



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
GRUPO DE PESQUISA EM QUÍMICA ANALÍTICA

LEILANE RODRIGUES SANTOS

**ESTRATÉGIAS ANALÍTICAS PARA AVALIAR A
CONCENTRAÇÃO TOTAL E ESTIMAR A BIOACESSIBILIDADE DE
ELEMENTOS ESSENCIAIS E POTENCIALMENTE TÓXICOS EM
FÉCULA DE MANDIOCA**

Salvador - BA

2020

LEILANE RODRIGUES SANTOS

**ESTRATÉGIAS ANALÍTICAS PARA AVALIAR A
CONCENTRAÇÃO TOTAL E ESTIMAR A BIOACESSIBILIDADE DE
ELEMENTOS ESSENCIAIS E POTENCIALMENTE TÓXICOS EM
FÉCULA DE MANDIOCA**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, da Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Química, com área de concentração em Química Analítica.

Orientadora: Profa. Dra. Maria das Graças Andrade Korn

Coorientadora: Profa. Dra. Daniele Cristina M. B. dos Santos

Salvador - BA

2020

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Universitário de Bibliotecas (SIBI/UFBA),
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Rodrigues Santos, Leilane
ESTRATÉGIAS ANALÍTICAS PARA AVALIAR A CONCENTRAÇÃO
TOTAL E ESTIMAR A BIOACESSIBILIDADE DE ELEMENTOS
ESSENCIAIS E POTENCIALMENTE TÓXICOS EM FÉCULA DE
MANDIOCA / Leilane Rodrigues Santos, Leilane Santos. -
- Salvador, 2020.
108 f.

Orientadora: Maria das Graças Andrade Korn.
Coorientadora: Daniele Cristina M. B. dos Santos.
Dissertação (Mestrado - Química) -- Universidade
Federal da Bahia, Instituto de Química, 2020.

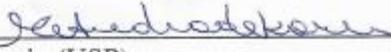
1. Fécula de mandioca. 2. Elementos essenciais e
potencialmente tóxicos. 3. Interferências. 4.
Bioacessibilidade in vitro. 5. ICP OES e ICP-MS. II.
Santos, Leilane. I. Andrade Korn, Maria das Graças.
II. M. B. dos Santos, Daniele Cristina. III. Título.

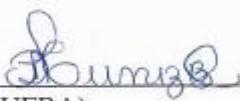
TERMO DE APROVAÇÃO

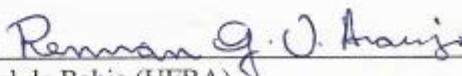
LEILANE RODRIGUES SANTOS

“ESTRATÉGIAS ANALÍTICAS PARA AVALIAR A CONCENTRAÇÃO TOTAL E
ESTIMAR A BIOACESSIBILIDADE DE ELEMENTOS ESSENCIAIS E
POTENCIALMENTE TÓXICOS EM FÉCULA DE MANDIOCA”

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

Prof.ª Dr.ª Maria das Graças Andrade Korn 
Doutorado em Química, Universidade de São Paulo (USP)
Universidade Federal da Bahia

Prof.ª Dr.ª Daniele Cristina Muniz Batista dos Santos 
Doutorado em Química, Universidade Federal da Bahia (UFBA)
Universidade Federal da Bahia

Prof. Dr. Rennan Geovanny Oliveira Araújo 
Doutorado em Química, Universidade Federal da Bahia (UFBA)
Universidade Federal da Bahia

Salvador, 08 de janeiro de 2020.

**Dedico este trabalho aos meus queridos pais, em especial, à minha mãe
por ser a minha maior inspiração.**

**“Todas as vitórias ocultam uma abdicação.”
(Simone de Beauvoir)**

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, a Deus pelo dom da vida e por permitir a finalização de mais um ciclo;

Aos meus pais, Humberto e Nilza, pelo investimento de amor, carinho, dedicação e educação ao longo da minha vida;

A todos os meus irmãos Helena, Adson, Cecel, Aline, Neide, Geidson e Paulinho por todos os momentos dessa caminhada chamada vida;

Aos meus sobrinhos Juli, Laura, Kaique, Laila, Andressa, Duda e, ao meu afilhado Gui;

À prof^a Dr^a Maria das Graças A. Korn, pela oportunidade, confiança, orientação e preocupação;

À prof^a Dr^a Daniele Cristina Muniz pela confiança, acolhimento, orientação e incentivos;

Ao professor Rennan Geovanny por ser tão prestativo e pelas valiosas contribuições;

Aos irmãos científicos do GPQA: Filipe, Renata, Leila, Allana, Rosana, Leandro, Elis, Henrique e Laís tanto pelos momentos de apoio científico quanto pelos momentos de distração;

Às pessoas que contribuíram com esse trabalho de alguma forma: Wellington, professor Rennan, Sr. Pereira, Aldo, Cheilane, Hilária, Clara, Joelem, Thaís, Isa e Vanessa Medina;

Aos ex-integrantes do GPQA por todo apoio e conhecimento no período da graduação, em especial à Isa Santos Barbosa por ser tão prestativa;

A Tiago pela paciência, carinho, companheirismo, momentos de distração e incentivo;

Às minhas amigas queridas: Cíntia, Vanessa, Adriana, Aline, Lidiane, Laiane, Jéssica, Manu e Leila, pela parceria, momentos de descontração, carinho e incentivo;

Aos grupos de pesquisa parceiros IDEIA, GRPQQ e GPEQA² pelos empréstimos de equipamentos e/ou reagentes;

A todos os professores do Instituto de Química da UFBA pela contribuição na minha formação;

Ao Programa de Pós-Graduação em Química da UFBA;

Aos funcionários do Instituto de Química da UFBA;

Ao Grupo LePetro, do Instituto de Geociências, pela parceria e disponibilidade do equipamento, que viabilizou o desenvolvimento deste trabalho.

Aos órgãos de fomento: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Petróleo Brasileiro S/A (PETROBRÁS) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo propor estratégias analíticas para avaliar a concentração total e estimar a fração bioacessível de elementos essenciais e não essenciais em amostras de derivados de mandioca (*Manihot esculenta Crantz*) empregando bloco digestor em sistema fechado e técnicas baseadas em plasma indutivamente acoplado, sendo executado em três etapas. Na primeira etapa, foi empregado um planejamento fatorial 2^4 para estabelecer uma condição adequada de decomposição das amostras, visando determinação de Ba, Ca, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P, Pb, Sr e Zn por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES). Foram avaliados os fatores concentração de HNO_3 , tempo, temperatura e volume de H_2O_2 , empregando o teor de carbono orgânico dissolvido (DOC) como resposta, sendo definidas as seguintes condições, respectivamente: $7,0 \text{ mol L}^{-1}$, 45 min e 180°C , sem uso de H_2O_2 . O método foi preciso ($\leq 5\%$), com limites de quantificação (LOQ) que variaram, em $\mu\text{g g}^{-1}$, de 0,005 para Sr e 11 para Ca. Na etapa 2, foram otimizados parâmetros instrumentais, visando minimizar interferências espectrais e determinar As, Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Pb, Se e V em amostras de fécula por espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS). A exatidão dos métodos por ICP OES e ICP-MS foi avaliada com ensaios de teste de adição e recuperação em três níveis de concentração, além da análise de SRM 1567a (farinha de trigo, NIST). As faixas de concentração, em $\mu\text{g g}^{-1}$, para os analitos nas amostras de derivados de mandioca por ICP OES foram: Ba ($<0,32 - 0,60$), Ca ($<11 - 542$), Fe ($<0,39 - 111$), K (156 - 7362), Mg (9,8 - 533), Na ($<3,1 - 98$), P (58 - 1774) e Sr ($<0,005 - 3,85$). Por ICP-MS, as faixas de concentração obtidas, em ng g^{-1} foram: As ($<12 - 158$), Cd ($<9 - 47$), Co ($<17 - 295$), Cu ($<90 - 1159$), Mn (70 - 2523), Pb ($<14 - 521$), Se ($<16 - 215$), V ($<6 - 106$) e Zn ($<3208 - 7277$). A etapa 3 teve como objetivo estimar o teor bioacessível de Cu, Fe, Mg e Mn em amostras de derivados de mandioca por ICP OES. Os teores bioacessíveis, em $\mu\text{g g}^{-1}$, variaram de < 109 e 385 ± 42 para Mg e $0,59 \pm 0,001$ e $1,44 \pm 0,13$ para Mn. Para Cu e Fe, os teores bioacessíveis estavam abaixo do LOQ. O método foi validado com o emprego de um balanço de massa, sendo encontrados os seguintes valores: $95 \pm 8\%$ para Mg e $110 \pm 1\%$ para Mn. Com base na ingestão diária recomendada para adultos, o consumo de 100 g de derivado de mandioca fornece 1,0 - 2,8% da ingestão diária de Ca, 3,8 - 2,9% para Cu, 1,2 - 12,4% para Fe, 0,4 - 17,8% para Mg 0,8 - 11,0% para Mn, 1,6 - 18,0% para P, 52,7 - 53,7% para Se e 7,0 - 9,1% para Zn. Este trabalho tem uma contribuição significativa, seja pela proposta de um método simples e de baixo custo para avaliação da composição elementar da fécula de mandioca, trazendo novas informações nutricionais e de interesse para a saúde pública.

Palavras-chave: Fécula de mandioca, Elementos essenciais e potencialmente tóxicos, Interferências, Bioacessibilidade *in vitro*, ICP OES e ICP-MS.

ABSTRACT

This work aimed to propose analytical strategies to assess the total concentration and estimate the bioaccessible fraction of essential and non-essential elements in samples of cassava derivatives (*Manihot esculenta* Crantz) using a closed system digester block and techniques based on inductively coupled plasma, being run in three steps. In the first stage, a factorial design 2^4 was used to establish an adequate condition for the decomposition of the samples, aiming at determining Ba, Ca, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P, Pb, Sr and Zn by optical emission spectrometry with inductively coupled plasma (ICP OES). The factors HNO_3 concentration, time, temperature and volume of H_2O_2 were evaluated, using the dissolved organic carbon (DOC) content as a response, with the following conditions being defined, respectively: 7.0 mol L^{-1} , 45 min and 180° C , without using H_2O_2 . The method was precise ($\leq 5\%$), with limits of quantification (LOQ) that varied, in $\mu\text{g g}^{-1}$, from 0.005 for Sr and 11 for Ca. In step 2, instrumental parameters were optimized, in order to minimize spectral interferences and determine As, Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Pb, Se and V in starch samples by mass spectrometry by inductively coupled plasma (ICP-MS). The accuracy of the methods by ICP OES and ICP-MS was evaluated with tests of addition and recovery tests in three levels of concentration, in addition to the analysis of SRM 1567a (wheat flour, NIST). The concentration ranges, in $\mu\text{g g}^{-1}$, for the analytes in the samples of cassava derivatives by ICP OES were: Ba ($<0.32 - 0.60$), Ca ($<11 - 542$), Fe ($<0, 39 - 111$), K ($156 - 7362$), Mg ($9.8 - 533$), Na ($<3.1 - 98$), P ($58 - 1774$) and Sr ($<0.005 - 3.85$). By ICP-MS, the concentration ranges obtained in ng g^{-1} were: As ($<12 - 158$), Cd ($<9 - 47$), Co ($<17 - 295$), Cu ($<90 - 1159$), Mn ($70 - 2523$), Pb ($<14 - 521$), Se ($<16 - 215$), V ($<6 - 106$) and Zn ($<3208 - 7277$). Step 3 aimed to estimate the bioaccessible content of Cu, Fe, Mg and Mn in samples of cassava derivatives by ICP OES. The bioaccessible contents, in $\mu\text{g g}^{-1}$, varied from <109 and 385 ± 42 for Mg and 0.59 ± 0.001 and 1.44 ± 0.13 for Mn. For Cu and Fe, the bioaccessible levels were below the LOQ. The method was validated using a mass balance, with the following values being found: $95 \pm 8\%$ for Mg and $110 \pm 1\%$ for Mn. Based on the recommended daily intake for adults, consumption of 100 g of cassava derivative provides 1.0 - 2.8% of the daily intake of Ca, 3.8 - 2.9% for Cu, 1.2 - 12.4% for Fe, 0.4 - 17.8% for Mg 0.8 - 11.0% for Mn, 1.6 - 18.0% for P, 52.7 - 53.7% for Se and 7.0 - 9.1% for Zn. This work has a significant contribution, whether by proposing a simple and low-cost method for evaluating the elemental composition of cassava starch, bringing new nutritional information and of interest to public health.

