, apresenta-se com duas placas externas fixas e uma placa central móvel, acopladas por dois parafusos. A placa central desloca-se por meio de uma haste operada manualmente. Para evitar vazamentos, são colocadas tiras de silicone entre as placas e cones de teflon²⁶ nos parafusos de ajuste do "loop". A figura 2 representa o injetor proporcional de acrílico utilizado nesse trabalho.

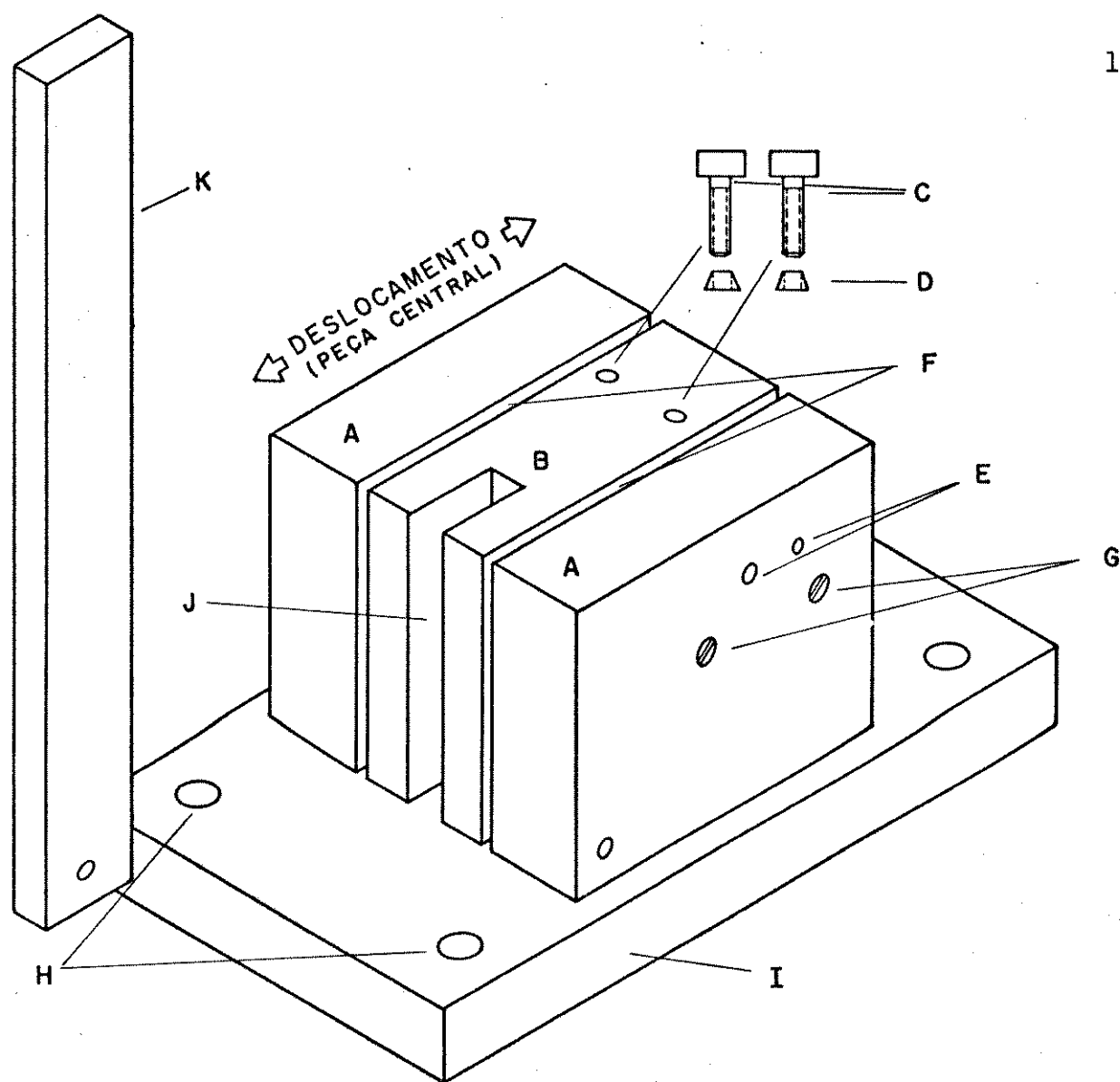


Figura 2: Injetor proporcional

- A - placas fixas .
- B - placa móvel
- C - parafusos de encaixe do " loop " (para detalhes, ver ref. 26)
- D - cones de teflon (para detalhes, ver ref. 26)
- E - orifício para inserção do tubo de polietileno (linhas da amostra e de alimentação do nebulizador)
- F - tiras de borracha de silicone
- G - parafusos para acoplamento do conjunto
- H - parafusos para fixação do injetor
- I - base de apoio para a fixação
- J - encaixe para acoplar a alavanca
- K - alavanca

5.4. Sistema analítico

O esquema do sistema analítico utilizado para a determinação de ferro e zinco em amostras de alimentos sólidos em suspensão, está representado na figura 3.

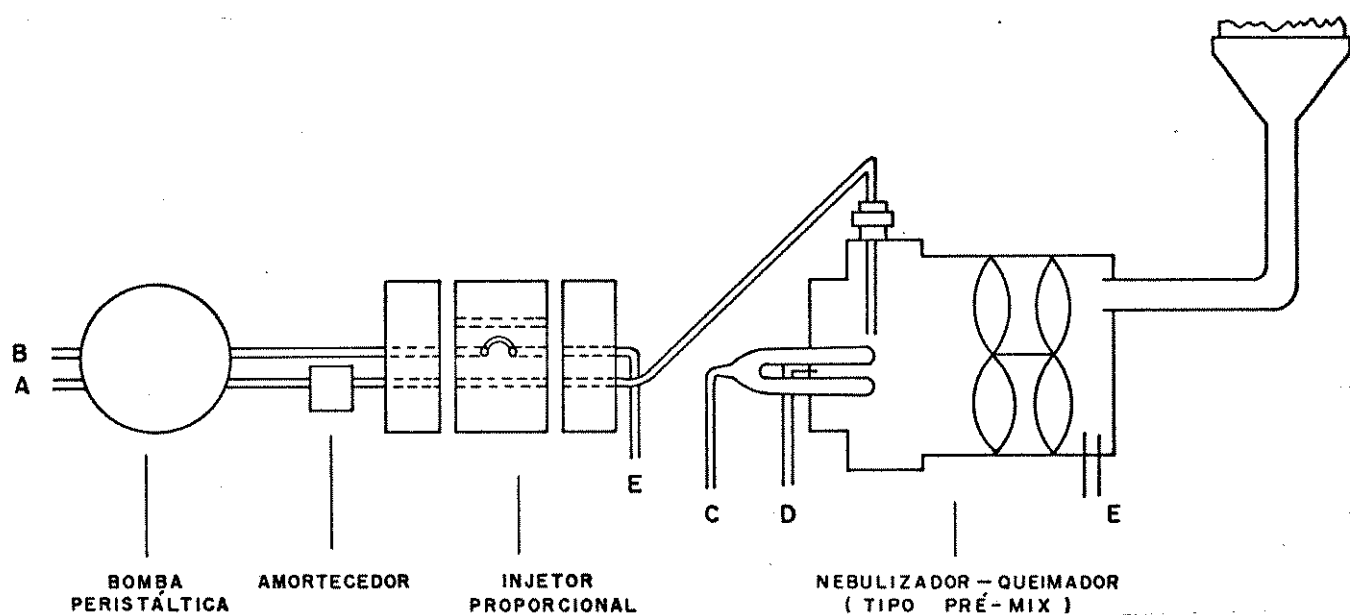


Figura 3: Sistema analítico: (A) entrada do carregador - água, (B) entrada de amostra, (C) entrada de gás oxidante, (D) entrada de gás combustível e (E) dreno.

5.5. Liquidificador e homogeneizador

Para a moagem e homogeneização dos alimentos sólidos utilizou-se um liquidificador Arno, modelo LIR-C, série VE, equipado com um copo plástico de alta resistência, e um homogeneizador/triturador de lâminas, modelo TE 102, série 832501, com rotação de 60 ciclos por minuto, da Tecnal.

5.6. Microscópio

Utilizou-se um microscópio Nikon, ajustado com micrômetro ocular e lâmina graduada, para medir o tamanho das partículas das amostras homogeneizadas.

6. MATERIAIS

6.1. Reagentes

Ferro metálico

Zinco metálico

Ácido clorídrico, 37%, p.a. Merck

6.2. Amostras

As amostras utilizadas nesse trabalho estão relacionadas na tabela 1, incluindo-se fontes e épocas em que foram adquiridas.

A M O S T R A S	SUPERMERCADO	DATA
Feijão rajado	Eldorado	maio/85
Feijão branco	Eldorado	maio/85
Arroz agulha	Eldorado	maio/85
Farinha de mandioca crua	Eldorado	maio/85
Farinha de milho pré cozida	Eldorado	maio/85
Farinha de milho - flocos	Supertuba	maio/85
Farinha de trigo	Barão	maio/85
Pão francês	Barão	junho/85
Biscoito de leite	Campineira	maio/85
Extrato de tomate - em lata	Supertuba	maio/85
Batata - em lata	Supertuba	maio/85
Cenoura - em lata	Supertuba	maio/85
Ervilha - em lata	Supertuba	maio/85
Vagem - em lata	Supertuba	maio/85
Salsicha - em lata	Supertuba	maio/85
Maçã	Supertuba	junho/85
Pera	Supertuba	junho/85

Tabela 1: Amostras, fontes e datas de aquisição

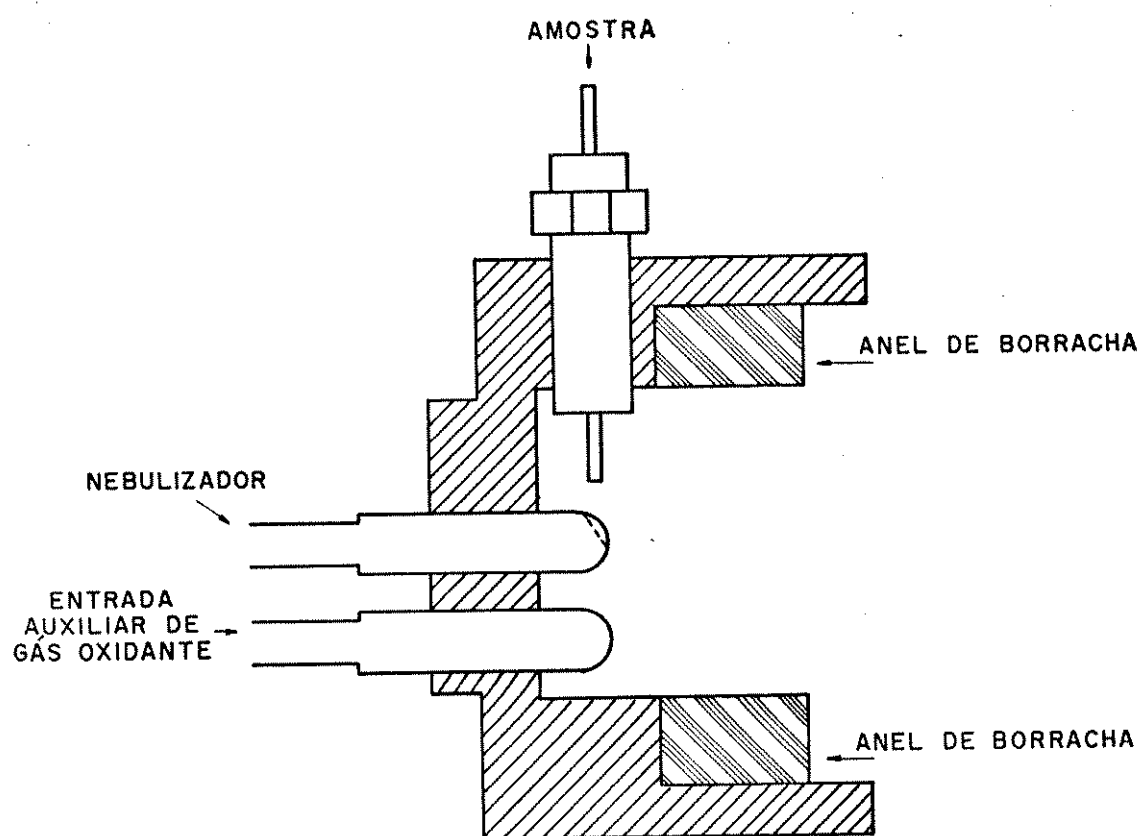
7. PARTE EXPERIMENTAL E RESULTADOS

Nesse estudo, utilizou-se o método analítico de tratamento de amostras sólidas, por via seca, utilizando-se, nesse caso, o nebulizador pneumático, o qual será referido posteriormente como método A. Para o método em estudo, onde utilizou-se o tratamento das amostras sólidas através da homogeneização em água deionizada e o nebulizador do tipo Babington, será referido posteriormente como método B.

7.1. Construção do nebulizador do tipo Babington

O nebulizador do tipo Babington, bem como o corpo de encaixe (figura 4), foram construídos de Teflon²⁷. O corpo de encaixe, apresenta-se com um anel de borracha, que permite o ajuste perfeito na câmara de mistura do espectrofotômetro de absorção atômica. O nebulizador possui um orifício de saída de gás oxidante de 0,6 mm de diâmetro e uma "ranhura" de 1,0 mm de profundidade, sendo colocado no centro do corpo de encaixe. Para se obter uma vazão de gás oxidante maior, adicionou-se uma entrada auxiliar, que possui as mesmas medidas do nebulizador. Essa entrada auxiliar de gás oxidante foi adaptada abaixo do nebulizador e unidos externamente por uma junção de vidro tipo "feradura" (figura 5). A entrada de gás combustível na câmara de mistura é feito através de um orifício que fica ao lado do nebulizador. Colocou-se na parte superior do corpo de encaixe um parafuso, o qual permite a introdução de um tubo de polietileno , para a entrada de amostras. Esse tubo de polietileno deve ficar perpendicular a " ranhura " do nebulizador.