Keywords: Cassava starch, Essential and potentially toxic elements, Interferences, Bioaccessibility in vitro, ICP OES and ICP-MS.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Maiores produtores de mandioca no mundo.....	18
Figura 2 - Principais produtores de mandioca no Brasil.....	18
Figura 3 - Aproveitamento das partes da mandioca.....	20
Figura 4 - Etapas de produção de alguns derivados de mandioca.....	22
Figura 5 - Estrutura molecular da amilose e sua distribuição espacial.....	25
Figura 6 - Estrutura molecular da amilopectina e sua distribuição espacial.....	25
Figura 7 -Esquema de blocos dos componentes básicos utilizados em equipamentos baseados em ICP OES e ICP-MS.....	33
Figura 8 - Processos que ocorrem no plasma indutivamente acoplado.....	34
Figura 9 - Processo de extração da fécula de mandioca no laboratório.....	41
Figura 10 - Gráfico de Pareto do planejamento fatorial 2^4 para os fatores de digestão das amostras de derivados de mandioca.....	47
Figura 11 - Gráfico de correlação entre os valores preditos versus valores observados.....	49
Figura 12 - Etapas do preparo da amostra.....	50
Figura 13 - Representação das curvas de calibração de Ca e Fe no meio do solvente e no meio da amostra.....	53
Figura 14 - Resultado de SRM de farinha de trigo 1567a no modo normal e CCT ...	71
Figura 15 - Resultados comparativos de percentuais de recuperação em três níveis de concentração empregando o modo CCT.....	76
Figura 16 - Resultados comparativos de percentuais de recuperação em três níveis de concentração empregando o modo normal.....	76
Figura 17 - Representação esquemática do preparo de amostra, considerando as etapas 1 e 3.....	90

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição de Mandioca e Fécula de Mandioca em 100 g de amostra..	23
Tabela 2 - Resumo de funções biológicas de alguns elementos químicos.	28
Tabela 3 - Amostras de derivados de mandioca codificadas e seus respectivos locais de origem.	39
Tabela 4 - Variação de níveis para os fatores avaliados no planejamento fatorial de dois níveis da otimização da etapa de decomposição de amostras.....	43
Tabela 5 - Condições operacionais de medida do ICP OES.....	44
Tabela 6 - Linhas espectrais dos elementos estudados, sendo destacadas as linhas selecionadas.	45
Tabela 7 - Matriz de planejamento fatorial 2^4 , aplicada á decomposição ácida de amostras de derivados de mandioca.....	46
Tabela 8 - Resultado da Análise de variância (ANOVA) para o planejamento fatorial 2^4	48
Tabela 9 - Coeficientes angulares obtidos a partir das curvas analíticas em meio ácido (a_1) e em meio da amostra (a_2) e seus respectivos logaritmos decimais.....	52
Tabela 10 - Valores calculados para BEC, LOD e LOQ, visando determinação dos analitos por ICP OES, após decomposição em bloco digestor fechado ($n=10$) e comparação com outros estudos.....	54
Tabela 11 - Equação da reta e coeficiente de determinação para os elementos determinados por ICP OES, nas amostras digeridas.....	56
Tabela 12 - Comparação entre os valores certificados e observados para SRM 1567a, farinha de trigo.	57
Tabela 13 - Valores de percentuais para teste de adição e recuperação em 3 níveis de concentração para macro e microelementos empregando determinação por ICP OES.....	58
Tabela 14 - Concentração, em $\mu\text{g g}^{-1}$, para amostras secas de fécula e mandioca. Determinação por ICP OES (média \pm desvio padrão, $n=3$).....	60
Tabela 15 - Comparação entre as concentrações médias ($\mu\text{g g}^{-1}$) deste trabalho com estudos de amostras similares.	62

Tabela 16 - Condições operacionais de medida do ICP – MS no modo normal.	67
Tabela 17 - Condições operacionais de medida do ICP-MS no modo CCT.....	68
Tabela 18 - Isótopos estudados, suas abundâncias naturais e interferências.	70
Tabela 19 - Resultados da análise de SRM de farinha de trigo 1567a.	71
Tabela 20 - Teste de adição e recuperação em 3 níveis de concentração	73
Tabela 21 - Seleção de isótopos e modo de análise para determinação em ICP-MS...	77
Tabela 22 - Limites de detecção e de quantificação estimados para a determinação dos analitos por ICP-MS, após decomposição em bloco digestor em sistema fechado (n=10).....	78
Tabela 23 - Equação da reta e coeficiente de determinação para cada elemento determinado por ICP-MS.....	79
Tabela 24- Concentração, em ng g^{-1} , para amostras secas de fécula e mandioca. Resultados por ICP-MS, média \pm desvio padrão (n=3).	80
Tabela 25 - Resumo estatístico das concentrações, em ng g^{-1} , obtidas em 16 amostras de derivados de mandioca.....	82
Tabela 26 - Contribuição nutricionais dos derivados de mandioca para a ingestão diária recomendada, considerando 100 g de alimento.....	83
Tabela 27 - Resultado das concentrações dos analitos, em $\mu\text{g g}^{-1}$, e de balanço de massa (BM) (%) para as amostras de massa e fécula de mandioca obtidas in situ. Determinação ICP OES e ICP-MS (média \pm desvio padrão, n=3).	84
Tabela 28 - Composição das fluídos sintéticos de saliva, sucos gástrico, duodenal e biliar empregados na bioacessibilidade de amostras de fécula e massa de mandioca (Versantvoort,2005).....	88
Tabela 29 - Limites de detecção e de quantificação para a determinação dos analitos após extração bioacessível (n=10).....	91
Tabela 30 - Equação da reta e coeficiente de determinação para cada elemento determinado por ICP-MS.....	92
Tabela 31 - Teores totais (TT), teores bioacessíveis (TB), teores residuais (TR) em $\mu\text{g g}^{-1}$, fração bioacessível (FB) e balanço de massa (BM), em percentagem, para os elementos Mg e Mn.....	94

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

BSA	do inglês: <i>Bovine serum albumin</i> . Albumina sérica bovina
CCT	do inglês: <i>Collision Cell Technology</i> . Tecnologia de Célula de Colisão
DOC	do inglês: <i>Dissolved Organic Carbon</i> . Carbono Orgânico Dissolvido
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
F AAS	do inglês: <i>Flame atomic absorption spectrometry</i> . Espectrometria de absorção atômica com chama
FA	Fécula artesanal
FAO	do inglês: <i>Food and Agriculture Organization</i> . Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura
FI	Fécula industrializada
GF AAS	do inglês: <i>Graphite furnace atomic absorption spectrometry</i> . Espectrometria de absorção atômica com forno de grafite
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ICP OES	do inglês: <i>Inductively coupled plasma optical emission spectrometry</i> . Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado
ICP-MS	do inglês: <i>Inductively coupled plasma mass spectrometry</i> . Espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado
IDR	Ingestão Diária Recomendada
IUPAC	do inglês: <i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i> . União Internacional de Química Pura e Aplicada
LIBS	do inglês: <i>Laser induced-breakdown spectroscopy</i> . Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Induzido por Laser
LOD	do inglês: <i>Limit of detection</i> . Limite de detecção
LOQ	do inglês: <i>Limit of quantification</i> . Limite de quantificação
m / z	massa – carga
MA	Mandioca artesanal
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MI	Mandioca Industrializada
NIST	do inglês: <i>National Institute of Standards and Technology</i> . Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia

pH	Potencial Hidrogeniônico
PTFE	Politetrafluoroetileno
RDC	República Democrática do Congo
RF	Radiofrequência
SBR	do inglês: <i>signal-to-background ratio</i> . razão sinal analítico/sinal de fundo
SEBRAE	Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas
SENAR	Serviço Nacional de Aprendizagem Rural
SIA	Sistema de Introdução de Amostra
SRM	do inglês: <i>Standard Reference Material</i> . Material de referência Padrão
TBCA	Tabela Brasileira de Composição de Alimentos

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. OBJETIVOS	16
2.1 Geral.....	16
2.2 Específicos	16
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	17
3.1 Mandioca e seus derivados: breve histórico e relevância econômica	17
3.2 Fécula de mandioca	22
3.3 Composição química da fécula e massa de mandioca	23
3.4 Propriedades tecnológicas da fécula (amido).....	26
3.5 Minerais essenciais e não essenciais.....	27
3.6 Métodos para determinação de elementos essenciais e potencialmente tóxicos em alimentos.....	29
3.7 Planejamento Fatorial de dois níveis	31
3.8 Características das técnicas de ICP OES e ICP-MS	33
3.9 Bioacessibilidade de minerais	35
4. DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO DE DECOMPOSIÇÃO PARA AMOSTRAS DE DERIVADO DE MANDIOCA EM BLOCO DIGESTOR EM SISTEMA FECHADO E QUANTIFICAÇÃO POR ICP OES	38
4.1 EXPERIMENTAL.....	38
4.1.1 Instrumentação e equipamentos	38
4.1.2 Amostras de fécula e massa de mandioca	38
4.1.3 Reagentes, materiais utilizados e soluções.....	40
4.1.4 Pré-tratamento das amostras	40
4.1.5 Preparo de fécula e massa de mandioca em laboratório.....	41
4.1.6 Otimização multivariada da etapa de decomposição de amostra.....	42
4.1.7 Determinação da concentração ácida e de carbono orgânico dissolvido das amostras digeridas	43
4.1.8 Determinação da umidade.....	43

4.1.9 Determinação dos analitos	44
4.2 APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	45
4.2.1 Aplicação do planejamento experimental para otimização das condições de preparo de amostra	45
4.2.2 Resultados de concentração ácida final das amostras digeridas	50
4.2.3 Avaliação da umidade nas amostras de produtos de mandioca.....	50
4.2.4 Validação do método analítico proposto	51
4.2.4.1 Avaliação do efeito de matriz.....	51
4.2.4.2 Limites de detecção e de quantificação	53
4.2.4.3 Faixa linear de trabalho	55
4.2.4.4 Precisão.....	56
4.2.4.5 Avaliação da exatidão do método proposto.....	57
4.2.5 Resultados de concentração dos analitos nas amostras de derivados de mandioca.....	59
4.2.6 Comparação de resultados para as amostras de fécula e mandioca obtidas com outros trabalhos da literatura	61
4.3 CONSIDERAÇÕES PARCIAIS	64
5. DETERMINAÇÃO DE As, Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Pb, Se, V e Zn EM FÉCULA DE MANDIOCA EMPREGANDO ICP-MS.....	66
5.1 EXPERIMENTAL.....	66
5.1.1 Reagentes, materiais utilizados, soluções e amostras	66
5.1.2 Instrumentação	67
5.1.3 Investigação de interferências empregando os modos de análise padrão e CCT.....	69
5.2 APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS.....	69
5.2.1 Estudo das condições experimentais para seleção dos isótopos e modo de análise.....	69
5.2.2 Validação do método proposto	77
5.2.2.1 Resultados de limites de detecção e quantificação	77

5.2.2.2 Faixa linear de trabalho	78
5.2.2.3 Precisão.....	79
5.3 Determinação dos elementos por ICP-MS	80
5.4 Comparação com os valores de ingestão diária recomendada	82
5.5 Balanço de massa para as amostras produzidas em laboratório (<i>in situ</i>).....	84
5.6 CONSIDERAÇÕES PARCIAIS	85
6. ESTIMATIVA DA BIOACESSIBILIDADE <i>IN VITRO</i> DE ELEMENTOS Cu, Fe, Mg e Mn, EM AMOSTRAS DE FÉCULA E MASSA DE MANDIOCA.....	86
6.1 EXPERIMENTAL.....	86
6.1.2 Reagentes, soluções e amostra	86
6.1.3 Procedimento de bioacessibilidade <i>in vitro</i> em amostras de fécula de mandioca.....	89
6.2 APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS.....	91
6.2.1 Validação do método analítico.....	91
6.2.2 Limites de detecção e quantificação.....	91
6.2.3 Faixa linear de trabalho	92
6.2.4 Precisão.....	93
6.3 Determinação dos teores bioacessíveis de Mg e Mn	93
6.4 CONSIDERAÇÕES PARCIAIS	94
7. CONCLUSÕES	95
8. REFERÊNCIAS	97

1. INTRODUÇÃO

A mandioca (*Manihot esculenta Crantz*) é uma espécie vegetal de relevância social e econômica, principalmente em países como Nigéria, Tailândia e Brasil. Segundo a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura, a mandioca representa uma alternativa para minimizar a pobreza rural, devido seu alto teor energético e sua facilidade de cultivo em solos diversos (FAO, 2014).

O aproveitamento das partes da planta ressalta o seu potencial econômico. As partes aéreas (folhas e hastes) são majoritariamente empregadas no consumo animal, mas, no Brasil, podem também ser utilizadas para o consumo humano na culinária regional (JÚNIOR; ALVES, 2014). A maior relevância econômica dessa planta é creditada na parte subterrânea (raiz), a qual pode ser consumida *in natura* ou transformada nos seus subprodutos mais importantes: farinha e fécula (FELIPE; ALVES; VIEIRA, 2013).

A obtenção desses subprodutos ocorre de forma similar, a produção da farinha envolve as etapas de trituração, prensagem e secagem. No caso da fécula, após o processo de prensagem, há a separação do resíduo fibroso da mandioca com um líquido conhecido como manipueira, de onde a fécula é decantada. No entanto, os processos de fabricação desses produtos não são padronizados, podendo ser uma fonte potencial de contaminação (FIALHO; VIEIRA, 2013a).

A fécula de mandioca possui cerca de 80% de amido em sua composição. Justamente é essa característica que a torna tão importante, principalmente do ponto de vista industrial. O amido é largamente empregado como aditivo industrial, destacando-se em indústria de alimentos, atuando no controle de diversas características como textura, viscosidade, estabilidade, umidade, dentre outras. Entretanto, a funcionalidade do amido *in natura* possui limitações no que se refere às variações dos processos industriais. Desta maneira, comumente, são realizados estudos com a finalidade de modificar os grânulos de amido, a fim de tornar esse aditivo mais robusto. Na literatura, são relatados vários processos de modificação do amido (fécula) de mandioca (ZHU, 2015; WANG *et al.*, 2018; PALAVECINO; PENCI; RIBOTTA, 2019).