Figura 4: Nebulizador do tipo Babington

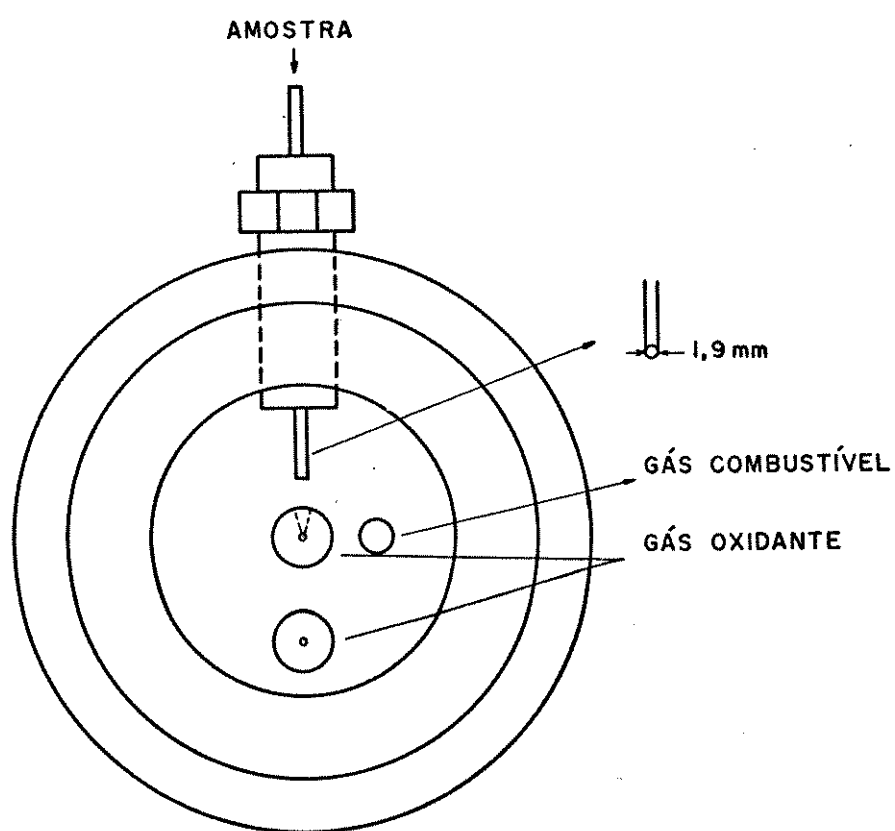


VISTA LATERAL

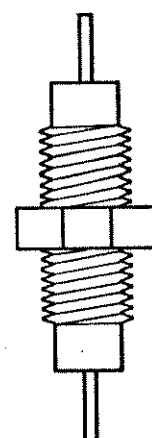
PARAFUSO



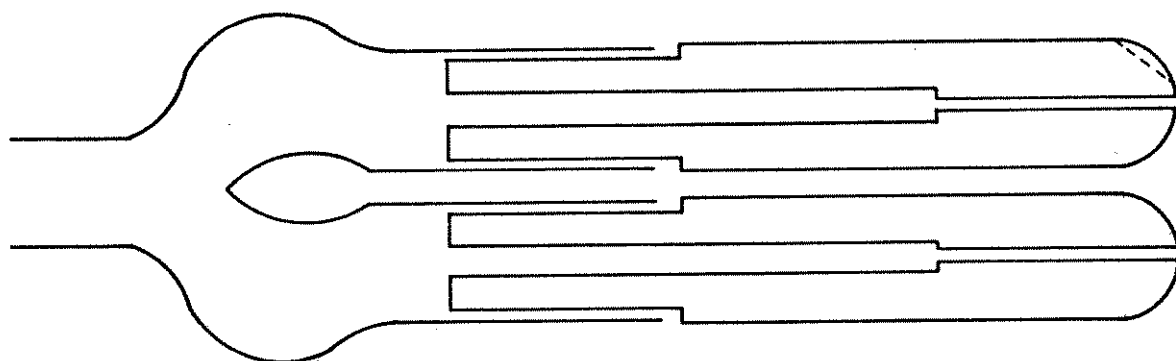
VISTA DE CIMA



VISTA DE FRENTE



VISTA LATERAL



Esc. 2:1

Figura 5: Nebulizador tipo Babington e entrada auxiliar de gás oxidante

7.2. Preparo dos padrões: em solução e em suspensão

7.2.1. Limpeza do material

Todo material de vidro e os frascos de polietileno utilizados para o estoque de soluções e amostras, foram lavados primeiramente com detergente e enxaguados com água deionizada. Após a secagem foram deixados em contato com solução sulfonítrica (H_2SO_4 concentrado: HNO_3 concentrado, 1:1), durante 5 minutos, enxaguados várias vezes com água deionizada e novamente secos a temperatura ambiente (aproximadamente 25°C).

7.2.2. Preparo dos padrões

7.2.2.1. Solução padrão estoque de zinco (método A)

Pesou-se 1,000 g de zinco metálico previamente seco a temperatura de 110°C durante 2 horas, e dissolveu-se em ácido clorídrico concentrado. Completou-se o balão volumétrico de 1000 mL com água deionizada, obtendo-se uma concentração final de 1000 µg de zinco/mL. Transferiu-se a solução para um frasco de polietileno, conservando-se a temperatura de 4 °C.

7.2.2.2. Solução padrão estoque de ferro (método A)

Pesou-se 1,000 g de ferro metálico previamente seco a temperatura de 110 °C durante 2 horas, e dissolveu-se em ácido clorídrico concentrado. Completou-se o balão volumétrico de 1000 mL com água deionizada, obtendo-se a concentração final de 1000 µg de ferro/mL. Estocou-se a solução em frasco de polietileno a temperatura de 4 °C.

7.2.2.3. Solução padrão em suspensão (método B)

As soluções padrões em suspensão foram preparadas com base na determinação de zinco e ferro na amostra de feijão branco pelo método A. Desta forma, preparou-se duas séries de padrões em

suspensão: uma para zinco, pesando-se: 0,00 ; 0,50 ; 1,00 ; 2,00 ; 4,00 ; 6,00 ; 8,00 e 10,00 g de feijão branco moído, e outra série para ferro, pesando-se 0,00 ; 1,50 ; 3,00 ; 4,50 ; 6,00 ; 7,50 e 10,50 g . Para as quantidades de feijão branco moído, adicionou-se água deionizada e as misturas foram homogeneizadas por 4 minutos , obtendo-se 100 mL de suspensão. As concentrações finais para zinco foram: 0,000 ; 0,236 ; 0,472 ; 0,944 ; 1,888 ; 2,832 ; 3,776 e 4,720 μg de zinco/mL, e para ferro foram: 0,00 ; 1,12 ; 2,24 ; 3,36 ; 4,48 ; 5,60 e 7,84 μg de ferro/mL.

7.2.3. Preparo de soluções das amostras (método A)

Pesou-se, em cadinhos de porcelana, 1,0 e 3,0 g de amostras, aqueceu-se por 2 horas em chapa de aquecimento a temperatura de 100-120 °C, a seguir incinerou-se as amostras em mufla por 6 horas a temperatura de 450 °C. Após o resfriamento, adicionou-se 10 gotas de água deionizada e 4,0 mL de ácido clorídrico (1:1), com a dissolução das cinzas, transferiu-se as amostras para balões volumétricos de 100 mL, completando-se os volumes com água deionizada. Estocou-se as soluções em frascos de polietileno para posterior de terminações.

7.3. Preparo de suspensões das amostras (método B)

7.3.1. Estudo das partículas em suspensão

7.3.1.1. Preparo das suspensões

Preparou-se cinco suspensões, todas com 1,00 g de feijão branco moído, homogeneizando-se com água deionizada durante o tempo de 1, 2, 3, 4 e 5 minutos, completando-se os volumes para obter 100 mL de soluções. A seguir mediu-se os tamanhos das partículas em cada solução. Deixou-se essas suspensões em repouso por 30 minutos, repetindo-se as medidas de partículas no sobrenadante e no material decantado.

7.3.1.2. Estudo do tamanho de partículas

Colocou-se 2 gotas da solução em suspensão sobre a lâmina graduada, ajustando-a no microscópio. Mediu-se no micrômetro ocular o diâmetro de 10 partículas, calculando-se o diâmetro real (tabela 2) através da expressão 1.

$$\bar{W} = \frac{0,01\text{mm}}{7} \cdot \bar{Y} \cdot 1000 \quad (1)$$

onde: $\bar{W}$ = diâmetro real da partícula em μm

$\bar{Y}$ = diâmetro no micrômetro ocular

$\frac{0,01}{7}$ = fator de calibração

TEMPO DE HOMOGENEIZAÇÃO (minutos)	PARTÍCULAS NA AMOSTRA					
	HOMOGENEIZADA		SOBRENADANTE		DECANTADA	
	$\bar{Y}$	$\bar{W} (\mu\text{m})$	$\bar{Y}$	$\bar{W} (\mu\text{m})$	$\bar{Y}$	$\bar{W} (\mu\text{m})$
1	4,8	6,72	2,6	3,64	39,4	55,16
2	3,5	4,90	2,4	3,36	33,4	46,76
3	3,8	5,32	2,0	2,80	24,4	34,16
4	3,0	4,20	1,8	2,56	23,8	33,32
5	3,2	4,48	1,4	1,96	29,8	41,72

Tabela 2: Resultados obtidos nas medidas de tamanho de partículas em suspensão ($\bar{Y}$ = média de 10 medidas)

Observa-se na tabela 2 que:

- as partículas nas amostras homogeneizadas e nos sobrenadantes são em média menores que 10 μm , indicando que poderão atingir a chama, enquanto que nas amostras decantadas, as partículas são em média maiores que 30 μm .
- para o tempo de homogeneização de 4 minutos, as medidas de tamanho das partículas foram em média as menores obtidas, desta forma, fixou-se esse tempo para as homogeneizações.

7.3.2. Preparo preliminar das amostras

Cereais, pão e biscoito de leite:

Moeu-se as amostras em um liquidificador e guardou - se em frascos de vidro à temperatura ambiente (aproximadamente 25°C).

Legumes, frutas e salsicha:

Cortou-se as amostras em pequenos cubos de aproximadamente 0,5 cm³ e guardou-se em frascos de vidro à temperatura de 4 °C.

Farinhas e extrato de tomate:

Não houve nenhum tratamento especial, conservou-se essas amostras à temperatura ambiente em suas embalagens originais, exceto o extrato de tomate depois que a lata foi aberta, conservou-se à temperatura de 4 °C.

7.3.3. Homogeneização das amostras

Para determinações de zinco e ferro, pesou-se 1,0; 3,0; 6,0 e 10,0 g de cada amostra em bequer, homogeneizando-se por 4 minutos com água deionizada. Transferiu-se as amostras para frascos de polietileno completando-se os volumes com água deionizada, obtendo-se, assim, 100 mL de soluções. A seguir procedeu-se as de

terminações dos elementos metálicos e as leituras de absorbância. Estocou-se as amostras à temperatura de 4 °C.

7.4. Otimização do sistema analítico

Os testes para a otimização foram realizados com o sistema de injeção em fluxo e com a adaptação do nebulizador do tipo Babington, acoplados ao espectrofotômetro de absorção atômica.

7.4.1. Padrão teste: de zinco

Utilizou-se uma solução suspensão de 4,085 µg de zinco/mL para os testes de otimização. Essa solução teste foi preparada a partir de 5,0 g de feijão branco moído e homogeneizado por 1 minuto, juntamente com 2,0 mL de uma solução de 100 µg de zinco/mL, sendo obtida uma concentração final de 4,085 µg de zinco/mL.

* O tempo de homogeneização para a solução teste utilizada na otimização foi de 1 minuto, após os testes de otimização, fez-se o teste de tempo de homogeneização, fixando-se o tempo de 4 minutos para as determinações de elementos metálicos em suspensões. O tempo de 1 minuto não afeta os resultados na otimização, visto que não houve diferença significativa entre os tempos de homogeneização estudados.

7.4.2. Condições do equipamento

Os testes de otimização foram realizados dentro das condições do manual de seleção de métodos para a operação do espectrofotômetro de absorção atômica (Pye-Unicam), na determinação de zinco, utilizando-se o gás propano. As condições de vazão e volume de amostras, foram inicialmente, escolhidos de forma aleatória, essas condições estão relacionadas nas tabelas 3 e 4.

Sistema ótico

lâmpada de cátodo ôco	Zn
corrente de operação	7,5 mA
comprimento de onda	213,9 nm
abertura de fenda	0,4 mm

Condições da chama

gás combustível	acetileno	propano
altura do queimador (cm)	1,0	1,2
vazão de ar comprimido (L/min)	5,0	5,0
vazão de combustível (mL/min)	1200	300

Tabela 3: Condições do manual do espectrofotômetro de absorção atômica, para o sistema ótico e a chama, na determinação de zinco usando acetileno e propano.

<u>Condições para o padrão</u>		
vazão do padrão	10,34 mL/min	
volume do padrão	560	µL
<u>Ajuste do equipamento</u>		
gás combustível	acetileno	propano
ganho	alto	baixo
escala do ganho	2	9
escala de expansão	2	2

Tabela 4: Condições utilizadas para o padrão e o ajuste do equipamento, na otimização.

7.4.3. Altura do queimador

A altura do queimador (altura do feixe de luz na chama), é especialmente crítica, e foi primeiramente estudada.

Com excessão da altura do queimador, foram realizadas as condições descritas na tabela 3.

A escolha da vazão e do volume do padrão foi aleatória, e o ajuste do equipamento foi determinado pelas condições da tabela 4.

Foram realizadas 10 medidas de absorbância, com variação da altura do queimador entre 0,0 a 1,3 cm, com intervalos de 0,1 cm, utilizando-se o padrão em suspensão e o gás propano.

As médias das absorvâncias e os desvios padrão, com probabilidade de 95%, são apresentados na tabela 5 e na figura 6. Usando a maior absorvância como critério do melhor resultado, a altura de queimador ótima é de aproximadamente 0,8 cm para a chama de propano.

ALTURA DO QUEIMADOR (cm)	$\bar{A} \pm t.s/\sqrt{n}$ ($\alpha = 95\%$)
0,0	0,074 $\pm$ 0,004
0,1	0,083 $\pm$ 0,004
0,2	0,088 $\pm$ 0,006
0,3	0,108 $\pm$ 0,005
0,4	0,117 $\pm$ 0,006
0,5	0,126 $\pm$ 0,005
0,6	0,143 $\pm$ 0,004
0,7	0,157 $\pm$ 0,006
0,8	0,166 $\pm$ 0,004
0,9	0,146 $\pm$ 0,005
1,0	0,137 $\pm$ 0,005
1,1	0,122 $\pm$ 0,005
1,2	0,103 $\pm$ 0,004
1,3	0,086 $\pm$ 0,005

Tabela 5: Resultados obtidos nas medidas de absorvância com a altura do queimador.

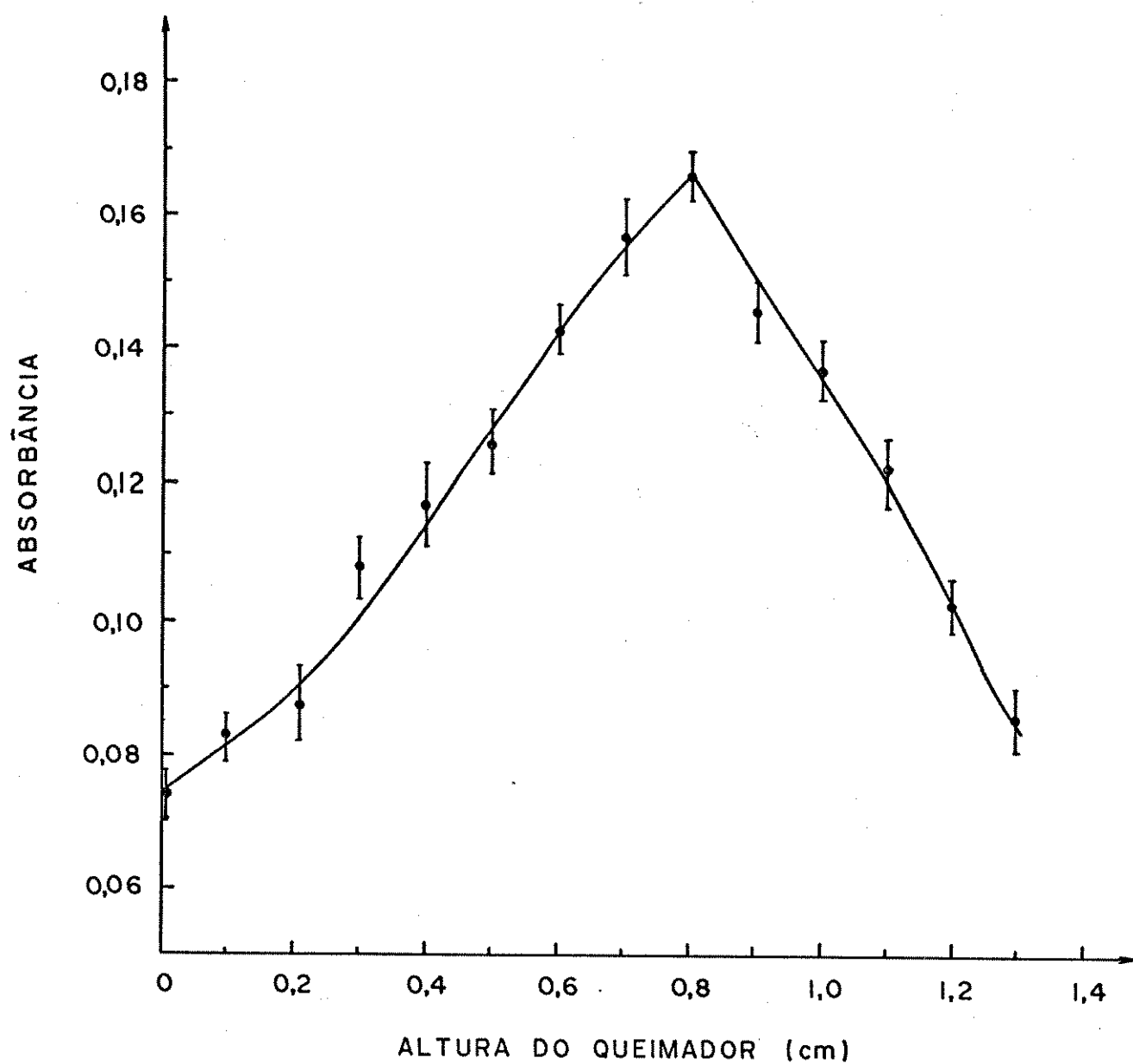


Figura 6: Resultados expressos graficamente para o teste de altura de queimador

Observa-se que as medidas de absorbância crescem até atingir um ponto máximo e depois decrescem. Esse comportamento é esperado a medida que o feixe de luz se aproxima da região intercônica da chama. Quando o feixe de luz atravessa exatamente a região intercônica, é obtida a absorbância máxima, visto que o número de átomos no estado fundamental é maior; a diminuição posterior das medidas de absorbância ocorre porque o feixe de luz estará atravessando a região de reação primária da chama, onde a população de átomos no estado fundamental será muito pequena.

No estudo desse parâmetro de otimização do sistema analítico, a altura de queimador de 0,8 cm corresponde ao ponto máximo de absorbância, para a solução em suspensão com o uso do gás propano.

7.4.4. Abertura de fenda

Usando a altura determinada para o queimador (0,8cm) e as demais condições descritas na tabela 6, variando-se a abertura de fenda de 0,4 a 1,5 mm, tomou-se 10 leituras de absorbân-cia para cada abertura, calculando-se as médias, os desvios padrão, e os intervalos de confiança com probabilidade de 95%. Os resultados obtidos estão na tabela 7 e na figura 7.

<u>Condições da chama</u>	
gás combustível	propano
altura do queimador (cm)	0,8
vazão de ar comprimido (L/min)	5,0
vazão de combustível (mL/min)	300
<u>Condições para o padrão</u>	
vazão de padrão (mL/min)	10,34
volume de padrão (μ L)	560
<u>Ajuste do equipamento</u>	
ganho	baixo
escala do ganho	9
escala de expansão	2

Tabela 6: Condições usadas para a chama, padrão em suspensão e o ajuste do equipamento.

ABERTURA DE FENDA (mm)	$\bar{A} \pm t.s/\sqrt{n}$ ($\alpha = 95\%$)
0,4	0,165 $\pm$ 0,005
0,5	0,149 $\pm$ 0,005
0,6	0,134 $\pm$ 0,005
0,7	0,119 $\pm$ 0,004
0,8	0,116 $\pm$ 0,005
0,9	0,105 $\pm$ 0,005
1,0	0,097 $\pm$ 0,005
1,1	0,089 $\pm$ 0,006
1,2	0,079 $\pm$ 0,005
1,3	0,070 $\pm$ 0,004
1,4	0,064 $\pm$ 0,004
1,5	0,059 $\pm$ 0,005

Tabela 7: Resultados obtidos nas medidas de absorção com as variações de abertura de fenda.

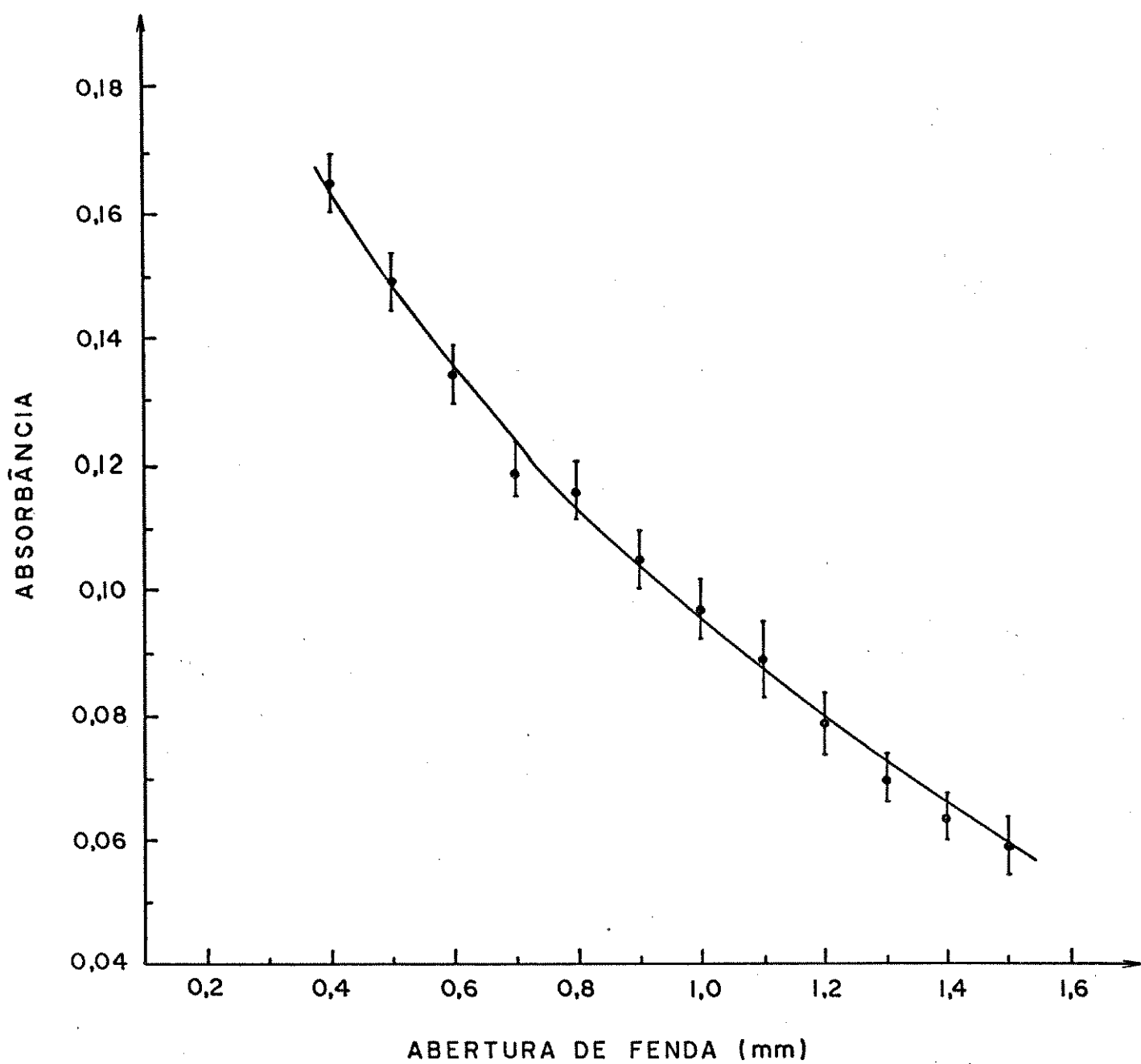


Figura 7: Resultados expressos graficamente para o teste de abertura de fenda

Observa-se que quando diminuimos a abertura de fenda, a absorbância aumenta, devido ao fato das linhas interferentes que são eliminadas, havendo maior seletividade da raia analítica do elemento metálico a ser determinado. Desta forma, a abertura de fenda que oferece maior seletividade é de 0,4 mm.

7.4.5. Vazão de gás oxidante

Utilizando-se as condições determinadas para a altura do queimador e a abertura de fenda, realizaram-se estudos no intervalo de 4,00 a 6,00 L/min de ar comprimido. Fez-se 10 leituras de absorbância para cada ponto e calculou-se as médias, os desvios padrão e os intervalos de confiança, com probabilidade de 95%.

Os resultados para as leituras de absorbância versus vazão de gás oxidante, não foram diferentes aos resultados observados no testes de altura do queimador.

O problema crítico nesse teste, bem como no teste a seguir de vazão de gás combustível, é o aumento ou diminuição das regiões de reação secundária ou a região de pré aquecimento (região de reação primária) da chama.

Na tabela 8 temos os resultados do teste de vazão de gás oxidante e na figura 8 estão os resultados expressos graficamente.

VAZÃO DE GÁS OXIDANTE (L/min)	$\bar{A} \pm t.s/\sqrt{n} \quad (\alpha = 95\%)$
4,00	-
4,25	-
4,50	0,133 $\pm$ 0,004
4,75	0,153 $\pm$ 0,004
5,00	0,165 $\pm$ 0,004
5,25	0,135 $\pm$ 0,004
5,50	0,120 $\pm$ 0,005
5,75	-
6,00	-

Tabela 8: Resultados obtidos nas medidas de absorbância com as vazões de gás oxidante.