Devido à crescente demanda por alimentos livres de glúten, foram desenvolvidos diversos estudos para avaliar a substituição de farinha de trigo por farinhas alternativas, na fabricação de produtos de panificação (FIORDA *et al.*, 2013a; VIEIRA *et al.*, 2015; SILVA, 2016). Dessa forma, a fécula de mandioca pode ser uma alternativa para celíacos, visto que a mesma não possui glúten em sua constituição. Sendo assim, considerando que alimentos como os derivados de mandioca são uma fonte óbvia de elementos químicos, o monitoramento de elementos essenciais e não essenciais que podem estar presentes em alimentos é de fundamental importância.

Os elementos essenciais desempenham um papel fundamental no metabolismo de seres vivos, podendo seu excesso ou deficiência trazer prejuízos ao organismo. Em contrapartida, os elementos não essenciais não possuem nenhuma função biológica conhecida e, em pequenas quantidades podem ser responsáveis por toxicidade para a saúde humana (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

Em termos nutricionais, tão importante quanto determinar a quantidade total desses elementos, é estimar o teor bioacessível, ou seja, a quantidade dessas espécies que podem ser absorvidas pelo organismo. Com essa perspectiva, a otimização de métodos analíticos confiáveis para quantificar o teor total e bioacessível de elementos em amostras de alimentos é fundamental.

Este trabalho foi dividido em três etapas, a saber:

- i. Desenvolvimento e validação de método analítico para decomposição ácida de derivados de mandioca em bloco digestor em sistema fechado e quantificação por ICP OES;
- ii. Determinação de As, Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Pb, Se, V e Zn em fécula de mandioca empregando ICP-MS;
- iii. Estimativa da bioacessibilidade *in vitro* de elementos Cu, Fe, Mg e Mn, em amostras de fécula e massa de mandioca.

Esta dissertação foi estruturada em capítulos, os quais apresentam a parte experimental, apresentação e discussão dos resultados e considerações parciais das etapas realizadas ao longo deste trabalho.

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

Propor estratégias analíticas para avaliação da concentração total e estimativa da fração bioacessível de elementos essenciais e não essenciais em amostras derivados de mandioca empregando bloco digestor fechado e técnicas baseadas em plasma indutivamente acoplado.

2.2 Específicos

- ✓ Realizar um planejamento fatorial 2^4 para estabelecer uma condição conveniente de decomposição ácida de amostras de fécula de mandioca, empregando aquecimento condutivo em bloco digestor em sistema fechado;
- ✓ Realizar a extração artesanal de fécula de mandioca para investigação da composição mineral de amostras de derivados geradas ao longo do processo de extração;
- ✓ Validar e aplicar método analítico proposto para determinar os elementos Ba, Ca, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P, Pb, Sr e Zn em amostras de fécula de mandioca por ICP OES;
- ✓ Estabelecer condições operacionais de um espectrômetro de massas com plasma indutivamente acoplado a fim de minimizar possíveis interferentes espectrais na determinação de As, Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Pb, Se, V e Zn;
- ✓ Estimar a fração bioacessível de elementos Cu, Fe, Mg, e Mn em amostras de fécula de mandioca por ICP OES;
- ✓ Comparar os resultados de concentração dos analitos com a ingestão diária recomendada (IDR).

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

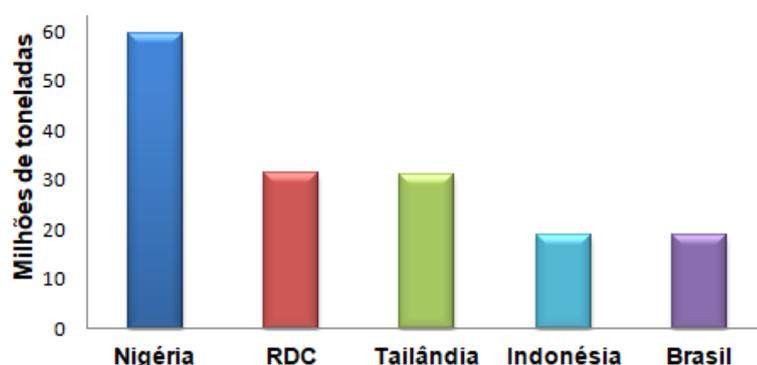
3.1 Mandioca e seus derivados: breve histórico e relevância econômica

A mandioca é uma espécie vegetal versátil, de raízes tuberosas, que faz parte da família *Euphorbiaceae*, gênero *Manihot*. Existem diversas espécies dessa planta, entretanto, apenas as espécies *M. esculenta* Crantz (mandioca) e *M. glaziovii* Müll. Arg. (produção de látex) possuem relevância econômica (MORALES, 2015). A espécie *M. esculenta* Crantz estudada neste trabalho, também é popularmente conhecida no Brasil como aipim e macaxeira e pode ser classificada de acordo com o teor de glicosídeo cianogênico presente em sua composição. A mandioca mansa, que é utilizada para consumo *in natura* e a mandioca brava, empregada principalmente na produção industrial, possuem teores de glicosídeo cianogênico em torno de 10 mg kg⁻¹ e acima de 20 mg kg⁻¹, respectivamente (ORLANDINI; LIMA, 2014).

Acredita-se que a América do Sul, especificamente o Brasil, tenha sido o local de origem dessa planta (JÚNIOR; ALVES, 2016). O cultivo de mandioca foi empregado bem antes do início do período colonial, sendo os indígenas que aqui viviam os primeiros a consumir esse alimento e seus derivados. Atualmente, a mandioca, segundo a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO), é uma das principais plantas que pode representar uma esperança para amenizar a fome e a pobreza em países em desenvolvimento, por apresentar as seguintes vantagens: servir como uma alternativa de fonte de carboidrato, apresentar uma tolerância às condições adversas de clima e solo, além do que, suas raízes podem ser conservadas no solo antes do período de colheita (FAO, 2014).

Segundo a FAO, os principais produtores de mandioca no mundo são a Nigéria, República Democrática do Congo (RDC) e a Tailândia. O Brasil ocupa a quarta posição conforme apresenta a Figura 1.

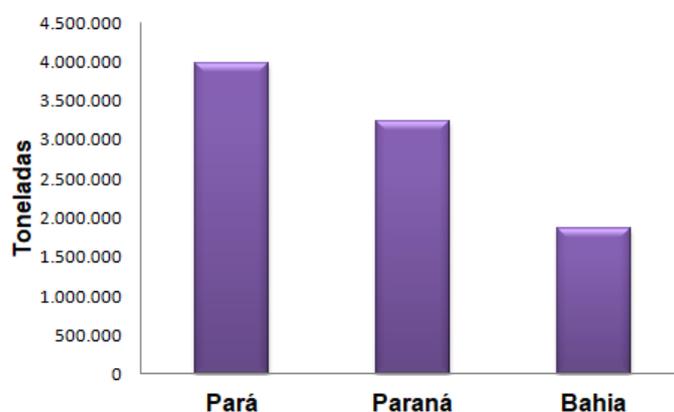
Figura 1- Maiores produtores de mandioca no mundo.



Fonte: Adaptado de FAO (2017).

A Figura 2 apresenta os maiores produtores de mandioca e fécula no Brasil. No cenário nacional, o estado do Pará lidera a produção de mandioca, seguido dos estados do Paraná e Bahia. Entretanto, segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), as maiores produções de fécula estão concentradas na região sul e sudeste, sendo destacados os estados do Paraná e São Paulo, o que pode ser justificado pelo fato dos produtos oriundos da mandioca ter tratamentos distintos conforme região (IBGE, 2019). Enquanto no Centro-Sul há o beneficiamento, nas regiões norte e nordeste, a produção da mandioca é, majoritariamente, destinada ao consumo *in natura* ou transformada em farinha de mesa, produtos de pouco valor agregado (AMORIM *et al.*, 2018).

Figura 2 - Principais produtores de mandioca no Brasil.

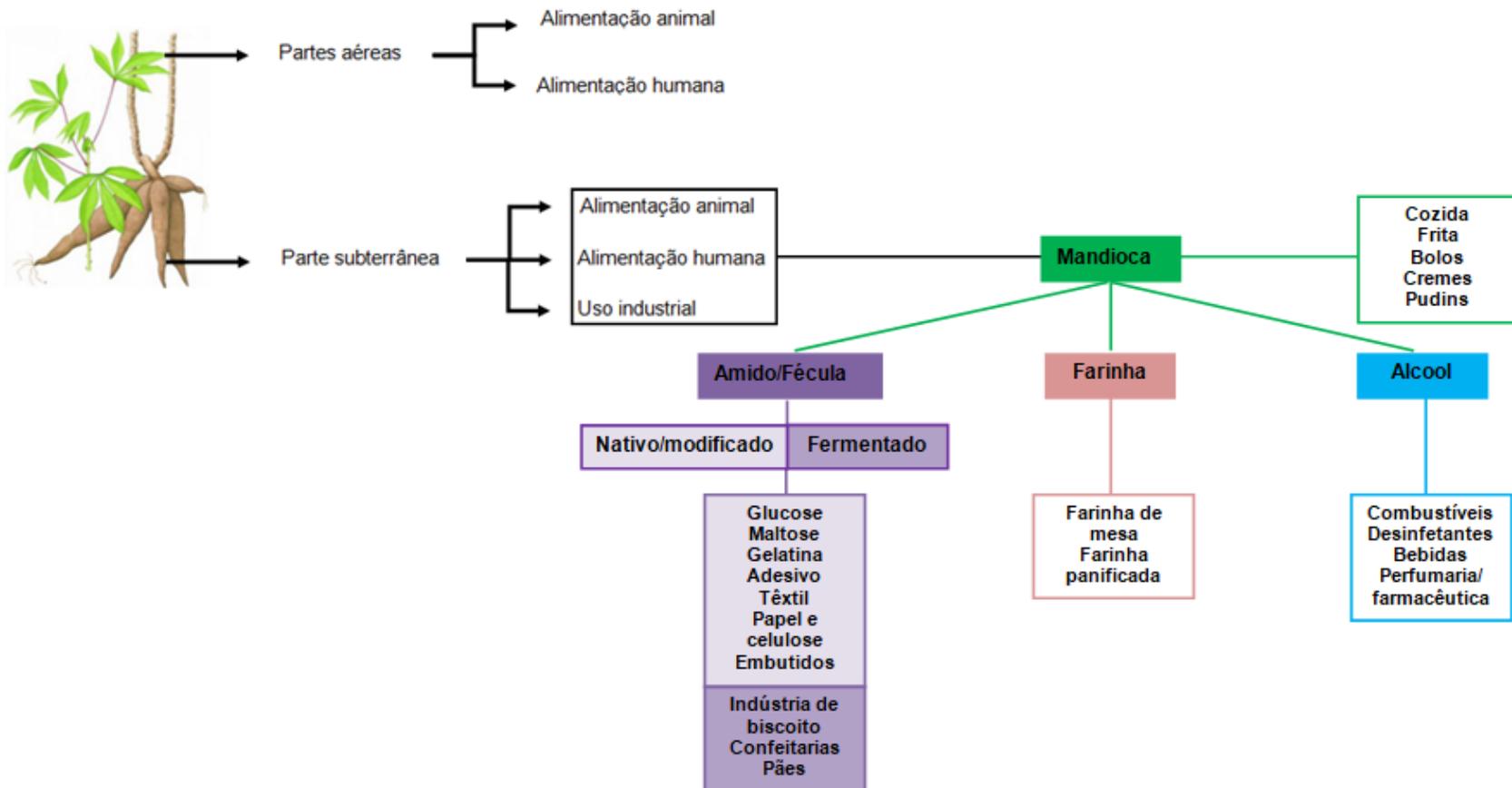


Fonte: Adaptado de IBGE (2019)

No Brasil, a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), vinculada ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), atua em pesquisa, desenvolvimento e inovação no setor agropecuário, além de proporcionar um intercâmbio de conhecimento e uma difusão de tecnologia aos produtores rurais, ao longo do território nacional. Na Bahia, no município de Cruz das Almas, existe a unidade denominada Embrapa Mandioca e Fruticultura, a qual é responsável pelo desenvolvimento, inovação e sustentabilidade da cadeia produtiva da mandioca e de algumas fruteiras tropicais. No âmbito internacional, a EMBRAPA tanto atua intercambiando conhecimentos com algumas instituições internacionais, quanto realiza capacitação e transferência de tecnologia em países em desenvolvimento (EMBRAPA, 2018).

A mandioca é uma planta bastante versátil, podendo ser aproveitada integralmente, tanto as partes aéreas quanto a subterrânea, como ilustrado na Figura 3 (FIALHO; VIEIRA, 2013). A parte aérea é empregada majoritariamente na alimentação animal, mas, em alguns locais do Brasil, também é aplicada na culinária, como por exemplo, na produção de maniçoba, uma iguaria consumida nas regiões norte e nordeste do país. Há relatos na literatura que as folhas de mandioca possuem flavonoides em sua composição, os quais possuem propriedades antioxidantes. (KUBO; SHIMIZU; NIHEI, 2012).