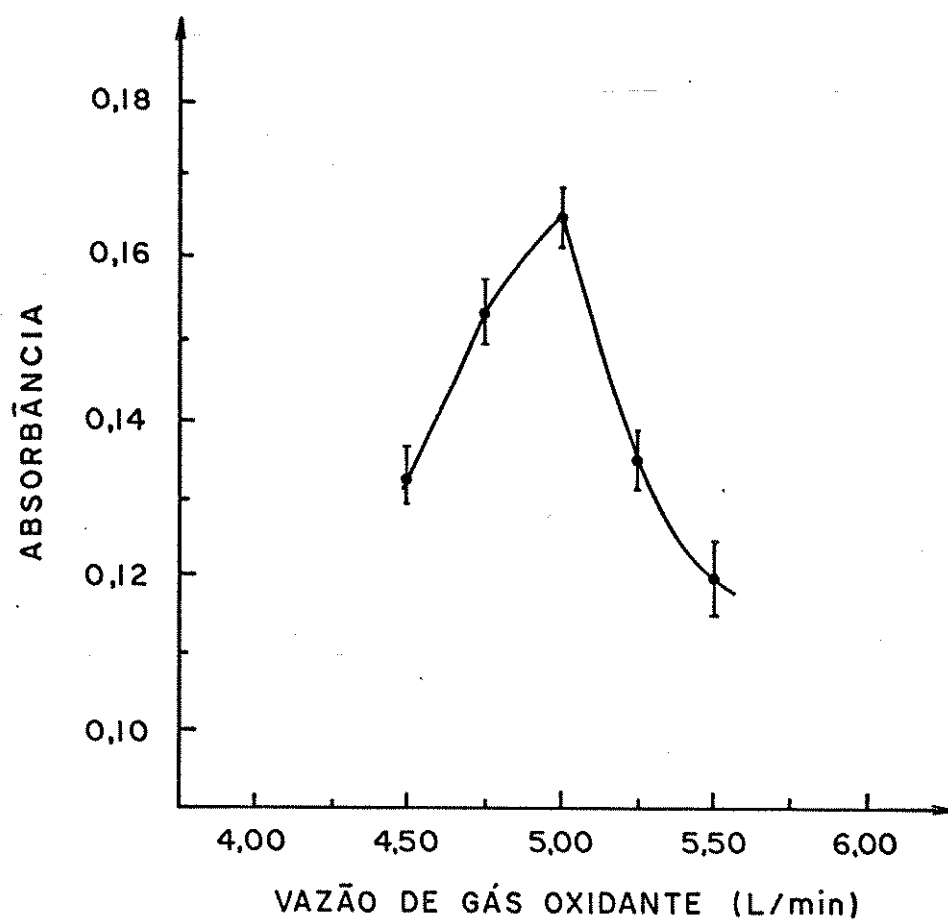


Figura 8 : Resultados expressos graficamente para o teste de vazão de gás oxidante

Para as vazões de 4,00 e 4,25 L/min de gás oxidante com o uso do gás propano, não foi possível fazer determinações, pois a região de reação secundária (condições oxidantes) da chama foi dominante e a oscilação no indicador foi muito grande. No intervalo de 4,50 a 5,00 L/min as condições na chama foram as melhores. Após esses intervalos, não foi possível se fazer determinações, devido a dificuldade de manter a chama acesa. O melhor resultado obtido é a vazão de 5,00 L/min de gás oxidante.

7.4.6. Vazão de gás combustível

Considerando-se os melhores resultados dos testes anteriores e as condições descritas na tabela 6, fez-se 10 leituras de absorbância para cada vazão de propano, no intervalo de 250 a 450 mL/min. Calculou-se, então, as médias para as 10 leituras e os desvios padrão, e os intervalos de confiança com probabilidade de 95%. tabela 9 estão os resultados obtidos e na figura 9 estão os resultados expressos graficamente.

VAZÃO DE PROPANO (mL/min)	$\bar{A} \pm t.s/\sqrt{n}$ ($\alpha = 95\%$)
250	0,126 $\pm$ 0,004
300	0,138 $\pm$ 0,005
350	0,168 $\pm$ 0,005
400	0,165 $\pm$ 0,004
450	0,136 $\pm$ 0,004

Tabela 9: Resultados obtidos nas medidas de absorbância com as vazões de combustível propano.

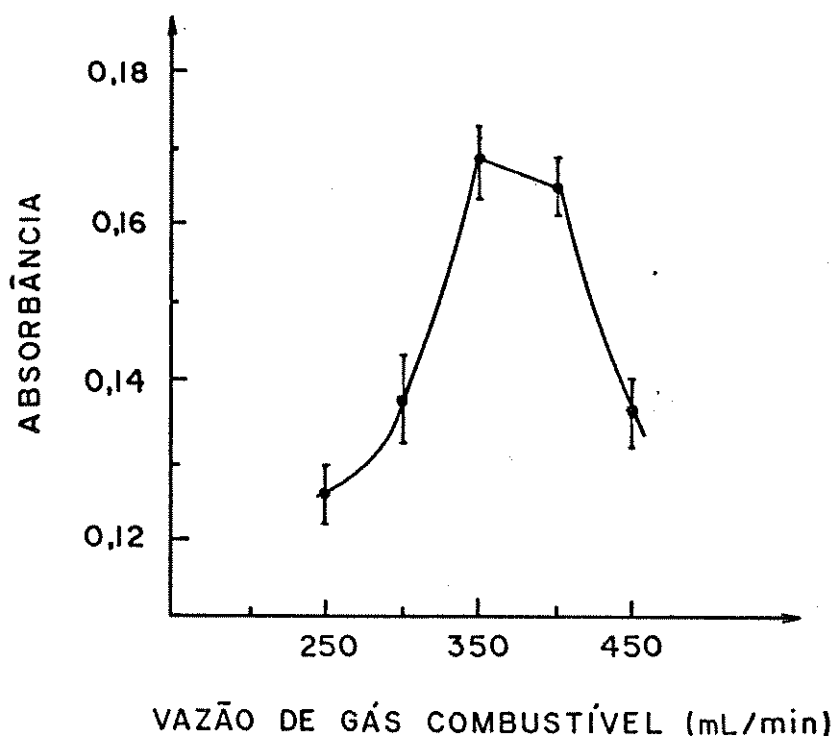


Figura 9: Resultados expressos graficamente para o teste de vazão de gás combustível

Para as vazões menores que 250 mL/min de propano, não foi possível se fazer detecções, pois a chama não se mantinha acesa. Acima de 450 mL/min de propano a região de reação secundária foi dominante na chama. Observou-se que com essas vazões acima de 450mL/min de propano havia formação de uma chama luminosa, causando oscilação no indicador, semelhante as oscilações observadas no teste de vazão de gás oxidante. Nesse teste, o melhor resultado de vazão de propano foi de 350 mL/min.

7.4.7. Vazão de amostra

Para as variações de amostra, utilizou-se vários "loops" de tamanhos diferentes, obtendo-se vazões no intervalo de 1,5 a 11,0 mL/min. Desta forma, utilizando-se os melhores resultados obtidos nos testes anteriores e as condições descritas na tabela 6, fez-se as medidas de absorbâncias nesse intervalo, calculando-se as médias e os desvios padrão, e os intervalos de confiança, com probabilidade de 95%. Na tabela 1 a 10 e na figura 10 estão os resultados obtidos no teste de vazão de amostra.

VAZÃO DE AMOSTRA (mL/min)	$\bar{A} \pm t.s/\bar{n}$ ($\alpha=95\%$)
1,54	
2,38	0,063 $\pm$ 0,004
2,55	0,087 $\pm$ 0,004
3,12	0,103 $\pm$ 0,005
4,86	0,118 $\pm$ 0,005
5,09	0,128 $\pm$ 0,006
7,34	0,142 $\pm$ 0,003
7,48	0,158 $\pm$ 0,005
8,42	0,168 $\pm$ 0,005
10,34	0,172 $\pm$ 0,003
10,80	0,174 $\pm$ 0,004

Tabela 10: Resultados obtidos nas medidas de absorbâncias com as vazões de amostra.

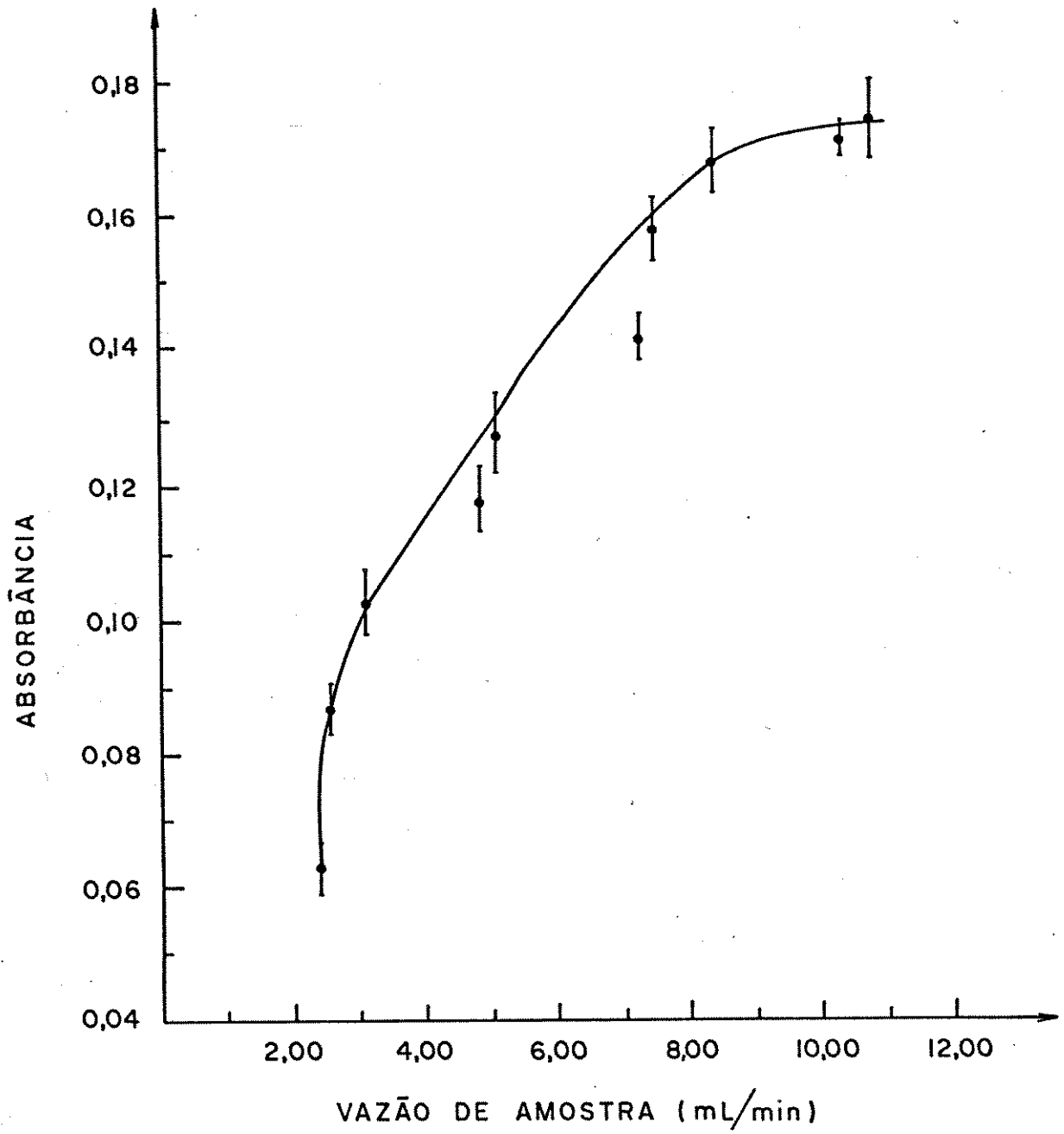


Figura 10: Resultados expressos graficamente para
o teste de vazão de amostra

Nota-se que a medida que aumenta a vazão de amostra, os valores de absorbância sofrem aumento, até atingir um limite, depois tornam-se constantes. Para pequenas vazões de amostra, ocorre a dispersão dessa em forma de " jatos separados ", visto que a amostra que corre pela ranhura cai " gota a gota ", entretanto para altas vazões de amostra, a ranhura do nebulizador comportará apenas uma quantidade limite, assim, parte dessa será eliminada correndo pela lateral do nebulizador, não sendo dispersada, mantendo a absorbância constante.

Nesse teste, a vazão de amostra onde as medidas em absorbância são máximas, é a partir de 8,42 mL/min. Desta forma, pode-se utilizar qualquer outra vazão igual ou maior que 8,42 mL/min.

7.4.8. Volume de amostra.

Para o teste de volume de amostra, considerou-se os resultados obtidos nos testes anteriores e a vazão de amostra de 10,34 mL/min, visto que, essa está no intervalo ótimo de absorbância. Tomou-se, então, 10 leituras de absorbância no intervalo de 130 a 640 μ L de amostra, calculando-se as médias e os desvios padrão, e os intervalos de confiança, com probabilidade de 95%.

Os resultados para as medidas de absorbância nesse teste são semelhantes aos resultados obtidos no teste de vazão de amostra. O aumento de volume da amostra aumenta a resposta em absorbância até atingir um valor constante. Na tabela 11 e na figura 11 estão os resultados obtidos nesse teste.

VOLUME DE AMOSTRA (μL)	$\bar{A} \pm t.s/\sqrt{n}$ ($\alpha = 95\%$)
130	0,066 $\pm$ 0,004
230	0,095 $\pm$ 0,004
350	0,126 $\pm$ 0,004
400	0,137 $\pm$ 0,004
460	0,163 $\pm$ 0,004
560	0,165 $\pm$ 0,004
640	0,166 $\pm$ 0,004

Tabela 11: Resultados obtidos nas medidas de absorvância com os volumes de amostra.