Figura 3 - Aproveitamento das partes da mandioca.



Fonte: FIALHO; VIEIRA (2013a)

Várias são as aplicações da parte subterrânea da mandioca (raiz). Dentre os seus derivados, a farinha e a fécula possuem uma grande relevância econômica, principalmente pelo elevado teor de carboidrato em sua composição (FIORDA *et al.*, 2013b). No Brasil, a produção da farinha de mandioca é, essencialmente, para atender o consumo interno. O processo de fabricação de farinha e fécula de mandioca é feito tanto pela agricultura familiar quanto por unidades empresariais. Em algumas regiões tanto a farinha quanto a fécula são produzidas em locais conhecidos como “casas de farinha” (BRANDÃO, 2007; SEBRAE, 2008; SENAR, 2018).

Devido às buscas por fontes de energia renováveis, outro subproduto da mandioca que tem sido objeto de estudo é o etanol (LI; ZHU, 2011). Dentre as opções de fontes renováveis, a biomassa é uma alternativa viável. Assim sendo, existem diversos trabalhos que relatam o processo de fabricação do etanol a partir de resíduos oriundos da fabricação de derivados de mandioca após a extração da fécula (SORAPIPATANA; YOOSIN, 2011; BEHERA; RAY, 2015; LOMTHONG; LERTWATTANASAKUL; KITPREECHAVANICH, 2016; MARTINEZ *et al.*, 2018) e ainda da própria fécula e de partes da planta como a folha (AZMI *et al.*, 2016).

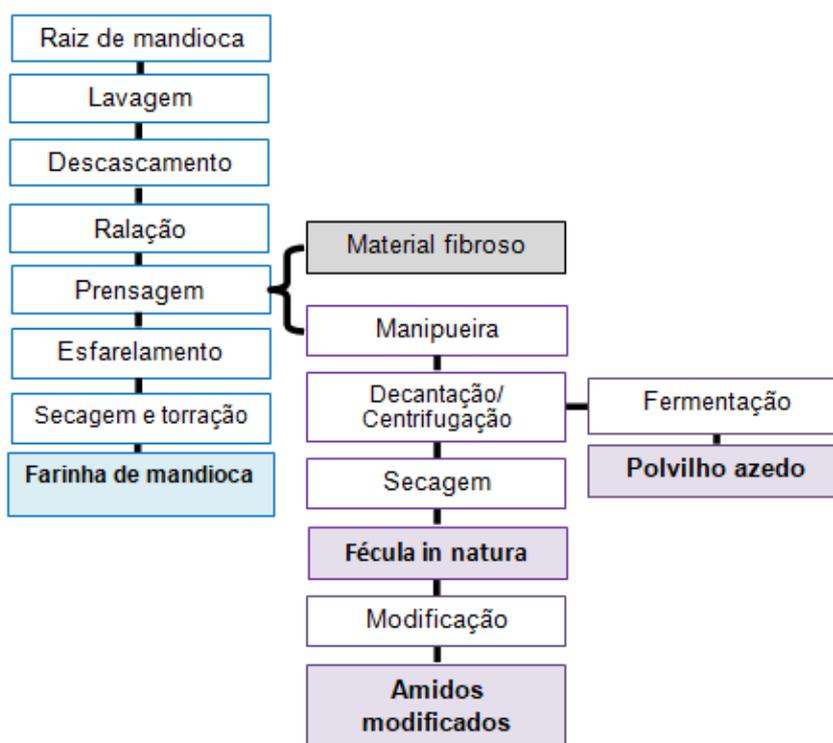
Qualquer que seja o grau de tecnologia empregada no processamento da mandioca para obtenção dos seus principais derivados (farinha e fécula), geralmente, envolve etapas similares tanto na fabricação industrial quanto na produção artesanal (JÚNIOR; ALVES, 2016).

As etapas de lavagem da mandioca, descascamento, ralação/trituração, são comuns na produção de farinha e fécula. Quando o objetivo é produzir a farinha de mandioca, a massa ralada, após ser esfarelada, passa pelas etapas de secagem e torração. Na produção da fécula, há a separação das fibras do material solúvel, e este líquido é conhecido como manipueira. O material fibroso é lavado com água e peneirado, ocorrendo a separação do resíduo sólido, o bagaço (SENAR, 2018).

A parte líquida deverá ser decantada ou centrifugada para obtenção da fécula. Se o propósito for obter a fécula *in natura*, também conhecida como polvilho doce, uma etapa de secagem deve ocorrer imediatamente após decantação/centrifugação da fécula (DEMIATE; KOTOVICZ, 2011). Caso a finalidade seja produzir o polvilho azedo, uma etapa de fermentação da fécula deve

ser realizada (TORRES-LOZADA; MARMOLEJO-REBELLÓN; CAJIGAS-CERÓN, 2014). Frequentemente, o amido *in natura* é transformado em amido modificado, em que são realizadas modificações químicas, físicas e enzimáticas na sua estrutura, permitindo ampliar suas funcionalidades e atender diversos ramos industriais (ZHU, 2015). A Figura 4 apresenta as principais etapas do processo de fabricação dos derivados de mandioca.

Figura 4 - Etapas de produção de alguns derivados de mandioca.



Fonte: Adaptado de JÚNIOR; ALVES (2016)

3.2 Fécula de mandioca

A fécula é, indubitavelmente, o derivado da mandioca que se apresenta como o de maior valor econômico (TAPPIBAN *et al.*, 2018). Na literatura pode-se encontrar o uso indiscriminado dos termos fécula, amido e tapioca. Apesar disso, segundo a Resolução nº 263, de 2005 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), “amidos são os produtos amiláceos extraídos de partes comestíveis de cereais,

tubérculos, raízes ou rizomas” (BRASIL, 2005a). Os amidos extraídos dessas partes de vegetais podem ser designados de fécula, sendo, portanto, termos análogos.

O MAPA (BRASIL, 2005b) também tem atuado na identidade desses alimentos. Segundo a Instrução Normativa nº 23, de 2005, os produtos amiláceos da mandioca são classificados em dois grupos: fécula e tapioca. Fécula é o produto amiláceo extraído das raízes de mandioca, não fermentada, obtida por decantação, centrifugação ou outros processos tecnológicos adequados. A tapioca é o produto que se apresenta sob forma de grânulos irregulares, poliédricos ou esféricos, e o amido é um termo referente aos carboidratos, característicos da raiz da mandioca. Dessa forma, fécula e tapioca não são sinônimos. Neste trabalho, dos derivados amiláceos de mandioca existentes, foi estudada a fécula (polvilho doce), além da massa de mandioca.

3.3 Composição química da fécula e massa de mandioca

A Tabela 1 apresenta um resumo dos principais componentes presentes na mandioca e na fécula, segundo a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TBCA, 2019).

Tabela 1 - Composição de Mandioca e Fécula de Mandioca em 100 g de amostra.

Alimento	TBCA	
	Fécula	Mandioca
Umidade (%)	27,6	65,4
Carboidrato (g)	71,9	32,6
Proteína (g)	0,36	0,98
Lipídeos (g)	0,0	0,22
Fibra alimentar (g)	0,20	2,09
Ca (mg)	22,7	13,8
Mg (mg)	3,40	40,4
Mn (µg)	0,07	0,05
P (mg)	6,94	26,7
Fe (mg)	0,42	0,25
Na (mg)	1,31	1,95
K (mg)	31,2	188
Cu (mg)	Tr	0,06
Zn (mg)	Tr	0,18
Se (µg)	Tr	0,6

Tr = traço

Fonte: TBCA

É possível verificar que tanto a mandioca quanto a fécula possuem uma concentração significativa de carboidrato em sua composição, sendo este o componente majoritário presente na fécula. Além do carboidrato, estão presentes nesses alimentos elementos químicos importantes como K, Mg, Ca e P.

Na fécula, elementos como Ca, Fe e Mn apresentam-se (Tabela 1) em maiores concentrações quando comparado com os resultados disponíveis para a mandioca. Em contrapartida, os resultados de concentração apresentados para K, Mg, P e Na são mais elevados na mandioca.

A variação da concentração de elementos químicos pode ocorrer devido à contaminação ambiental, bem como às diferentes formas de processamento da mandioca em seus derivados. A extração da fécula ocorre em meio aquoso, o que contribui para a perda por lixiviação de nutrientes (TUZEN; SOYLAK, 2007, CORREIA, 2014).

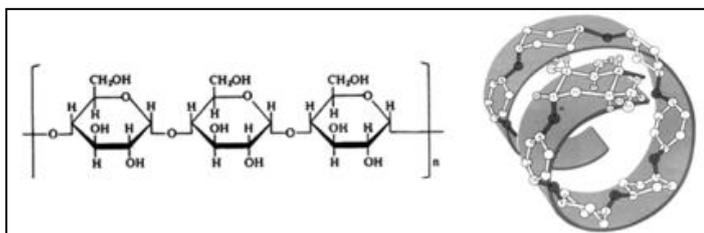
Apesar da Tabela Brasileira de Composição de Alimentos identificar como elementos traço apenas Cu, Zn e Se, presentes na fécula, a União Internacional da Química Pura e Aplicada (IUPAC) denomina elemento traço espécies que estão presentes em alimentos em concentrações médias menores que $100 \mu\text{g g}^{-1}$ (IUPAC, 2014). Dessa forma, os elementos Cu, Fe, Mn, Na, Se e Zn, para ambos os alimentos, e Mg e P, para a fécula, podem ser considerados como elementos traço, conforme apresenta Tabela 1.

O amido é o principal carboidrato presente nos derivados de mandioca. Vale destacar que o amido é o mais importante carboidrato na alimentação humana, fornecendo cerca de 70% das calorias consumidas pelo homem e, conseqüentemente, apresenta um papel nutricional bastante relevante. Na fécula, o amido é encontrado na forma de grânulos, que são compostos por cadeias de amilose e amilopectina. A amilose é um polímero formado por unidades de glicose unidas por ligações glicosídicas α -(1,4), tendo uma estrutura essencialmente linear. Sua concentração nos grânulos de amido varia entre 15,2 e 26,5% (FENNEMA, 2010; ZHU, 2015).

A amilopectina consiste em um polímero bastante ramificado, uma molécula formada por três tipos de cadeia: A, B e C. A primeira é uma cadeia não-redutora de glicoses unidas por ligações α -(1,4), sem ramificações. A segunda, cadeia do tipo B, é composta por glicoses ligadas em α -(1,4) e α -(1,6), contendo uma ou várias

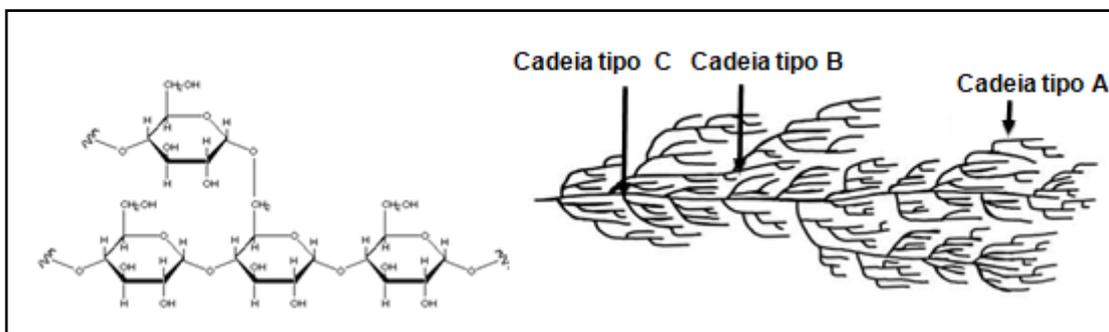
cadeias tipo A, podendo conter cadeias tipo B unidas por meio de um grupo hidroxila primário. Por fim, a cadeia do tipo C é uma cadeia principal, formada por resíduos glicosídicos ligados em α -(1,4), a qual possui um grupamento final redutor e numerosas ramificações de cadeias tipo B. Cada molécula de amilopectina possui apenas uma única cadeia C (PÉREZ e BERTOFT, 2010). As Figuras 5 e 6 ilustram as estruturas das moléculas formadoras do amido de mandioca.

Figura 5 - Estrutura molecular da amilose e sua distribuição espacial.



Fonte: Adaptado de SANTOS (2018).

Figura 6 - Estrutura molecular da amilopectina e sua distribuição espacial.



Fonte: Adaptado de SANTOS (2018).

As moléculas de amilopectina são os principais componentes responsáveis pela estrutura dos grânulos de amido. A organização granular é semicristalina, resultado do agrupamento de espécies de amilopectina em camadas cristalinas e amorfas, formando anéis concêntricos, alternadamente (TAPPIBAN *et al.*, 2018).

3.4 Propriedades tecnológicas da fécula (amido)

As propriedades tecnológicas do amido são retratadas na literatura (ZHU, 2015; JAEKEL et al., 2015; WANG et al., 2018), uma vez que esse alimento é, amplamente, empregado como ingrediente industrial, principalmente em indústrias de alimentos, por permitir o controle de algumas propriedades como textura, aparência, viscosidade, estabilidade no armazenamento, dentre outras.