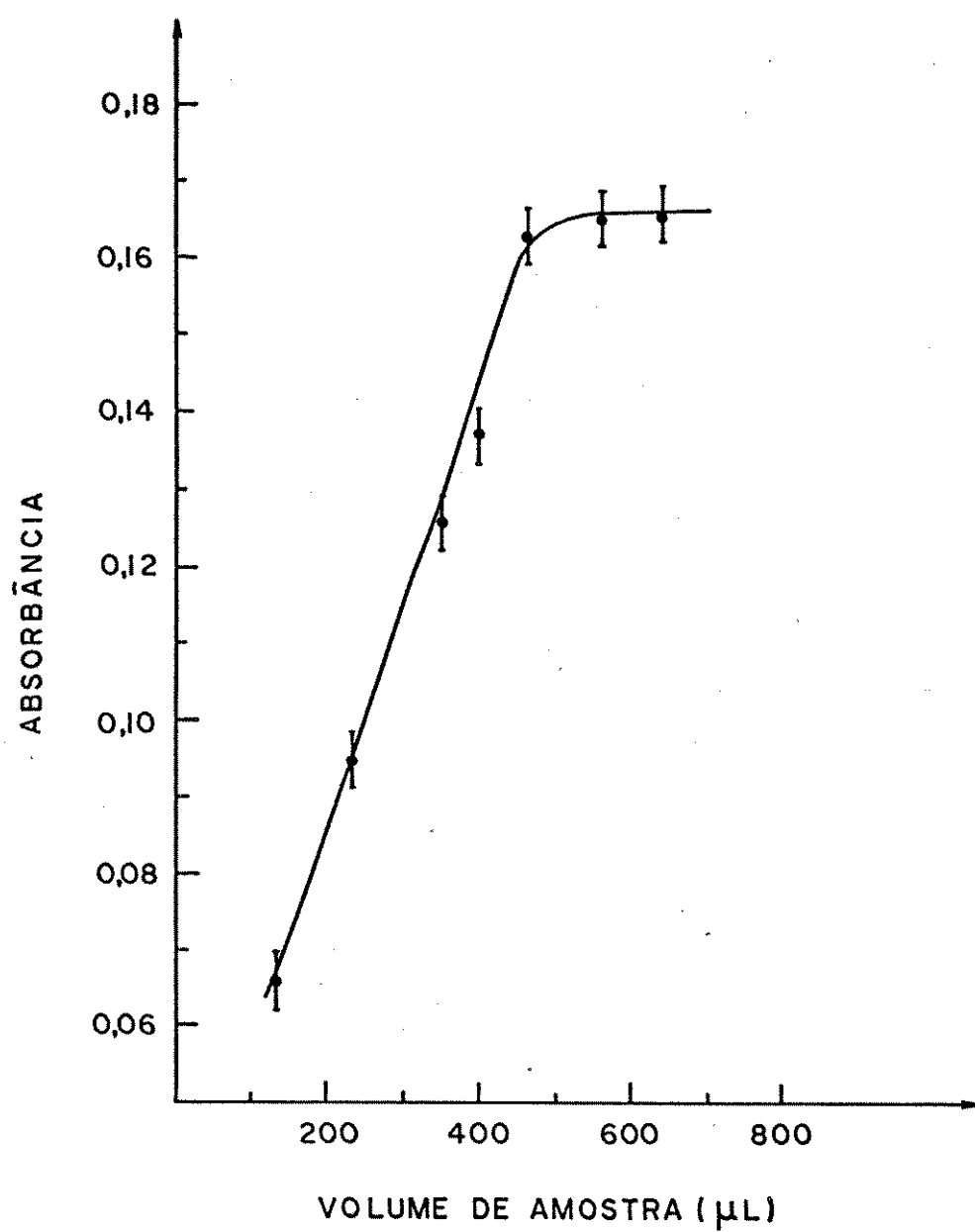


Figura 11: Resultados expressos graficamente para o teste de volume de amostra

Nota-se que a partir de um volume de 460 μL de amostra a resposta de absorbância se mantém constante. Observou-se nesse estudo que houve retenção da resposta no indicador de 3, 4 e 5 segundos para os respectivos volumes de 460, 560 e 640 μL de amostras.

O estudo de volume de amostra foi realizado também com o uso do registrador. Na figura 12 estão os resultados obtidos. Fez-se 3 injeções de 460 μL e em seguida a amostra foi diretamente nebulizada por 10 segundos, observa-se que a altura dos picos de absorbância tanto para as injeções como para a direta nebulização foram iguais.

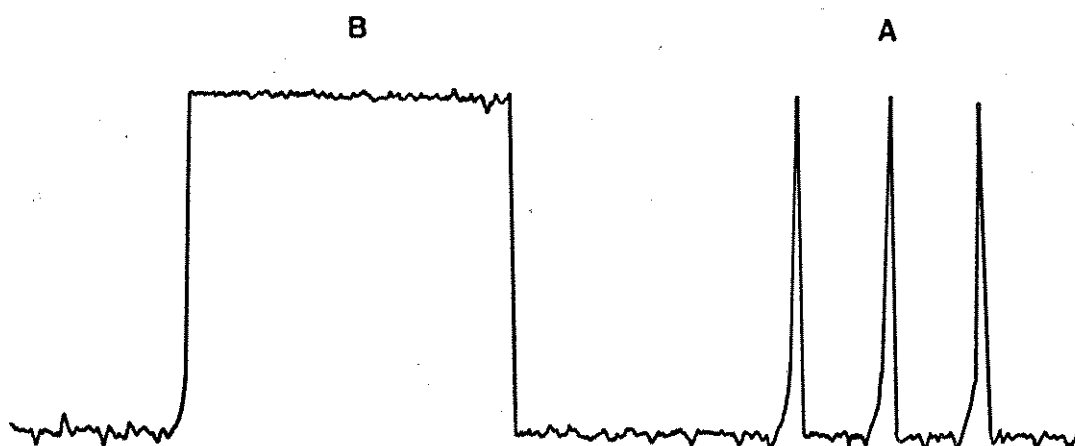


Figura 12: Resultados obtidos no teste de volume de amostra. (A) injeções em fluxo de 460 μL , (B) injeção direta por 10 segundos

Nesse teste, os volumes a partir de 460 μL podem ser utilizados para as injeções de amostras para o nebulizador.

Após o estudo desses parâmetros, fixaram-se as condições

de trabalho para a determinação de zinco em amostras de alimentos em suspensão, com a utilização do gás propano. As condições estão descritas nas tabelas 12 e 13.

<u>Sistema ótico</u>		
lâmpada de cátodo ôco	Zn	
corrente de operação	7,5 mA	
comprimento de onda	213,9 nm	
abertura de fenda	0,4 mm	
<u>Condições da chama</u>		
combustível	acetileno	propano
altura do queimador (cm)	1,0	0,8
vazão de ar comprimido (L/min)	5,0	5,0
vazão de combustível (mL/min)	1200	350

Tabela 12 : Condições para o sistema ótico e a chama do especto fotômetro de absorção atômica, na determinação de zinco em amostras de alimentos em suspensão

<u>Condições para o padrão</u>		
vazão do padrão	10,34 mL/min	
volume do padrão	460 μ L	
<u>Ajuste do equipamento</u>		
combustível	acetileno	propano
ganho	alto	baixo
escala do ganho	2	9
escala de expansão	2	2

Tabela 13 : Condições obtidas para o padrão e o ajuste do equipamento, na otimização

7.4.9. Efeito de adsorção

Para se estudar o efeito de adsorção, preparou-se uma série de soluções padrão em suspensão, pesando-se 0,0 ; 0,50 ; 1,50 ; 2,50 ; e 3,00 g de feijão branco moído, adicionando-se 2 mL de uma solução de 100 μg de zinco/mL, homogeneizou-se por 4 minutos com água deionizada, transferiu-se para frascos de polietileno de 100 mL e completou-se os volumes. Obteve-se as concentrações finais de 2,236 ; 2,708 ; 3,180 e 3,416 μg de zinco/mL, respectivamente. A seguir deixou-se as soluções em repouso por 30 minutos e procedeu-se as leituras no sobrenadante e no material decantado, em cada amostra, calculando-se as médias, bem como os desvios padrão, e os intervalos de confiança, com probabilidade de 95%. Os resultados encontram-se na tabela 14 e na Figura 13.

Nos resultados obtidos com as amostras homogeneizadas e decantadas, após 30 minutos, as medidas de absorbância foram proporcionais às concentrações, porém os resultados para as medidas no sobrenadante foram todos semelhantes, permanecendo no intervalo da concentração de 2 μg de zinco/mL. Esse fato indica que a adição de elementos metálicos às soluções padrão em suspensão, não será necessariamente adsorvido sobre as partículas, permitindo, desta forma, a utilização de padrões internos, quando se fizer necessário.

FEIJÃO (g)	CONCENTRAÇÃO DE ZINCO ($\mu\text{g/mL}$)	$\bar{A} \pm t.s/\sqrt{n}$ ($\alpha = 95\%$)
0,00	2,000	0,075 $\pm$ 0,003
0,50	2,236	H 0,116 $\pm$ 0,003
		S 0,085 $\pm$ 0,003
		D 0,111 $\pm$ 0,005
1,50	2,708	H 0,145 $\pm$ 0,003
		S 0,082 $\pm$ 0,004
		D 0,134 $\pm$ 0,005
2,50	3,180	H 0,166 $\pm$ 0,003
		S 0,085 $\pm$ 0,003
		D 0,153 $\pm$ 0,002
3,00	3,416	H 0,171 $\pm$ 0,003
		S 0,087 $\pm$ 0,003
		D 0,166 $\pm$ 0,003

Tabela 14: Resultados obtidos para o teste de efeito de adsorção (H - amostras homogeneizadas, S - sobrenadante e D - decantada).

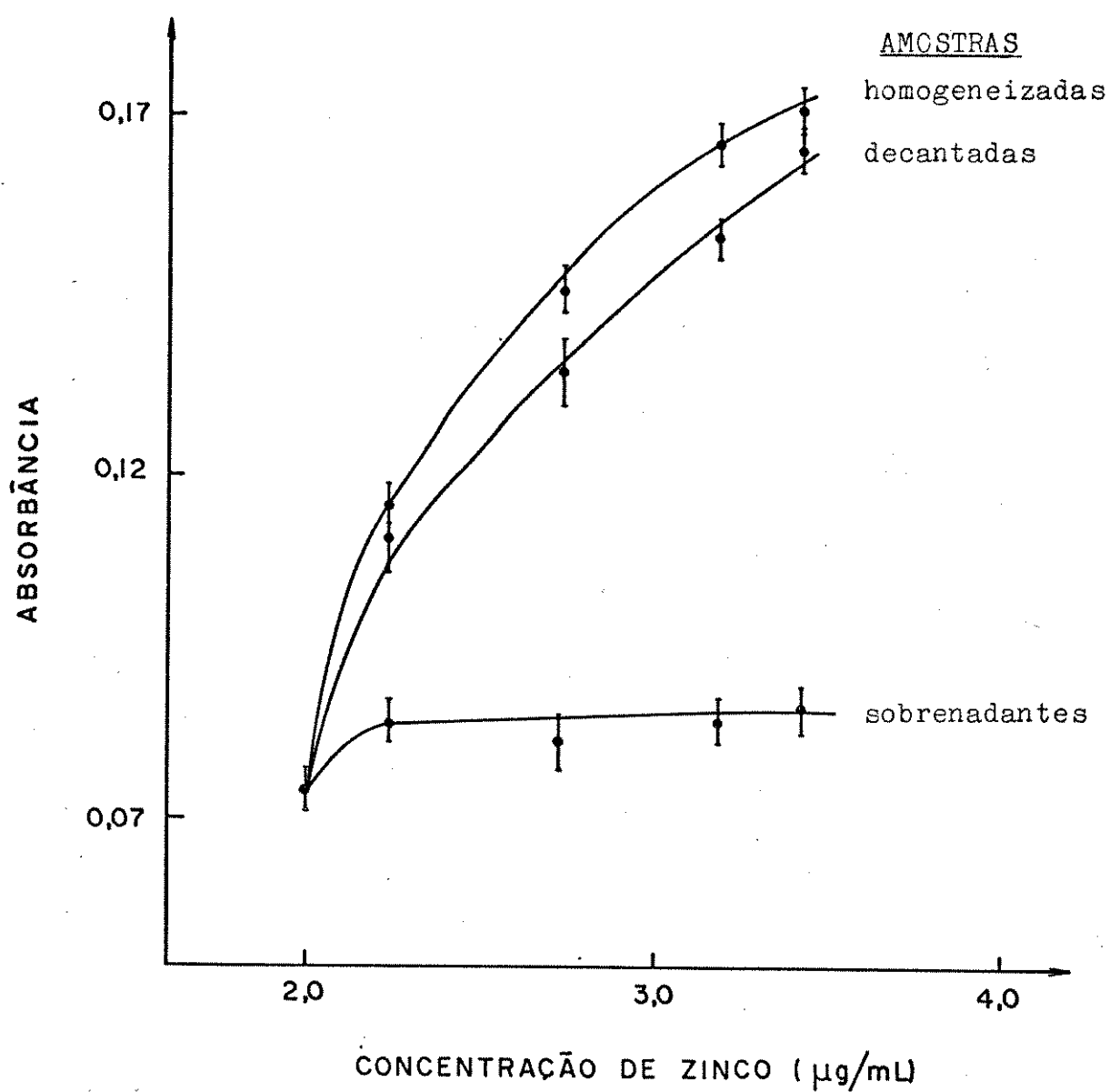


Figura 13: Resultados expressos graficamente para o estudo de efeito de adsorção

7.5. Determinação de zinco

7.5.1. Método A (amostras em soluções)

Para a determinação de zinco nas amostras de alimentos através do método A, utilizaram-se as condições apresentadas na tabela 3 com o uso do gás propano, para a operação do espectrofotômetro de absorção atômica. Para se obter a curva de calibração, utilizaram-se padrões sintéticos de 0,0 ; 0,2 ; 0,4 ; 0,6 ; 0,8 ; 1,0 ; 1,5 e 2,0 μg de zinco/ mL, onde tomou-se 6 medidas de absorbância para cada valor de concentração e calculou-se as médias, os desvios padrão, e os intervalos de confiança, com probabilidade de 95%.

Os resultados para a curva de calibração estão na tabela 15, e na figura 14 está a representação gráfica desses resultados. O coeficiente de correlação obtido para essa curva de calibração foi de 0,9994.

CONCENTRAÇÃO DE ZINCO ($\mu\text{g/mL}$)	$\bar{A} \pm t \cdot s/\sqrt{n}$ ($\alpha = 95\%$)
0	0
0,2	0,093 $\pm$ 0,005
0,4	0,165 $\pm$ 0,005
0,6	0,302 $\pm$ 0,004
0,8	0,388 $\pm$ 0,004
1,0	0,476 $\pm$ 0,005
1,5	0,772 $\pm$ 0,007
2,0	0,995 $\pm$ 0,008

Tabela 15: Resultados obtidos para a curva de cali-
 bração de zinco, pelo método A. ($\bar{A}$ = mé-
 dia de 6 medidas de absorbância, onde $t^5_{0.05} =$
 2,571).