A gelatinização e a retrogradação são algumas das propriedades físico-químicas do amido, que representam o cerne de suas diversas aplicações industriais, sendo influenciadas por sua estrutura granular, mais especificamente pela relação de amilose - amilopectina (ZHU, 2015). Apesar da presença dos grupos hidroxilas e átomos de oxigênio nas moléculas de amilose e amilopectina, o amido é insolúvel em água fria, devido a forte interação, do tipo ligações de hidrogênio, entre essas espécies. Entretanto, quando o sistema amido e água é aquecido, a água penetra nos grânulos de amido, liberando espécies mais solúveis como a amilose. Dessa forma, o amido torna-se solúvel em meio aquoso até que o processo de gelatinização seja alcançado, o qual é caracterizado pela formação de um gel. Com a diminuição da temperatura, as moléculas de amilose se reorganizam, tornando-se uma estrutura mais rígida, e o amido sofre uma retrogradação, o que reduz suas funcionalidades do ponto de vista industrial (FIDELES *et al.*, 2019).

Os amidos *in natura* estão mais suscetíveis à retrogradação e, portanto, possuem uma limitação no que se refere às suas aplicações industriais, pois suas propriedades granulares podem sofrer transformações devido às variações inerentes aos processos industriais (VAN HUNG, LAN PHI e VY VY, 2012). Dessa maneira, existem diversos estudos na literatura (WANG *et al.*, 2018; PALAVECINO; PENCI; RIBOTTA, 2019) com a finalidade de elucidar as propriedades físico-químicas do amido, bem como propor estratégias de sua modificação química, física e enzimática, a fim de torná-lo mais robusto.

3.5 Minerais essenciais e não essenciais

O monitoramento de elementos químicos em amostras de alimentos é fundamental, pois essas espécies podem ser essenciais ou potencialmente tóxicas para organismos vivos. Os elementos químicos podem ser classificados de acordo com a sua exigência nutricional para seres humanos, sendo denominados de macroelementos e microelementos (GUPTA; GUPTA, 2014; GONZÁLEZ; SILVA 2019). Os macroelementos estão em maior concentração no organismo animal, sendo requerida, geralmente, uma maior ingestão diária ($>100 \text{ mg dia}^{-1}$). Cálcio, Mg, Na, K e P são exemplos de macroelementos, que realizam uma variedade significativa de funções metabólicas nos organismos vivos (GAUR; AGNIHOTRI, 2017).

Existem elementos químicos que desempenham, em quantidades menores, um papel importante no metabolismo de animais, principalmente no funcionamento de algumas enzimas. Essas espécies são conhecidas como microelementos ou oligoelementos, os quais requerem uma ingestão diária abaixo de 100 mg dia^{-1} . Dentre eles, é possível citar: Co, Cu, Cr, Mn, Se e Zn (GAUR; AGNIHOTRI, 2017; SORIANO *et al.*, 2018).

Elementos químicos como Pb, Cd e As não possuem nenhuma função biológica conhecida nos organismos vivos, sendo assim, mesmo em baixas concentrações são espécies deletérias quando presentes em alimentos (BONVEHÍ; BERMEJO, 2013). A legislação brasileira estabelece limites máximos de alguns contaminantes permitidos em alimentos. Para raízes ou tubérculos, as concentrações de Cd e Pb devem ser até $0,10 \text{ mg kg}^{-1}$ e, para As, $0,20 \text{ mg kg}^{-1}$, (BRASIL, 2013).

Deficiências, excessos ou desequilíbrios no suprimento de elementos químicos de fontes alimentares podem ter uma influência deletéria significativa na saúde humana. Portanto, é importante determinar com precisão seus níveis para melhor avaliar o valor nutricional e toxicológico dos alimentos (COZZOLINO, 2016). Na Tabela 2 está apresentado um resumo de algumas funções biológicas dos elementos químicos essenciais estudados neste trabalho:

Tabela 2 - Resumo de funções biológicas de alguns elementos químicos.

Elemento químico	Funções biológicas importantes
Ca	Formação e manutenção do esqueleto, envolvido nas funções vasculares, neuromusculares e glandulares do corpo. Mineral mais abundante do corpo humano.
Co	Ocupa o sítio catalítico da vitamina B12 e é essencial para a atividade biológica da vitamina.
Cr	Envolvido no metabolismo da glicose, facilitando a ligação da insulina ao seu receptor ou amplificando o efeito da insulina no catabolismo de carboidratos e lipídios.
Cu	Componente de várias metaloproteínas que atuam em reações de oxirredução, tais como: citocromo-oxidase, monoamino-oxidase, superóxido dismutase, dentre outras.
Fe	Componente importante de várias proteínas, incluindo enzimas, citocromos, mioglobina e hemoglobina, atuando nesta última no transporta de oxigênio por todo o corpo.
K	Exerce papel importante na função osmótica, equilíbrio hídrico e ácido básico. Cátion mais abundante no líquido intracelular.
Mg	Importante na integridade estrutural do esqueleto e dentes, além de ser essencial nas reações de contração muscular, transporte ativo, síntese de proteínas, lipídeos, ácidos nucleicos e glicídeos, na fosforização oxidativa.
Mn	Envolvido na formação óssea e em reações específicas relacionadas ao metabolismo de aminoácidos, colesterol e carboidratos.
Na	Exerce papel importante na função osmótica, equilíbrio hídrico e ácido básico. Necessário para transmitir os impulsos nervosos e estimular a ação muscular. Cátion mais abundante no líquido extracelular.
P	Componente importante dos ossos e dos dentes, atua no equilíbrio ácido-básico, na utilização e transferência de energia via adenosina trifosfato (ATP), adenosina difosfato (ADP), creatina-fosfato, glicídios fosfatados, além de que todos os monossacarídeos precisam estar fosforilados para entrarem nas vias metabólicas.
Se	Função protetora contra estresse oxidativo, regula ações do hormônio tireoidiano e o status redox da vitamina C.
Zn	Cofator ou ativador de várias enzimas, principalmente DNA e RNA polimerases, sendo essencial na divisão celular e na síntese de DNA e proteína, importante na cicatrização de feridas.

Fonte: adaptado de *INSTITUTE OF MEDICINE* (2006); *GUPTA; GUPTA* (2014); *SCHARF et al.* (2014) e *GONZÁLEZ; SILVA* (2019)

Com base em uma investigação feita na literatura, notou-se que, ainda que há uma escassez de dados quanto à determinação da composição mineral da fécula de

mandioca, podendo, a proposta de trabalho apresentada ser uma importante contribuição para a tabela de composição de alimentos a nível regional e nacional.

3.6 Métodos para determinação de elementos essenciais e potencialmente tóxicos em alimentos

No que se refere à quantificação de elementos essenciais e/ou potencialmente tóxicos em amostras de alimentos, as técnicas analíticas que compõem a espectroscopia atômica são, sem dúvida, as mais empregadas (KORN *et al.*, 2008). Entre elas, pode-se citar a espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS), espectrometria de absorção atômica com atomização em forno de grafite (GF AAS), além das técnicas baseadas em plasma acoplado indutivamente (ICP OES e ICP-MS).

Entretanto, para a determinação das espécies químicas de interesse empregando as técnicas da espectroscopia atômica, geralmente, se faz necessária a oxidação da matéria orgânica presente nas amostras, numa etapa de tratamento prévio da amostra, utilizando procedimentos de decomposição por via seca ou por via úmida, fazendo uso de blocos digestores e fornos de micro-ondas (KRUG; ROCHA, 2016).

O tratamento da amostra visa minimizar a maioria das interferências da matriz antes da introdução no instrumento analítico, sendo fundamental a eliminação da fração orgânica e obtenção de uma solução das espécies de interesses (FUMES *et al.*, 2015).

Para determinação de baixas concentrações de elementos, a decomposição por via úmida é bastante útil, pois os analitos são convertidos em espécies simples não voláteis, além de ter como principal vantagem um menor risco de perdas de espécies voláteis, devido às baixas temperaturas empregadas, quando comparado com a decomposição por via seca. A decomposição por via úmida pode ocorrer em sistemas abertos ou fechados. Os sistemas abertos permitem a decomposição de uma maior quantidade de amostra, entretanto, são limitados em relação à pressão atmosférica, além de necessitarem de quantidades relativamente maiores de solventes. Os principais reagentes utilizados para este fim são ácidos ou mistura de

ácidos e oxidantes auxiliares como o peróxido de hidrogênio (HOLLER; SKOOG; CROUCH, 2009).

Os sistemas fechados são a alternativa adequada para determinação de elementos em baixas concentrações, pois com esses sistemas é possível alcançar altas pressões e temperaturas, permitindo um menor emprego de reagentes, além de um menor risco de perdas por volatilização ou contaminação. A digestão assistida empregando radiação micro-ondas é unânime para que essas condições sejam alcançadas (NÓBREGA *et al.*, 2012). No entanto, apesar das vantagens intrínsecas dos fornos de micro-ondas, esses sistemas têm a desvantagem de oferecer um maior risco de explosão, devido a limitações no que se refere a massa da amostra, além de um custo relativamente alto quando comparado com sistemas abertos como blocos digestores, muflas e estufas (KRUG; ROCHA, 2016).

Existe uma alternativa mais econômica para o desenvolvimento de métodos analíticos, que são os blocos digestores em sistemas fechados, os quais fornecem procedimentos simples e eficazes para a preparação de amostras, com resultados equivalentes aos obtidos em sistemas assistidos por radiação micro-ondas (ÁVILA *et al.*, 2017). Dentre as desvantagens destes sistemas, é possível citar a impossibilidade de monitoramento da pressão interna nos frascos de digestão das amostras.

Paniz *et al.* (2018) realizaram um estudo comparativo de preparo de amostra para a determinação de As, Cd, Cu, Fe, Hg, Mg, Mn, Ni, Pb, Se, Th, Zn, U e elementos terras raras em material de referência certificado de plantas e alimentos por ICP-MS. Foram avaliadas quatro condições para o aquecimento da amostra: banho-maria (BM), bloco digestor (BD), forno micro-ondas sob pressão média (MWMP) e forno micro-ondas sob alta pressão (MWHP). Para os sistemas BM e BD, os autores confeccionaram frascos fechados de politetrafluoretileno (PTFE). Apesar de serem verificados melhores resultados quando o sistema MWHP foi empregado, ficou constatado que para o sistema BD os percentuais de recuperação apresentados variaram entre 80 e 120%, exceto para Zn, Hg, além dos elementos terras raras La, Ce, Tb, Er, Ho, Nd, Pr, Tm, Yb, sendo possível concluir a eficácia dos blocos digestores em sistemas fechados, dependendo da matriz e dos analitos.

3.7 Planejamento Fatorial de dois níveis

Frequentemente, o desenvolvimento de métodos analíticos exige ajustes de muitas variáveis com a finalidade de estabelecer as condições adequadas para análise. Sendo assim, é comum buscar valores específicos (níveis) para cada variável (fatores) com o propósito de obter melhores resultados (resposta) nos experimentos (NOVAES, 2011).

A otimização de métodos analíticos pode ocorrer de forma univariada ou multivariada. Na otimização univariada cada fator avaliado é otimizado por vez, enquanto os demais são fixados. Essa é uma alternativa relativamente simples e os dados gerados podem ser facilmente interpretados. Entretanto, requer uma maior demanda de tempo de estudo, gasto de reagentes, além de não considerar as interações entre os fatores (FERREIRA, 2015).

Na estratégia multivariada todos os fatores são variados simultaneamente, e as melhores condições de trabalho são estabelecidas após análise estatística de dados. Esse modelo exige a execução de um menor número de experimentos, menor uso de reagentes, além de permitir a avaliação de interação entre os fatores. Sua principal desvantagem é gerar dados com uma maior dificuldade de interpretação, o que pode ser contornado com o emprego de programas computacionais específicos que facilitam a interpretação desses dados (NOVAES, 2011). Por fim, um modelo matemático linear entre os fatores e as respostas é obtido, o qual deve ser validado e permitir um bom ajuste entre os dados experimentais e os valores preditos (FERREIRA, 2015).

Para uma avaliação preliminar dos fatores de um método analítico, o emprego de um planejamento fatorial de dois níveis pode ser uma alternativa adequada. Essa ferramenta estatística é empregada para planejar e otimizar experimentos de forma relativamente simples, quando existe o interesse de saber a influência dos fatores sobre a resposta em estudo (NETO; SCARMÍNIO; BRUNS, 2010). Nos últimos anos, técnicas de otimização multivariada têm sido amplamente utilizadas no desenvolvimento de métodos analíticos que exigem a otimização de várias fatores simultaneamente.

Tuzen *et al.* (2018) desenvolveram um método analítico utilizando microextração dispersiva por líquido iônico e assistida por ultrassom, usando violeta de pirocatecol (PV) como reagente complexante e bis (trifluorometilsulfonil)-imida de 1-hexil-3-metilimidazólio (C 6 MIM] [Tf 2 N] como líquido iônico, para a detecção de estanho em amostras de alimentos, empregando espectrometria de absorção atômica eletrotérmica (ETAAS). Os autores utilizaram um planejamento fatorial de dois níveis e, visando obter uma melhor resposta de recuperação de estanho, todos os fatores avaliados foram significativos, a saber: pH do meio de trabalho (efeito negativo), tempo de extração (efeito positivo), quantidade de reagentes e volume do líquido iônico, ambos com efeitos positivos. Para um efeito positivo, a resposta quimiométrica aumenta quando o fator avaliado varia de um nível inferior para um nível superior, sendo verificado o inverso para um efeito negativo. Dessa maneira, os autores concluíram que para a obtenção de uma maior extração de estanho, as condições do método deveriam apresentar menores valores de pH, maior tempo de sonicação e menores quantidades de reagentes. Por fim, após avaliação de um teste de curvatura, foi verificada a significância deste e estabelecido o ponto central como condição experimental.

Costa *et al.* (2018) realizaram um estudo visando desenvolver um método de determinação direta de Ca, K, Mg em amostras de farinha de mandioca por espectrometria de emissão óptica em plasma induzido a laser (LIBS). Com o objetivo de encontrar as melhores respostas de razão sinal/ruído e sinal/fundo, os parâmetros instrumentais tempo de espera e fluência foram otimizados com o emprego de um planejamento fatorial completo.

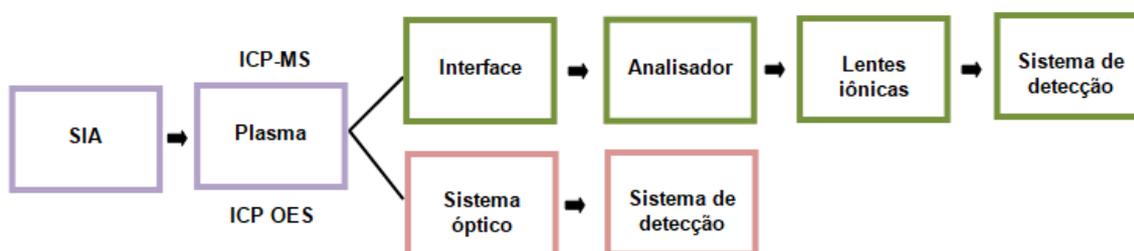
Campos *et al.* (2019) desenvolveram um procedimento de preparo de amostras derivadas de soja utilizando aquecimento assistido com infravermelho e determinação de Ca, Cu, Fe, K, Mn e P por ICP OES e F AAS. Nesse sistema de digestão foi incluída uma unidade de refluxo visando melhorar a eficiência de decomposição de amostra. O método analítico foi otimizado a partir da avaliação dos fatores volume de HNO₃, tempo de aquecimento, e influência da unidade de refluxo, sendo as respostas quimiométricas teor de carbono residual (RCC), além das concentrações dos analitos estudados. Os trabalhos descritos anteriormente confirmam a importância e consolidação do emprego do planejamento fatorial de dois níveis, na otimização de métodos analíticos.

3.8 Características das técnicas de ICP OES e ICP-MS

Devido ao desempenho analítico, as técnicas ICP OES e ICP-MS têm sido amplamente empregadas para determinações multielementares e, também, para caracterização isotópica no caso de ICP-MS (GARCÍA-POYO *et al.*, 2015).

Essas técnicas possuem princípio de funcionamento distinto. A técnica de ICP OES baseia-se na medida da intensidade da radiação emitida, quando um átomo ou íon excitado pelo plasma retorna ao seu estado fundamental. Na técnica ICP-MS, a medida da concentração do analito está relacionada com uma razão massa-carga (m/z) específica. Na realização de uma análise por meio dessas técnicas, existem algumas etapas similares, como por exemplo, o sistema de introdução de amostra (SIA) e a fonte de plasma (THOMAS, 2013). A Figura 7 representa a configuração básica de um espectrômetro óptico e de massa indutivamente acoplado.

Figura 7 - Esquema de blocos dos componentes básicos utilizados em equipamentos baseados em ICP OES e ICP-MS.



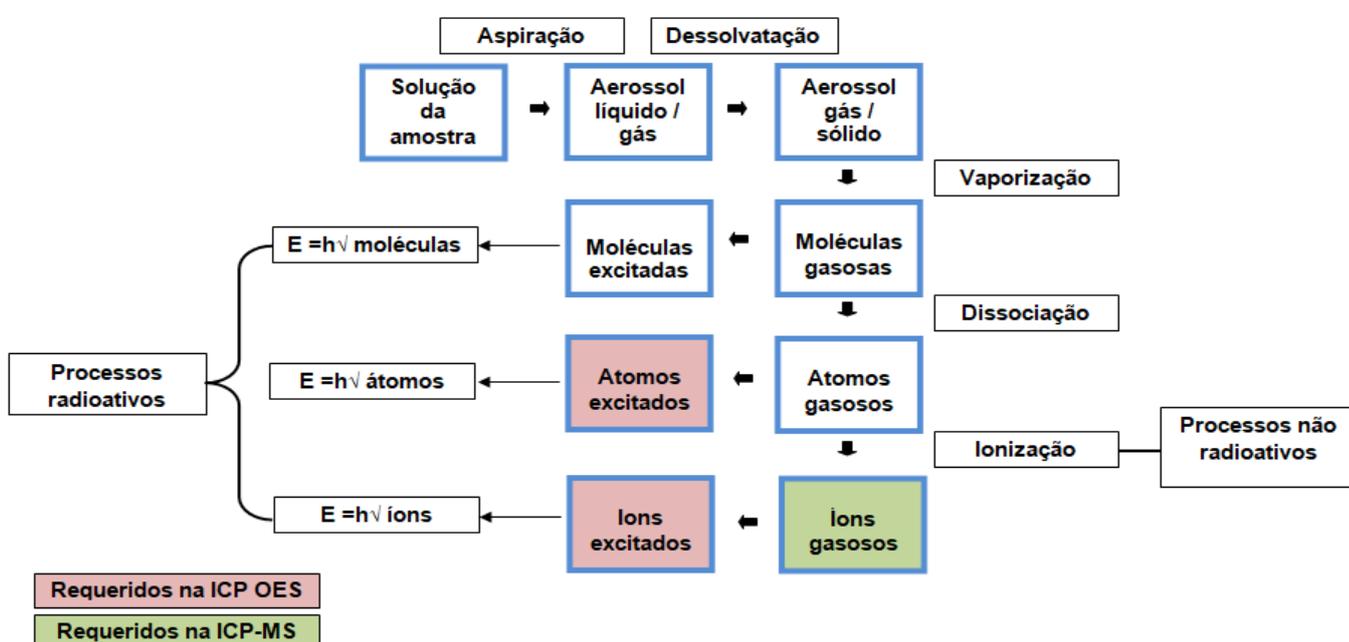
Fonte: Adaptado de MONTASER; GOLIGHTLY (1992); THOMAS (2013)

O plasma indutivamente acoplado (ICP) é um gás parcialmente ionizado, contendo moléculas, radicais, átomos, íons e elétrons livres que se forma após o contato entre uma bobina de radiofrequência (RF) e um fluxo de gás (geralmente argônio), iniciado pela descarga, sem emprego de eletrodo, de uma bobina tesla, sob a pressão atmosférica, mantido pela energia acoplada entre uma bobina de cobre a um gerador de radiofrequência (HOLLER; SKOOG; CROUCH, 2009)

As semelhanças entre as técnicas de ICP OES e ICP-MS terminam após a introdução da amostra no plasma. Em ICP OES, átomos e íons são requeridos no

caminho óptico, enquanto em ICP-MS apenas íons são desejados. Sendo assim, os espectrômetros de massa que compõem os equipamentos da técnica ICP-MS possuem dispositivos para eliminação de processos radioativos ou uma conformação ortogonal entre a tocha e o detector (THOMAS, 2013). Os processos que ocorrem no ICP ao longo de uma análise típica de amostras líquidas estão apresentados na Figura 8.

Figura 8 - Processos que ocorrem no plasma indutivamente acoplado.



Fonte: Adaptado de HOLLER; SKOOG; CROUCH (2009); THOMAS (2013)

Apesar das duas técnicas apresentarem boa aplicabilidade para amostras de alimentos, considerando principalmente a capacidade de determinação multielementar e sensibilidade adequada, algumas interferências devem ser investigadas. As interferências podem ser classificadas como espectrais ou não espectrais (GARCÍA-POYO *et al.*, 2015).

Para a técnica de ICP-MS, interferências espectrais não são específicas para um analito, mas sim para uma razão m/z . Desta forma, alguns isótopos de um determinado elemento podem sofrer interferência, enquanto outros isótopos do mesmo elemento não. As interferências espectrais podem ser isobáricas ou poliatômicas. Nas interferências isobáricas, isótopos de elementos distintos possuem

a mesma razão m/z , enquanto que as interferências poliatômicas são produzidas pela combinação de dois ou mais íons atômicos. Geralmente estão associadas ao gás do plasma ou outros componentes presentes na amostra, solvente ou atmosfera (MONTASER; GOLIGHTLY, 1992). Para a técnica ICP OES, as interferências espectrais são geralmente decorrentes de radiação de fundo (background) e sobreposição de linhas espectrais.

As interferências não espectrais podem ocorrer de três formas: efeitos de transporte, supressão ou aumento de sinal e, no caso do ICP-MS, também efeito espaço-carga. As interferências de transportes podem acontecer quando a solução da amostra possui algumas propriedades físico-químicas distintas das soluções da curva analítica, como por exemplo, viscosidade. Os efeitos de supressão ou aumento de sinal acontecem quando concomitantes da matriz influenciam na eficiência de ionização do plasma, comum em amostras com elevados teores de carbono ou de espécies com baixa energia de ionização. Por fim, as interferências espaço-carga acontecem nas lentes iônicas, quando elementos de alta razão m/z podem repelir elementos mais leves, causando supressão de sinal (THOMAS, 2013).

3.9 Bioacessibilidade de minerais

Comumente, os métodos analíticos desenvolvidos para a quantificação de elementos químicos em amostra de alimentos visam a determinação dos teores totais desses constituintes (BARBOSA *et al.*, 2019). Entretanto, para fins nutricionais, o teor total de nutrientes presentes em alimentos não é um indicativo da quantidade absorvida desses pelo organismo humano, após o complexo processo de digestão. Sendo assim, estimar o teor de minerais que efetivamente estão disponíveis para absorção pelo organismo é fundamental (COZZOLINO, 2016).

A bioacessibilidade é uma estratégia analítica empregada para estimar a quantidade de nutriente em um alimento que pode ser mobilizada no trato gastrointestinal durante a digestão (SANTOS *et al.*, 2018). Os modelos de bioacessibilidade relatados na literatura podem ser *in vivo* (LI *et al.*, 2015; FAN *et al.*, 2017) ou *in vitro* (XAVIER *et al.*, 2019; CHIOCCHETTI *et al.*, 2020). Os métodos *in*

vivo, geralmente, oferecem resultados mais exatos, pois utilizam cobaias ou seres humanos para realização dos ensaios. Entretanto, esses métodos são caros, exigem um maior grau de dificuldade, devido à necessidade de monitoramento de todas as etapas da digestão, além de envolver limitações éticas quando substâncias tóxicas são envolvidas (SOUZA *et al.*, 2018).

Uma alternativa conveniente são os métodos *in vitro*, que são ensaios analíticos utilizados para simular as condições fisiológicas, tais como, composição química dos fluídos biológicos, pH e tempos de residência do alimento, em uma (JORGE MENDOZA *et al.*, 2017; YAN *et al.*, 2019) ou mais etapas (AGUDELO, 2015; SOUZA *et al.*, 2018) da digestão humana. Eles podem ser estáticos ou dinâmicos.

Nos métodos estáticos, a simulação das condições fisiológicas negligencia a dinâmica e complexidade do organismo como, por exemplo, a mudança constante no ambiente bioquímico e parâmetros físicos, tais como, alinhamento do corpo e forças de tração inerentes nos sistemas digestivos. Apesar disso, os modelos estáticos foram úteis para estimar a bioacessibilidade em diversos trabalhos. O primeiro trabalho de bioacessibilidade *in vitro* foi realizado em 1954 por Debaun e Connors (1954), em que foi estimada a bioacessibilidade de proteína em soro de leite em pó (LUCAS-GONZÁLEZ *et al.*, 2018). Nesse trabalho, foi verificado pelos autores que os resultados obtidos pelo modelo *in vitro* empregado concordaram com os resultados da avaliação em animais.

Ao longo dos anos, diversos modelos de bioacessibilidade *in vitro* foram desenvolvidos. Dentre esses, um dos mais empregados é o método PBET (*Physiologically Based Extraction Test*), o qual foi desenvolvido por um estudo realizado por Ruby *et al.*(1993) para avaliar a bioacessibilidade de Pb em amostras de resíduo de mineração, simulando as fases digestivas do estômago e do intestino delgado. Para a realização do método, foram utilizadas soluções de pH específicos, contendo as enzimas digestivas pepsina e pancreatina, além de ácidos orgânicos, dentre outros componentes. O método *in vitro* foi validado com ensaios *in vivo* aplicados em coelhos. Os autores constataram a eficácia do método *in vitro* para estimar a bioacessibilidade de Pb simulando o trato gastrointestinal.