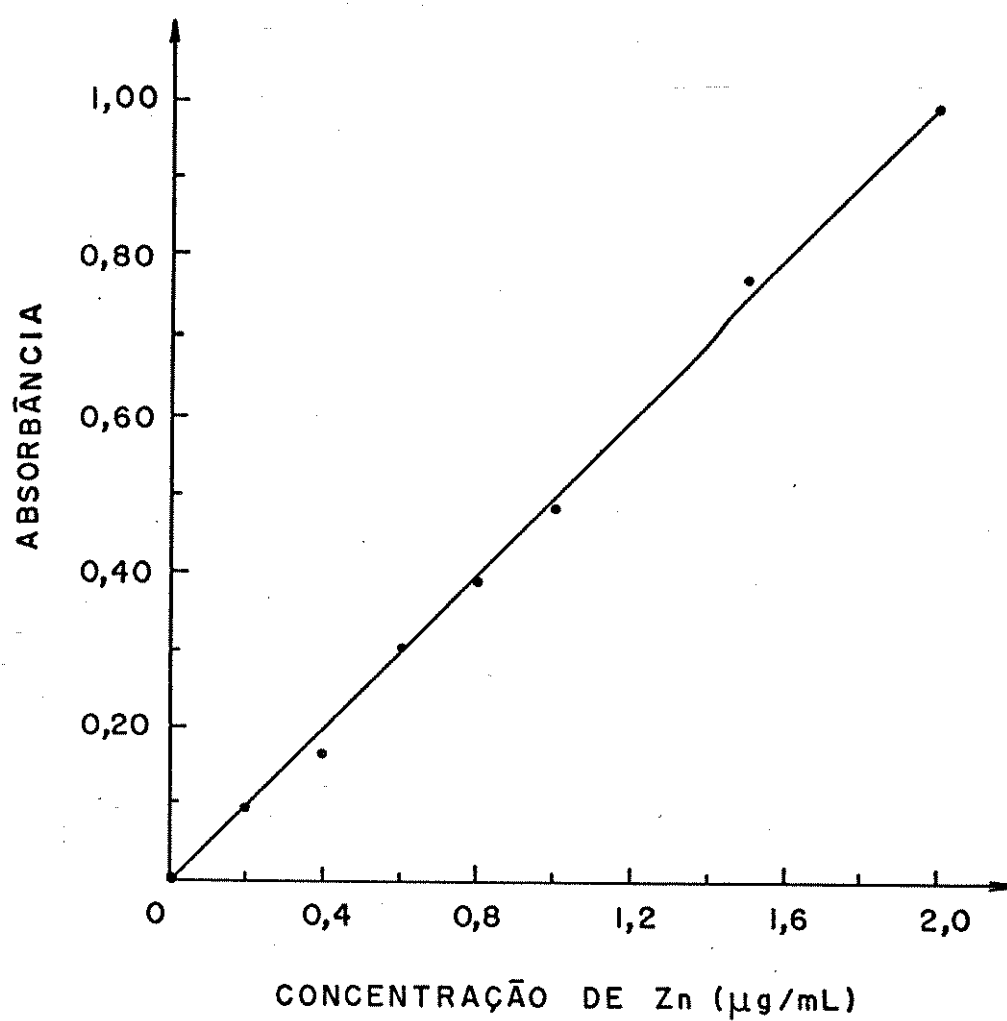


Figura 14: Curva de calibração para zinco, obtida através do método A.

7.5.2. Método B (amostras em suspensões)

Vários estudos para a obtenção da curva de calibração para a determinação de zinco em amostras sólidas em suspensões foram realizadas. As condições para se obter as curvas de calibração 1, 2 e 3 foram as descritas nas tabelas 12 e 13, sendo que para as curvas de calibração 1 e 2 utilizou-se o gás propano e para a curva de calibração 3, utilizou-se o gás acetileno.

CURVA DE CALIBRAÇÃO 1:

Obteve-se a curva de calibração a partir das soluções padrão em suspensão descrito no item 7.2.2.3. Fez-se 19 leituras de absorbância e calculou-se as médias, os desvios padrão, e os intervalos de confiança com probabilidade de 95%. Na tabela 16 e na figura 15 temos os resultados obtidos pela curva de calibração 1.

Observa-se que essa curva de calibração não é linear. Na tentativa de obter a linearidade, fez-se a adição de padrão, para a curva de calibração 2.

FELJÃO (g)	CONCENTRAÇÃO DE ZINCO ($\mu\text{g/mL}$)	$\bar{A} \pm t.s/\sqrt{n}$ ($\alpha = 95\%$)
0	0	0
0,50	0,236	$0,033 \pm 0,004$
1,00	0,472	$0,055 \pm 0,004$
2,00	0,944	$0,075 \pm 0,004$
4,00	1,888	$0,106 \pm 0,005$
6,00	2,832	$0,125 \pm 0,004$
8,00	3,776	$0,146 \pm 0,004$
10,00	4,720	$0,158 \pm 0,003$

Tabela 16: Resultados obtidos para a curva de calibração 1 de zinco, com padrões em suspensão .
 ($\bar{A}$ = média de 10 medidas de absorvância, onde $t_{0.05}^9 = 2,262$).

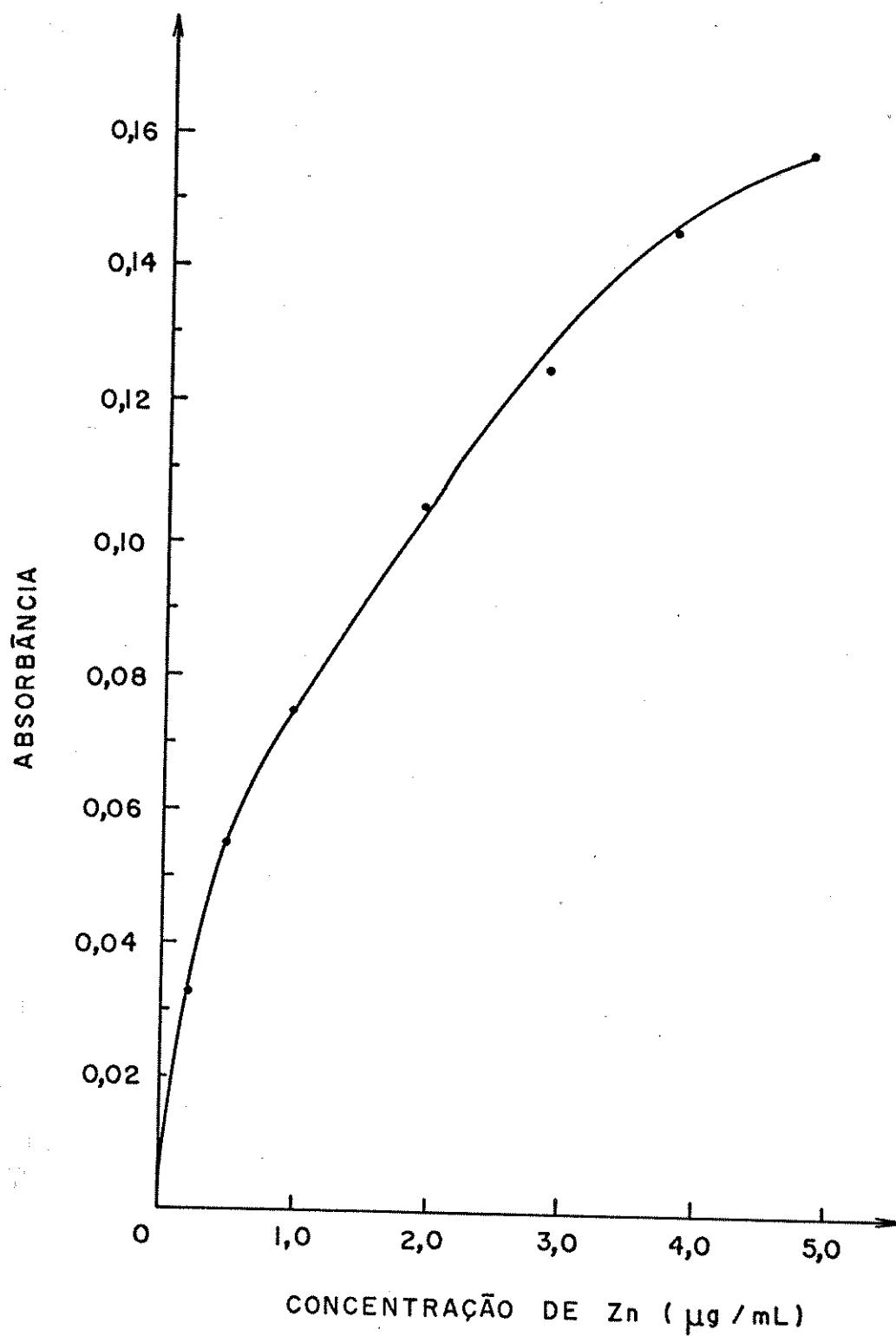


Figura 15: Curva de calibração 1 para o zinco, obtida através do método B.

CURVA DE CALIBRAÇÃO 2:

Na obtenção dessa curva de calibração, preparou-se os padrões em suspensões pesando-se: 0,00 ; 0,25 ; 0,50 ; 1,00 ; 1,50; 2,00 ; 2,50 e 3,00 g de feijão branco moído, adicionou-se 2 mL de uma solução de 100 µg de zinco/ mL,,homogeneizando-se as soluções por 4 minutos com água deionizada e transferindo-se para frascos de polietileno de 100 mL, completando-se os volumes. Obteve-se as concentrações de: 2,000 ; 2,188 ; 2,236 ; 2,472 ; 2,708 ; 2,944 ; 3,180 e 3,416 µg de zinco/mL, respectivamente. Fez-se 10 leituras de absorvância para cada valor de concentração, calculando-se as médias e os desvios padrão, com probabilidade de 95%.Os resultados estão na tabela 17 e na figura 16.

FEIJÃO (g)	CONCENTRAÇÃO DE ZINCO (µg/mL)	$\bar{A} \pm t.s/\sqrt{n}$ ($\alpha=95\%$)
0	2,000	0,074 $\pm$ 0,003
0,25	2,118	0,104 $\pm$ 0,003
0,50	2,236	0,125 $\pm$ 0,003
1,00	2,472	0,141 $\pm$ 0,005
1,50	2,708	0,152 $\pm$ 0,004
2,00	2,944	0,157 $\pm$ 0,002
2,50	3,180	0,166 $\pm$ 0,004
3,00	3,416	0,168 $\pm$ 0,002

Tabela 17: Resultados obtidos para a curva de calibração 2 para o zinco, com adição de padrão. ($\bar{A}$ = média para 10 medidas de absorvância, $t_{0.05}^9=2,262$).

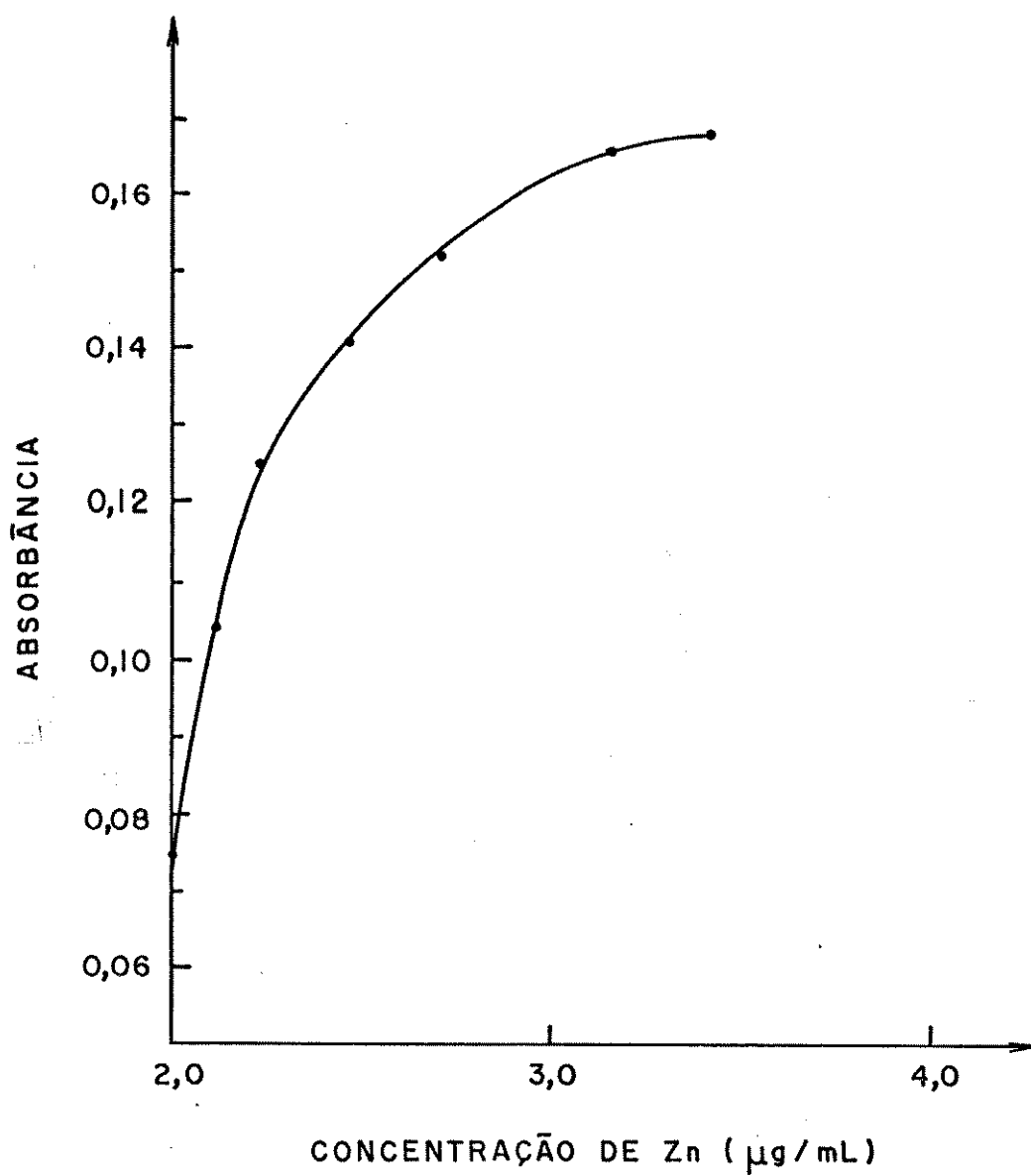


Figura 16: Curva de calibração 2 para o zinco, obtida através do método B e com adição de padrão.