Uma alternativa simplificada do método PBET foi desenvolvida para uma avaliação da bioacessibilidade *in vitro* de nutrientes, levando em consideração

apenas a fase gástrica. Este modelo, denominado SBET (*Simple Bioaccessibility Extraction Test*), permite uma maior frequência de análise, além de ser empregada uma menor quantidade de reagentes (soluções contendo HCl e glicina). Entretanto, resultados superestimados podem ser obtidos, pois a fase intestinal, onde ocorre essencialmente a absorção não é considerada (BOSSO; ENZWEILER, 2008; JORGE MENDOZA *et al.*, 2017).

Dentre os modelos de bioacessibilidade *in vitro* relatados na literatura, a proposta de Oomen *et al.* (2003) é a que mais se aproxima das condições fisiológicas (AGUDELO, 2015). Esse modelo foi desenvolvido para avaliar a bioacessibilidade de contaminantes de solos sob condição de jejum, considerando três etapas: boca, estômago e intestino delgado. Versantvoort *et al.* (2005) propuseram uma adaptação nesse modelo com a finalidade de avaliar a bioacessibilidade de contaminantes em amostras de alimentos.

4. DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO DE DECOMPOSIÇÃO PARA AMOSTRAS DE DERIVADO DE MANDIOCA EM BLOCO DIGESTOR EM SISTEMA FECHADO E QUANTIFICAÇÃO POR ICP OES

4.1 EXPERIMENTAL

4.1.1 Instrumentação e equipamentos

Nas etapas de tratamento e análise das amostras foram empregados os seguintes equipamentos:

- ✓ Estufa com circulação de ar SPLABOR, modelo SPCR 100, Brasil;
- ✓ Moinho de grão Hamilton Beach, modelo 80374BZ, EUA;
- ✓ Balança analítica Scientech, modelo SA210, USA;
- ✓ Bloco digestor fechado TECNAL, modelo TE-015-1, Brasil;
- ✓ Destilador de ácido Milestone, *sub-boiling distillation*, Itália;
- ✓ Sistema de purificação de água, Elga, PURELAB *Option-Q*, Reino Unido;

4.1.2 Amostras de fécula e massa de mandioca

Neste trabalho, foram analisadas amostras de derivados de mandioca (fécula e massa de mandioca) industrializadas e artesanais, sendo estas últimas produzidas em laboratório. Também foram analisadas a massa residual e o sobrenadante, gerados após a extração da fécula *in situ*.

As amostras industrializadas de derivados de mandioca foram adquiridas em supermercados dos seguintes estados: Bahia, Goiás e Pará. Entretanto, em relação ao local de fabricação, foi possível abranger todas as regiões do país. Foram estudadas um total de 21 amostras, sendo: fécula industrializada de mandioca, comercializadas em diferentes estados (16), massa industrializada de mandioca para

bolo (1), fécula artesanal (1), massa artesanal de mandioca (1), massa residual (1) e sobrenadante (1), produzidas no laboratório de pesquisa onde esse trabalho foi desenvolvido. A Tabela 3 apresenta as amostras codificadas e seus respectivos locais de origem.

Tabela 3 - Amostras de derivados de mandioca codificadas e seus respectivos locais de origem.

Código	Origem	Tipo de amostra
PC	Goiás	
TQD	Bahia	
TDT	São Paulo	
TFDM	Paraíba	
TBA	Bahia	
TP	Bahia	
TDI	Paraíba	
TDL	Paraná	
TL	Bahia	Fécula industrializada
TR	Pará	
TRDG	Pernambuco	
FR	Minas Gerais	
TBB	Mato Grosso do Sul	
TAF	Paraná	
TLA	Bahia	
TUP	Pernambuco	
MMRDG	Paraíba	Massa de mandioca industrializada
MMAEF	Laboratório	Massa artesanal residual
MMSEF	Laboratório	Massa de mandioca artesanal
FEIL	Laboratório	Fécula artesanal
SOB	Laboratório	Sobrenadante residual

4.1.3 Reagentes, materiais utilizados e soluções

Os seguintes reagentes, grau analítico, foram utilizados: ácido nítrico 65% mm^{-1} (Merck, Darmstadt, Alemanha), destilado em um sistema de purificação de ácido, peróxido de hidrogênio 30% m m^{-1} (Merck, Darmstadt, Alemanha). Também foi utilizada água deionizada, resistividade 18,2 $\text{M}\Omega \text{ cm}$.

Para a análise das amostras empregando ICP OES, foram preparadas as seguintes soluções multielementares: (1) solução contendo Na, K, Mg, Ca e P, a partir de soluções estoque (Specsol®, Jacareí, Brasil) com concentração de 10000 mg L^{-1} e, (2) solução contendo Ba, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Pb, Sr e Zn, a partir de soluções estoque (Specsol®, Jacareí, Brasil) com concentração de 1000 mg L^{-1} .

Todo material utilizado para execução desse trabalho foi previamente descontaminado, seguindo o procedimento: primeiramente, o material foi lavado com água potável e detergente, em seguida, colocado em solução de ácido nítrico 10% v v^{-1} por 24 horas. Posteriormente, todo material foi lavado com água deionizada e secado em temperatura ambiente.

4.1.4 Pré-tratamento das amostras

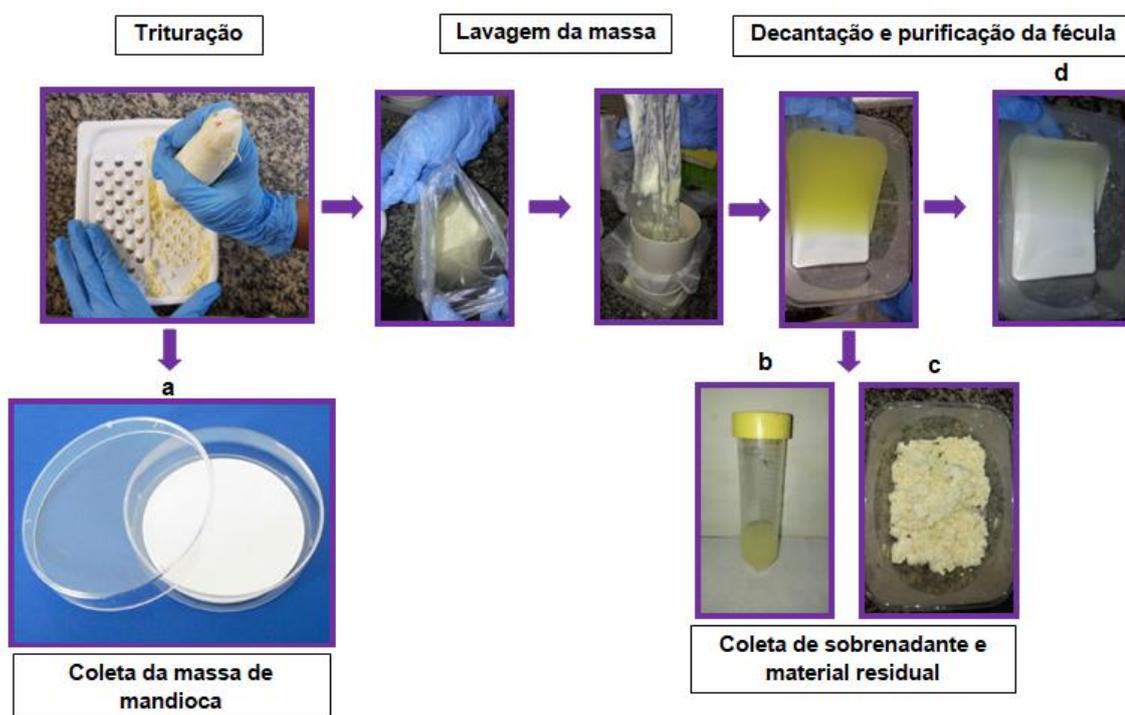
As amostras foram submetidas a tratamento prévio, seguindo procedimento recomendado no Manual do Instituto Adolfo Lutz, com a finalidade de obter amostras representativas. Assim, cada pacote de fécula passou por um processo de redução por quarteamento. Primeiramente, as amostras foram integralmente colocadas em uma bandeja de plástico limpa, em seguida, as amostras foram divididas em quatro quadrantes. Posteriormente, dois quadrantes opostos foram escolhidos aleatoriamente para serem descartados. Por fim, os dois quadrantes restantes foram misturados e passaram por um novo processo de redução por quarteamento (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008). Esse processo foi realizado até que fosse possível obter aproximadamente 250 g de cada amostra. As amostras quarteadas foram secas em estufa em temperatura de cerca de 80 °C. Após secagem, as amostras foram trituradas em um moedor de grãos e peneiradas em malha de

diâmetro de diâmetro 305 micrômetros. As amostras moídas foram acondicionadas em recipientes de plástico, previamente descontaminados, e armazenadas em dessecador.

4.1.5 Preparo de fécula e massa de mandioca em laboratório

Uma raiz de mandioca, adquirida em feira livre da cidade de Salvador, BA e de local de cultivo desconhecido, foi, primeiramente, lavada com água potável, para remoção de qualquer tipo de sujeira residual em sua casca. Em seguida, a mandioca foi descascada com o auxílio de uma faca de material plástico. A raiz foi triturada com o emprego de um ralador doméstico plástico. A massa de mandioca total obtida foi dividida em duas partes: a primeira parte para secagem em estufa e a segunda para extração da fécula. A figura 9 apresenta as etapas do processo de extração da fécula realizada *in situ*.

Figura 9 - Processo de extração da fécula de mandioca no laboratório.



Fonte: autora, 2020.

A massa de mandioca destinada à extração da fécula foi lavada com cerca de 300 mL de água deionizada, sendo posteriormente, peneirada em malha de diâmetro de 305 micrômetros para separação da parte residual. O sobrenadante foi submetido à decantação, em temperatura de aproximadamente 15 °C. Após 24 horas, separou-se a fécula decantada do sobrenadante. A fécula obtida foi lavada com mais 300 mL de água deionizada até que o sobrenadante estivesse visualmente branco (Figura 9d). O primeiro sobrenadante (Figura 9b) foi coletado e conservado em temperatura de cerca de -18 °C para análise futura. A massa de mandioca que não passou pelo processo de extração da fécula (Figura 9a), bem como a massa residual (Figura 9c) obtida após o processo de extração foram secas em estufa, em temperatura de cerca de 80 °C, para posterior análise.

4.1.6 Otimização multivariada da etapa de decomposição de amostra

Um planejamento experimental completo de dois níveis foi desenvolvido com a finalidade de otimizar a etapa de decomposição de amostra empregando um bloco digestor em sistema fechado. Foram estudados os seguintes fatores: concentração de HNO₃, volume de H₂O₂, tempo e temperatura de decomposição.

Uma amostra de fécula foi selecionada de forma aleatória para o desenvolvimento dessa etapa. Para realização do planejamento, pesou-se aproximadamente 500 mg da amostra e, em seguida, adicionou-se as quantidades dos reagentes (HNO₃ e H₂O₂) conforme Tabela 4. Após decomposição das amostras nas condições previamente estabelecidas, as soluções digeridas foram avolumadas para 10 mL com água deionizada. A partir da equação 1, foram definidos dezesseis experimentos, além de quatro réplicas no ponto central.

$$n = 2^k$$

Equação 1

em que n é o número de experimentos e k é número de fatores avaliados. Para cada fator, os níveis foram variados conforme mostra Tabela 4:

Tabela 4 - Variação de níveis para os fatores avaliados no planejamento fatorial de dois níveis da otimização da etapa de decomposição de amostras.

Fatores	(+)	(0)	(-)
HNO ₃ (mol L ⁻¹)	7,0	4,9	2,8
H ₂ O ₂ (mL)	1	0,5	0
Tempo (min)	45	30	15
Temperatura (°C)	200	190	180

(+) – Nível máximo (-) – Nível mínimo, (0) – Ponto central.

4.1.7 Determinação da concentração ácida e de carbono orgânico dissolvido das amostras digeridas

A concentração ácida na solução final das amostras digeridas, após diluição para 14 mL com água ultrapura, foi determinada através de titulações ácido-base. Para isso, utilizou-se uma solução padronizada de hidróxido de sódio (0,09347 mol L⁻¹) e solução de fenolftaleína em 10% de etanol como indicador.

As concentrações de carbono orgânico dissolvido foram determinadas por ICP OES, utilizando a linha de emissão de carbono (193,091 nm). A curva analítica para obter o teor de carbono residual foi construída com solução de ácido cítrico 25000 mg L⁻¹, para faixa de concentração de 100 - 5000 mg L⁻¹ para o preparo das soluções analíticas de calibração para carbono.

4.1.8 Determinação da umidade

Em um béquer de 100 mL, pesou-se aproximadamente 3 g de amostra (fécula e massa de mandioca) em balança analítica. Em seguida, a amostra foi aquecida em estufa em 80 °C por 1 hora a fim de promover a remoção de umidade e evitar perdas de possíveis elementos voláteis que pudessem estar presentes nas mesmas. Posteriormente, a amostra foi resfriada em um dessecador e, então, pesada novamente em balança analítica. Esse processo foi repetido até obtenção de massa

constante (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008). A percentagem de massa úmida foi calculada empregando-se a Equação 2:

$$\text{Umidade (\%, mm}^{-1}\text{)} = (\text{N/P}) \times 100 \quad \text{Equação 2}$$

em que, N é a massa de umidade e P a massa da amostra em gramas.