Essa curva de calibração apresentou o mesmo comportamento da curva de calibração 1, podendo, porém, ser utilizada para a determinação do elemento metálico. Entretanto, os cálculos envolvidos podem por muitas vezes ser trabalhosos, além de aumentar o erro analítico, desta forma desfavorecendo a utilidade do método.

CURVA DE CALIBRAÇÃO 3:

Com o objetivo de se obter a linearidade pela curva de calibração com os padrões em suspensões, utilizou-se a alternativa de mudança do gás combustível, visto que ao utilizar o gás propano a linearidade não foi obtida e, o gás acetileno proporciona uma chama mais limpa e de temperatura mais alta.

Os padrões em suspensões para a obtenção dessa curva de calibração foi descrito no item 7.2.2.3., fez-se 5 leituras de absorvância, calculando-se as médias, os desvios padrão, e os intervalos de confiança com probabilidade de 95%. Na tabela 18 e na figura 17 tem-se os resultados obtidos. Nota-se que, embora o gás propano seja o mais sensível, a linearidade somente foi obtida com o uso do gás acetileno, onde o coeficiente de correlação foi de 0,9993.

FEIJÃO (g)	CONCENTRAÇÃO DE ZINCO ($\mu\text{g/mL}$)	$\bar{A} \pm t \cdot s / \sqrt{n}$ ($\alpha = 95\%$)
0	0	0
0,5	0,236	0
1,0	0,472	0,022 $\pm$ 0,004
2,0	0,944	0,038 $\pm$ 0,004
4,0	1,888	0,066 $\pm$ 0,005
6,0	2,832	0,104 $\pm$ 0,005
8,0	3,776	0,138 $\pm$ 0,005
10,0	4,720	0,174 $\pm$ 0,005

Tabela 18: Resultados obtidos para a curva de calibração
3 de zinco, para o padrão em suspensão. ($\bar{A}$ =
média de 5 medidas de absorbância, $t_{0,05}^4 = 2,776$).

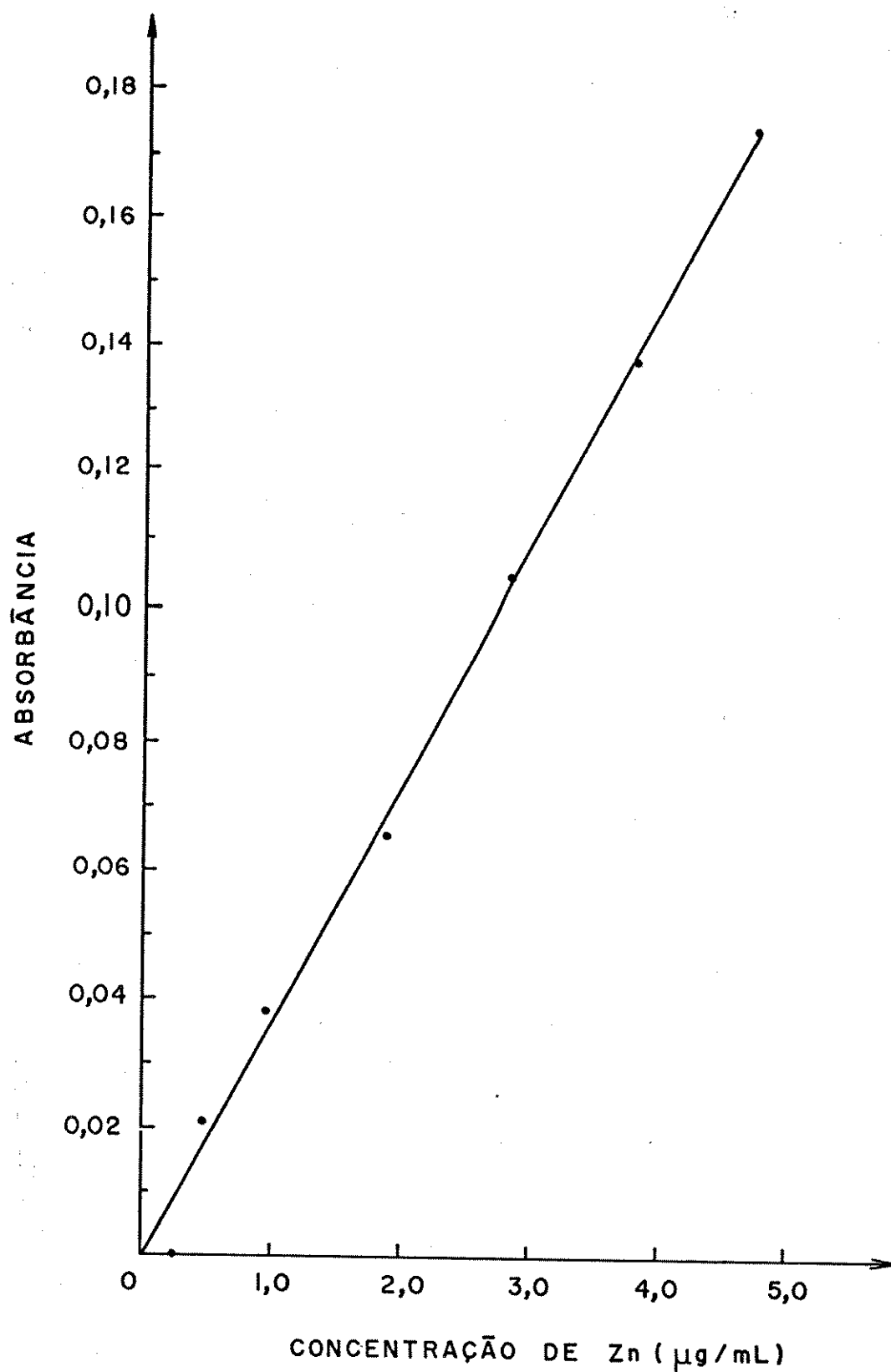


Figura 17: Curva de calibração 3 para o zinco, obtida através do método B e com a utilização do gás acetileno.

7.5.3. Comparação entre os métodos A e B

Para a determinação de zinco nas amostras de alimentos pelo método A, utilizou-se a curva de calibração descrita no item 7.5.1. e para o método B, utilizou-se a curva de calibração 3, descrita no item 7.5.2.. Na tabela 19 tem-se os resultados obtidos para os dois métodos.

A L I M E N T O S	CONCENTRAÇÃO DE ZINCO (ug/mL)	
	Método A	Método B
Feijão rajado	56,7	57,4
Batata	8,9	9,3
Extrato de tomate	16,6	16,7
Farinha de trigo	33,6	33,3
Salsicha	49,5	47,1
Cenoura	10,2	11,1
Ervilha	19,9	20,0
Biscoito de leite	25,6	25,9
Pera	8,6	8,9
Farinha de mandioca	16,1	15,7
Farinha de milho - flocos	14,4	14,8
Pão francês	43,3	43,5
Vagem	12,4	12,0
Farinha de milho pré-cozida	20,2	20,0
Maçã	6,6	6,7
Arroz	37,3	37,0
Feijão branco	47,1	-

Tabela 19: Resultados obtidos na determinação de zinco nas amostras de alimentos através dos métodos A e B.

7.6. Determinação de ferro

As condições de operação do espectrofotômetro de absorção atômica para a determinação de ferro nas amostras de alimentos, estão nas tabelas 20 e 21. Essas condições foram obtidas do manual de seleção de métodos para a operação do espectrofotômetro, sendo que foi acrescentada as condições de bombeamento de amostras para o nebulizador, resultantes dos testes de otimização, quando utilizamos o método B.

<u>Sistema ótico</u>	
lâmpada de cátodo ôco	Fe
corrente de operação	7,5 mA
comprimento de onda	248,3 nm
abertura de fenda	0,1 mm
<u>Condições da chama</u>	
gás combustível	acetileno
altura do queimador	1,0 cm
vazão de ar comprimido	5,0 L/min
vazão de combustível	1200 mL/min

Tabela 20: Condições do manual do espectrofotômetro de absorção atômica, para o sistema ótico e a chama, na determinação de ferro.

<u>Condições para o padrão</u>	
vazão do padrão	10,34 mL/min
volume de padrão	460 μ L
<u>Ajuste do equipamento</u>	
ganho	alto
escala do ganho	3
escala de expansão	3

Tabela 21: Condições para o padrão e o ajuste do equipamento, na determinação de ferro.

7.6.1. Método A (amostras em soluções)

A curva de calibração para a determinação de ferro pelo método A, foi obtida com soluções padrões sintéticos de 0,0 ; 1,0 ; 3,0 ; 5,0 ; 7,0 ; 10,0 e 20,0 μ g de ferro/mL. Fez-se 5 leituras para cada valor de concentração, calculando-se as médias, os desvios padrão, e os intervalos de confiança com probabilidade de 95%.

Na tabela 22 e na figura 18 estão os resultados obtidos para a curva de calibração, a qual apresentou um coeficiente de correlação de 0,9995.

CONCENTRAÇÃO DE FERRO ($\mu\text{g/mL}$)	$\bar{A} \pm t.s/\sqrt{n}$ ($\alpha = 95\%$)
0	0
1,0	0,062 $\pm$ 0,004
3,0	0,154 $\pm$ 0,005
5,0	0,218 $\pm$ 0,004
7,0	0,312 $\pm$ 0,004
10,0	0,422 $\pm$ 0,004
20,0	0,856 $\pm$ 0,005

Tabela 22: Resultados obtidos para a curva de calibração do ferro, pelo método A. ($\bar{A}$ = média de 5 medidas de absorvância, $t^4_{.05} = 2,776$).

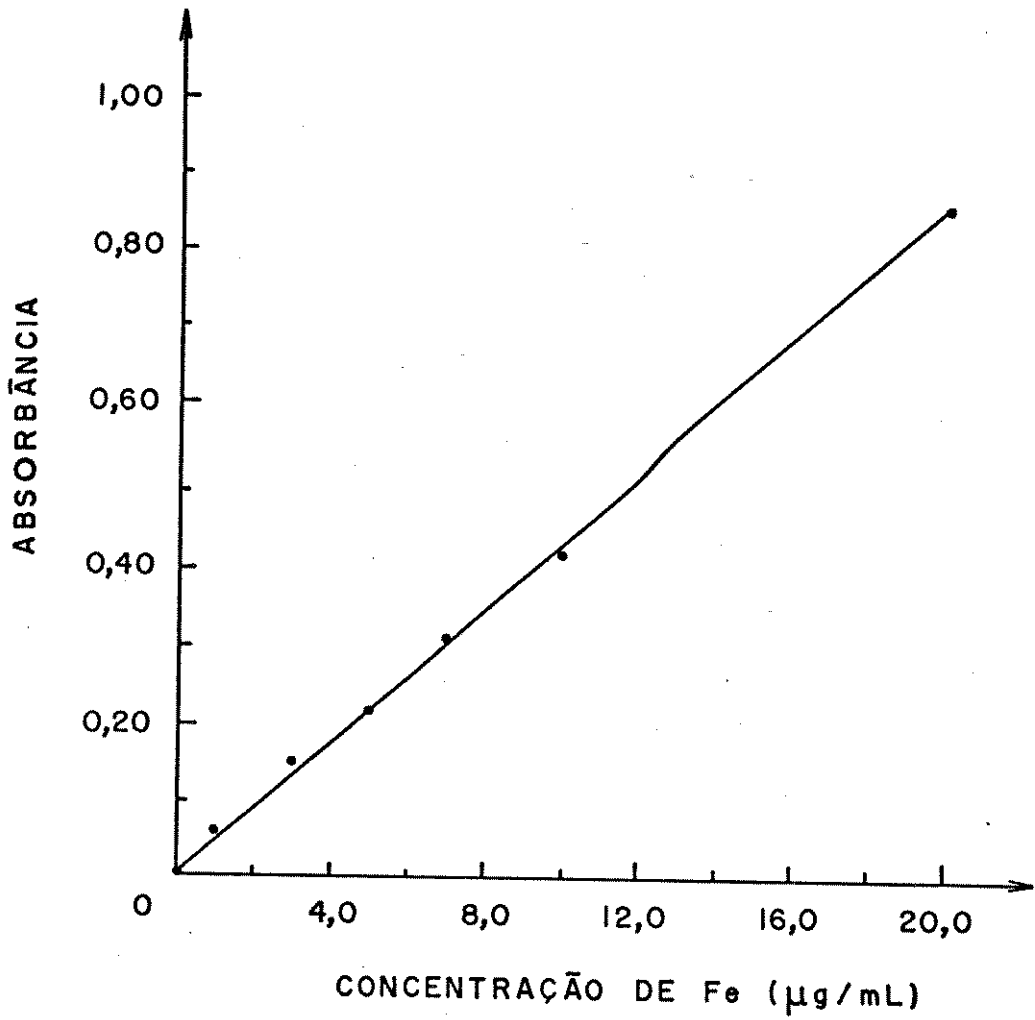


Figura 18: Curva de calibração para o ferro, obtida através do método A.

7.6.2. Método B (amostras em suspensões)

Na tabela 23 e a figura 19 mostram os resultados obtidos para a curva de calibração com a utilização dos padrões em suspensões, para a determinação de ferro. O coeficiente de correlação obtido para essa curva foi 0,9993.

FEIJÃO (g)	CONCENTRAÇÃO DE FERRO ($\mu\text{g/mL}$)	$\bar{A} \pm t.s/\sqrt{n}$ ($\alpha = 95\%$)
0	0	0
1,5	1,12	0,034 $\pm$ 0,005
3,0	2,24	0,046 $\pm$ 0,005
4,5	3,36	0,070 $\pm$ 0,000
6,0	4,48	0,090 $\pm$ 0,000
7,5	5,60	0,112 $\pm$ 0,004
10,5	7,84	0,166 $\pm$ 0,005

Tabela 23: Resultados obtidos para a curva de calibração de ferro, com padrões em suspensões. ($\bar{A}$ = média de 5 medidas de absorbância, $t_{0.05}^4 = 2,776$).

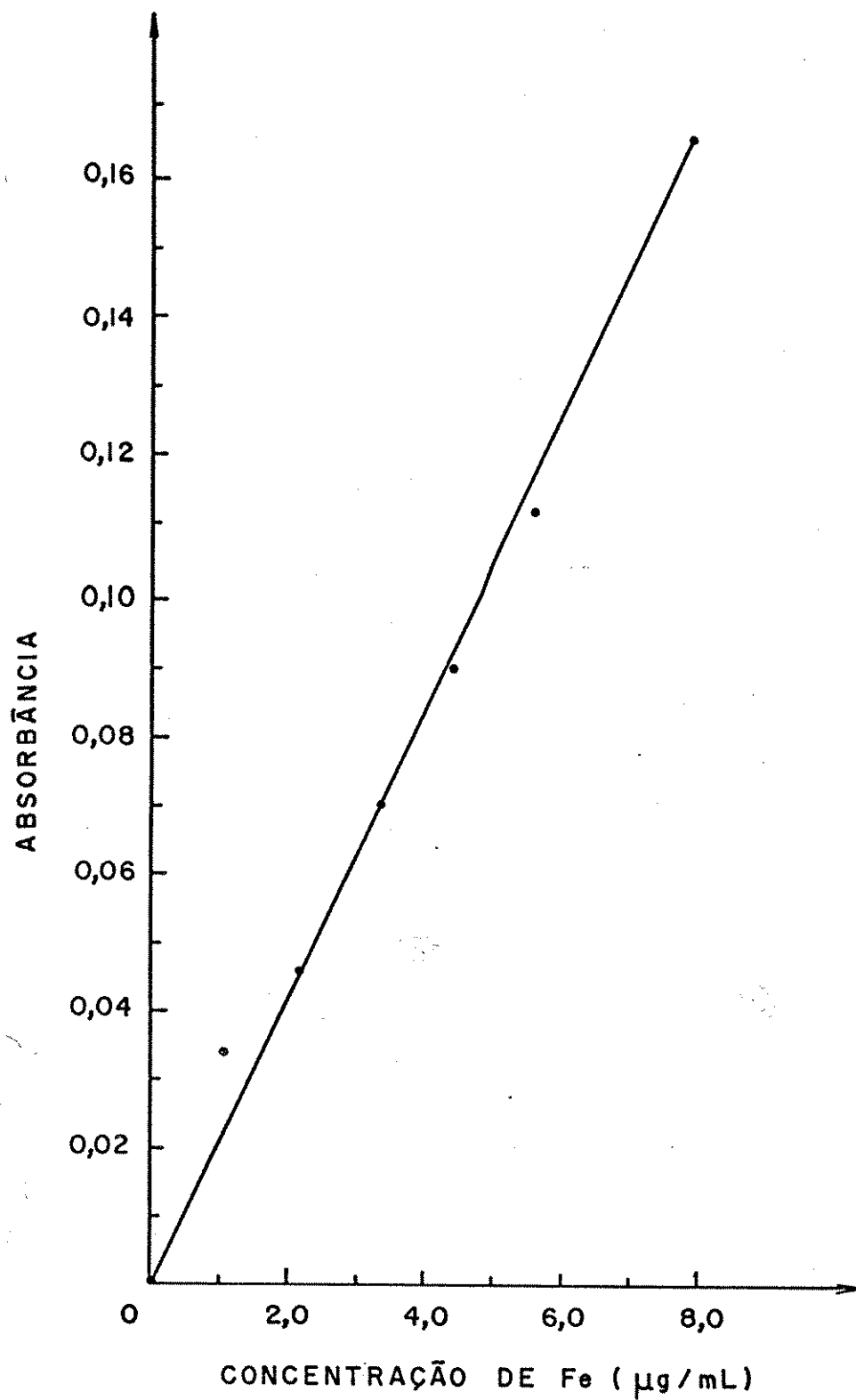


Figura 19: Curva de calibração para o ferro,
obtida através do método B.

7.6.3. Comparação entre os métodos A e B

A tabela 24 apresenta os resultados obtidos na determinação de ferro em amostras de alimentos, pelo método A e pelo método B.

A L I M E N T O S	CONCENTRAÇÃO DE FERRO (ug/mL)	
	Método A	Método B
Feijão rajado	170,0	170,0
Batata	55,7	55,0
Extrato de tomate	85,0	85,8
Farinha de trigo	28,0	27,5
Salsicha	39,3	38,3
Cenoura	47,7	48,3
Ervilha	29,3	29,5
Biscoito de leite	50,7	51,7
Pera	19,0	19,5
Farinha de mandioca	37,3	35,8
Farinha de milho - flocos	53,3	53,3
Pão francês	58,7	57,5
Vagem	5,7	51,7
Farinha de milho pré-cozida	15,7	16,0
Maçã	13,3	13,0
Arroz	87,3	86,7
Feijão branco	74,7	-

Tabela 24: Resultados obtidos na determinação de ferro nas amostras de alimentos através dos métodos A e B.

8. DISCUSSÃO

8.1. Eficiência

A eficiência do nebulizador do tipo Babington, obtida através de 100 injeções de 560 μL de amostras homogeneizadas , contendo 5% de sólidos em suspensão, é de 10,71%.

Observa-se que a eficiência obtida para o método B é semelhante a descrita para o método A, de 10,00%.

8.2. Exatidão

Para se fazer a comparação entre os resultados obtidos na determinação de zinco e ferro através dos métodos A e B, fez-se um tratamento estatístico, utilizando-se o teste de dados múltiplos. Através desse tratamento estatístico de dados, verificou-se que os métodos não apresentam diferença significativa ao nível de 30 % para o zinco e 40 % para o ferro. Por meio desses resultados conclui-se que a exatidão para os métodos é muito boa.

8.3. Precisão

Através das estimativas dos desvios padrão, com probabilidade de 95%, pode-se observar que uma boa repetibilidade foi obtida na determinação de zinco e ferro através dos métodos A e B. Desta forma, a precisão obtida para os dois métodos são muito boas, e aceitáveis ao nível de 95% de probabilidade.

8.4. Sensibilidade

As sensibilidades, obtidas pelas inclinações das curvas de calibração, para os métodos A e B na determinação de zinco e ferro em alimentos sólidos, estão resumidas na tabela 25.

ELEMENTO METÁLICO	SENSIBILIDADE (mL μg^{-1} cm $^{-1}$)	
	método A	método B
zinco	0,498 ^a	0,0369 ^b
ferro	0,0428 ^b	0,0212 ^b

Tabela 25: Sensibilidade obtidas para os métodos A e B, na determinação de zinco e ferro.

^aPropano

^bAcetileno

Porque foi necessário usar acetileno pelas suspensões, no caso de zinco e análise de soluções foi melhor o propano, e não é possível comparar as sensibilidades. No caso de ferro, o método de suspensões tem uma metade da sensibilidade do método com soluções.

8.5. Limite de detecção

Os limites de detecção foram calculados com probabilidade de 95%, tanto para o método A como para o método B, os resultados obtidos estão na tabela 26.

ELEMENTO METÁLICO	LIMITE DE DETECÇÃO (µg/mL)	
	método A	método B
zinco	0,030 ^a	0,325 ^b
ferro	0,28 ^b	0,71 ^b

Tabela 26: Limites de detecção obtidos para os métodos A e B, na determinação de zinco e ferro.

^aPropano

^bAcetileno

Não é possível comparar os limites de detecção de zinco pelos dois métodos porque foi necessário usar acetileno para suspensões, em lugar de propano, para ter uma padronização linear. Para o ferro, o limite de detecção em suspensões é 2,5 vezes maior que no caso de soluções.

9. CONCLUSÕES

Ao concluir o estudo e a construção do nebulizador do tipo B bington para a aplicação na determinação de elementos metálicos em amostras de alimentos sólidos em suspensão, por espectrofotometria de absorção atômica, e com as condições apresentadas nesse trabalho, chegamos as seguintes conclusões:

- a. A introdução de amostras com 10,5% de sólidos suspensos para a nebulização, não apresentou problemas de entupimento nos tubos tygon, polietileno da bomba peristáltica e do injetor proporcional, apresentando boa repetibilidade nas medidas de absorbâncias.

- b. Os testes de vazão e volume de amostra são os parâmetros mais importantes dentro da otimização, visto que os outros parâmetros podem ser obtidos através de um manual de seleção de métodos, pois não apresentam diferenças significativas com os resultados obtidos após a otimização. Outro parâmetro que requer atenção é da altura do queimador. Pequenos ajustes podem vir a ser necessários, recomenda-se nesse caso, um ajuste antes das determinações, sem a necessidade de um teste como exposto nesse trabalho.
- c. A utilização de adição de padrão pode vir a ser utilizado, quando a curva de calibração for obtida com amostra semelhante estudada nesse trabalho(feijão branco), visto que não ocorre o efeito de adsorção do elemento metálicos adicionado sobre as partículas do alimento.
- d. Para a determinação de zinco em amostras sólidas em suspensões, recomenda-se a utilização do gás acetileno, por apresentar temperatura mais alta e uma chama mais limpa. O gás propano poderá ser utilizado com o nebulizador tipo Babington, entretanto cálculos mais trabalhosos serão necessários para a curva de calibração, sendo dessa forma pouco viável.
- e. O tempo de homogeneização pode ser de 1 a 5 minutos, sendo que o tempo de homogeneização de 4 minutos é o mais recomendado. Para não ocorrer alterações nas medidas de absorbância, há necessidade de que sejam tomadas as leituras logo após as homogeneizações.

- f. A determinação de zinco e ferro com a utilização do nebulizador tipo Babington, pode ser aplicado para as amostras descritas nesse trabalho, onde os métodos não apresentam diferenças significativas ao nível de 30% e 40%, respectivamente.
- g. A determinação de zinco e ferro com a utilização do nebulizador tipo Babington apresenta 4 vantagens: tempo de análise rápida, diminuição das fontes de contaminações, minimização de perdas dos elementos metálicos de interesse e baixo custo operacional, podendo ser utilizado em análises de rotina.

Acredita-se que a metodologia apresentada pode vir a ser aplicada para outros tipos de amostras como solos, sais inorgânicos, plantas, etc., bem como para a determinação de outros elementos metálicos, necessitando porém, de um estudo prévio.

10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CROSBY, N.T., Analyst, 1977, 102, 225-268.
2. ANGELUCCI, E., " Análise de minerais em alimentos ", ITAL, Campinas - S.P., 1984, 61.
3. GILBERT, J., " Analysis of food contaminants ", Applied Science Publishers Ltd., Rippleside Commercial Estate Barking Essex, England, section 4, 157.
4. OHLWEILER, O.A., " Fundamentos de análise instrumental " , Livros técnicos e científicos editora S.A., Rio de Janeiro, 1981, capítulo 8, 193 e 205.

- 5 . MEITES, L. and THOMAS, H. C., " Advanced Analytical Chemistry", McGraw-Hill Book Co. Inc., 1958, section 8, 240.
- 6 . DANAHEUE, D.L. and CARTER, J.L., Analytical Chemistry, 1978, 50(4), 686-687.
- 7 . OLSON, K.W., HASS, W.J. and FASSEL, V.A., Analytical Chemistry, 1977, 49(4), 632-637.
- 8 . HART, F.L. and FISHER, H.J., " Modern food analysis ", Springer-Verlag, New York, 1971, 18.
- 9 . SMITH, G.F., " The wet chemical oxidation of organic compositions employing perchloric acid, with or without added HNO_3 , H_5IO_6 , H_2SO_4 ", G. Frederick Smith Chemical Co., OH, USA , 105.
10. Bomba Parr de digestão com ácido, catálogo da Parr Instrument Co., Moline, Illinois, USA, 1985 - Boletim 4745.
11. GILBERT, P.T., Analytical Chemistry, 1962, 34(8), 1025 - 1026.
12. HARRISON, W.W. and JULIANO, P.O., Analytical Chemistry, 1973, 43(2), 248-252.
13. FRY, R.C. and DENTON, M.B., Analytical Chemistry, 1977, 49 (9) , 1413-1417.
14. FRY, R.C. and DENTON, M.B., Applied Spectroscopy, 1979, 33(4) , 393-398.
15. DRESNER, S., Popular Science, 1973 (May), 102-104, 162-164.
16. LITT, M. and SWIFT, D.E., American Review of Respiratory Disease, 1972, 105, 308-310.
17. MOHAMED, N. and FRY, R.C., Analytical Chemistry, 1981, 53(3), 450-455.

ANEXO 1: MÉDIAS

Todos os valores de absorvências obtidos, foram resultantes da média de no máximo 10 leituras e no mínimo 3 leituras, através da expressão 2:

$$\bar{Y} = \frac{\sum Y}{n} \quad (2)$$

onde: $\bar{Y}$ = média das absorvências

$\sum \bar{Y}$ = somatório dos valores de absorvência

n = número de leituras de absorvência

ANEXO 2: ESTIMATIVA DO DESVIO PADRÃO

Foi calculado as estimativas dos desvios padrão (s) de todos os conjuntos de absorbâncias, com o mínimo de 5 leituras, através da expressão 3:

$$s = \sqrt{\frac{\sum (Y - \bar{Y})^2}{n-1}} \quad (3)$$

onde:

- Y = valor individual de absorbância
- $\bar{Y}$ = média dos valores de absorbância
- n - 1 = graus de liberdade

Através da expressão 9 se determina as concentrações dos elementos metálicos nas amostras, por meio das medidas de absorbância:

$$x = \frac{Y - a}{b} \quad (9)$$

ANEXO 6: LIMITE DE DETECÇÃO

Para se calcular o limite de detecção foi utilizada a expressão 12.

$$L.D. = \frac{3 \cdot \sigma}{S} \quad (12)$$

onde: σ = desvio padrão, utilizou-se nesse caso, a estima
tiva do desvio padrão (s)

S = sensibilidade