4.1.9 Determinação dos analitos

As amostras digeridas foram analisadas empregando um espectrômetro de emissão com plasma indutivamente acoplado simultâneo com visão axial (Vista Pro Varian, Mulgrave, Austrália). As condições operacionais empregadas na determinação dos analitos nas amostras por ICP OES estão resumidas na Tabela 5:

Tabela 5 - Condições operacionais do espectrômetro empregado para as determinações por ICP OES.

Parâmetros	
Radio frequência do gerador (MHz)	40
Detector de sólido CCD	167 - 785 nm
Sistema óptico – policromador	Grade de difração Echelle e prisma de CaF ₂
Câmara de nebulização	Ciclônica
Nebulizador	Concêntrico pneumático OneNeb
Potência de medida (W)	1300
Tempo de integração de sinal (s)	1
Vazão do gás do plasma (L min ⁻¹)	15
Vazão do gás auxiliar (L min ⁻¹)	1,5
Vazão do gás do nebulizador (L min ⁻¹)	0,8

Para escolha das linhas espectrais os seguintes critérios foram avaliados: máxima intensidades de emissão, interferências espectrais, as inclinações das curvas analíticas e os resultados dos percentuais de recuperação dos ensaios de

material de referência certificado e de adição e recuperação. Sendo assim, na Tabela 6 encontram-se destacadas as linhas empregadas ao longo do trabalho.

Tabela 6 - Linhas espectrais dos elementos estudados, sendo destacadas as linhas selecionadas.

Elementos	Comprimentos de onda (nm)	Elementos	Comprimentos de onda (nm)
Ba	455,403 (II)	Mn	257,610 (II)
C	193,027 (I)	Mg	285,213 (I)
Ca	422,673 (I)	Na	588,995 (I)
Co	228,615 (II)	P	213,618 (I)
Cr	267,716 (II)	Pb	220,353 (II)
Cu	213,598 (II)	Sr	421,552 (II)
Fe	238,204 (II)	Zn	213, 857(I)
K	769,897 (I)		

I-Linha de emissão atômica; II- Linha de emissão iônica

A calibração do sistema óptico do espectrômetro foi realizada empregando-se uma solução de Mn 5,0 mg L⁻¹ para alinhamentos vertical e horizontal da tocha, seguido do emprego de uma solução estoque multielementar, ambas em meio de HNO₃ 5% (v v⁻¹).

4.2 APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

4.2.1 Aplicação do planejamento experimental para otimização das condições de preparo de amostra

Para estimar a condição ótima para decomposição das amostras, utilizou-se como resposta as concentrações de carbono orgânico dissolvido (DOC) em percentagem, pois as amostras estudadas possuem como componente majoritário carboidratos na forma de amido. De acordo com a Tabela 7, foi possível verificar que as melhores respostas obtidas, 5,32 e 7,87 %, foram para as soluções digeridas nas condições 1 e 6, respectivamente. Apesar da condição 1 apresentar a melhor

resposta, indicando o menor valor de %DOC, optou-se por empregar a condição 6, a qual dispensa o uso de peróxido de hidrogênio, além de ser empregado o menor nível de temperatura na decomposição. Menores quantidades de reagente contribuem para um menor custo, além de minimizar possíveis fontes de contaminação para o método desenvolvido (KRUG; ROCHA, 2016).

Tabela 7 - Matriz de planejamento fatorial 2⁴, aplicada á decomposição ácida de amostras de derivados de mandioca.

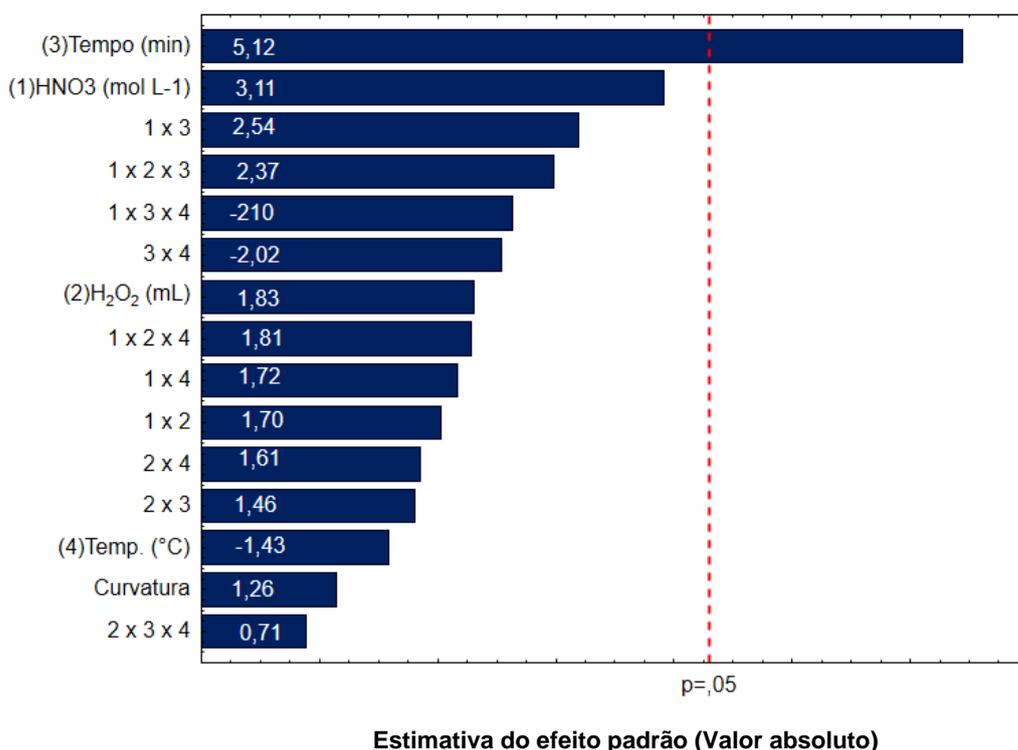
Condição	HNO ₃ (mol L ⁻¹)	H ₂ O ₂ (mL)	tempo (min)	temp. (°C)	DOC (%)
1	7,0	1	45	200	5,32
2	7,0	1	45	180	7,92
3	7,0	1	15	200	9,74
4	7,0	1	15	180	16,97
5	7,0	0	45	200	12,23
6	7,0	0	45	180	7,87
7	7,0	0	15	200	13,36
8	7,0	0	15	180	17,26
9	2,8	1	45	200	14,35
10	2,8	1	45	180	13,97
11	2,8	1	15	200	13,64
12	2,8	1	15	180	12,76
13	2,8	0	45	200	11,47
14	2,8	0	45	180	11,24
15	2,8	0	15	200	16,34
16	2,8	0	15	180	16,38
17	4,9	0,5	30	190	10,22
18	4,9	0,5	30	190	12,39
19	4,9	0,5	30	190	9,28
20	4,9	0,5	30	190	12,36

Considerando que a fécula de mandioca possui majoritariamente carboidratos em sua composição (80%), foi possível inferir que ocorre uma mineralização quase que completa das amostras de derivados de fécula com o emprego de ácido nítrico na decomposição a 180 °C (KRUG; ROCHA, 2016). Barbosa *et al.* (2015) realizaram um estudo em amostras de soja para determinação elementar empregando soluções de HNO₃ de diferentes concentrações. Os autores

encontraram valores de até 18% de carbono orgânico dissolvido, concluindo não haver diferenças significativas entre as concentrações obtidas.

A partir da análise do Gráfico de Pareto, conforme apresentado na Figura 10, foi verificada a significância apenas do fator tempo de aquecimento, sendo irrelevantes os demais fatores e suas interações, no domínio experimental estudado. Desta forma, comparando os resultados obtidos para as soluções resultantes da condição 6 com a condição 7 da matriz de planejamento (Tabela 7), foi possível verificar que ao variar o tempo de decomposição de 15 para 45 minutos, os teores de DOC% diminuem significativamente. Esse comportamento também pode ser observado ao comparar as condições 1 e 3.

Figura 10 - Gráfico de Pareto do planejamento fatorial 24 para os fatores de digestão das amostras de derivados de mandioca.



Foi possível também fazer uma avaliação da curvatura (1,26) (Figura 10), a qual compara a média das respostas do planejamento experimental com a média das respostas no ponto central (FERREIRA, 2015), indicando não haver diferença

significativa entre as mesmas no domínio experimental avaliado, o que torna o emprego de metodologia de superfície facultativo.

A análise de variância (ANOVA), apresentada na Tabela 8, corrobora com as informações de significância verificadas no gráfico de Pareto, além de permitir a inferência de que o modelo matemático foi adequado para a finalidade do método, em que a falta de ajuste não foi significativa, com valor de p de 0,68 para um nível de confiança de 95%.

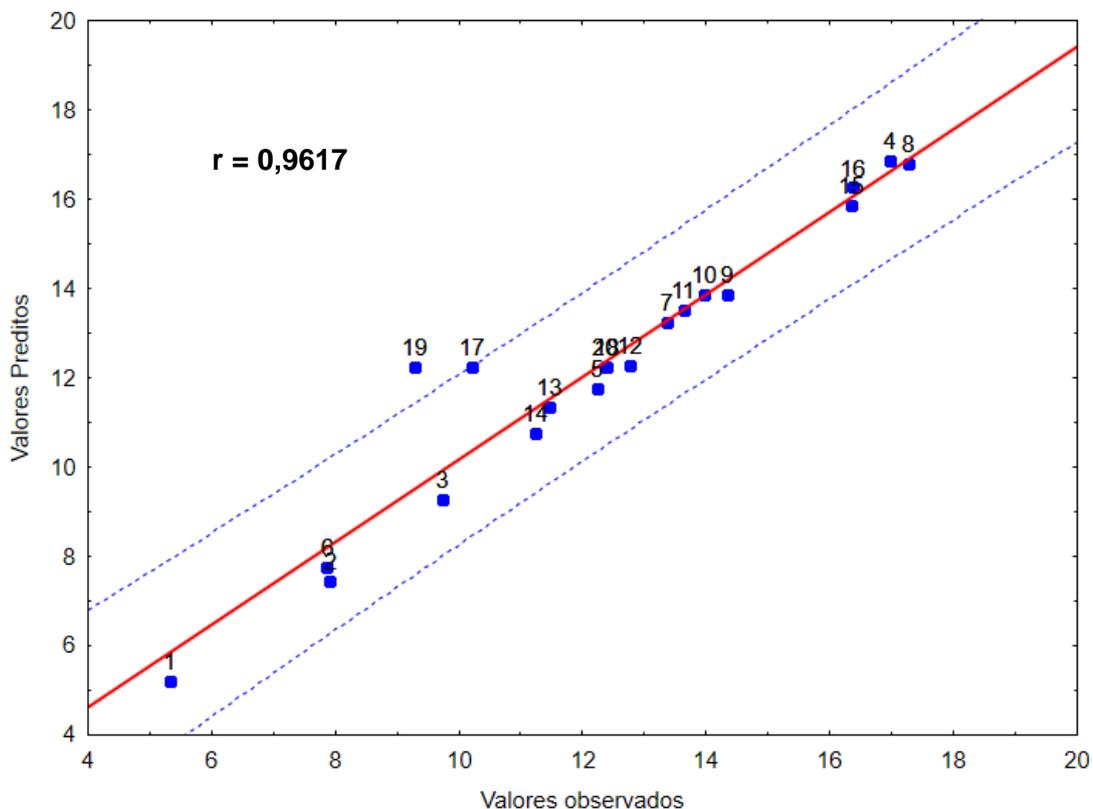
Tabela 8 - Resultado da Análise de variância (ANOVA) para o planejamento fatorial 2⁴.

	SQ	GI	MQ	Valor F	Valor P
Curvatura	7,12	1	7,12	2,90	0,19
(1)Temp. (°C)	3,91	1	3,91	1,60	0,30
(2)Tempo (min)	64,35	1	64,35	26,27	0,01
(3)H ₂ O ₂ (mL)	8,23	1	8,23	3,36	0,16
(4)HNO ₃ (mol L ⁻¹)	23,75	1	23,75	9,69	0,05
1 x 2	6,35	1	6,35	2,59	0,21
1 x 3	15,82	1	15,82	6,46	0,08
1 x 4	7,28	1	7,28	2,97	0,18
2 x 3	5,06	1	5,06	2,06	0,25
2 x 4	5,29	1	5,29	2,16	0,24
3 x 4	10,04	1	10,04	4,10	0,14
1 x 2 x 3	13,82	1	13,82	5,64	0,10
1 x 2 x 4	8,07	1	8,07	3,29	0,17
1 x 3 x 4	10,76	1	10,76	4,39	0,13
2 x 3 x 4	1,22	1	1,22	0,50	0,53
Falta de ajuste	0,51	1	0,51	0,21	0,68
Erro puro	7,35	3	2,45		
Total SS	198,93	19			

SQ: soma quadrática, gl: graus de liberdade, MQ: média dos quadrados

A Figura 11 apresenta a avaliação do modelo matemático a partir de uma correlação entre os valores preditos e os valores observados, mostrando uma boa correlação entre os mesmos, apresentando um coeficiente de correlação $r = 0,9617$, em um nível de 95% de confiança.

Figura 11 - Gráfico de correlação entre os valores preditos versus valores observados.

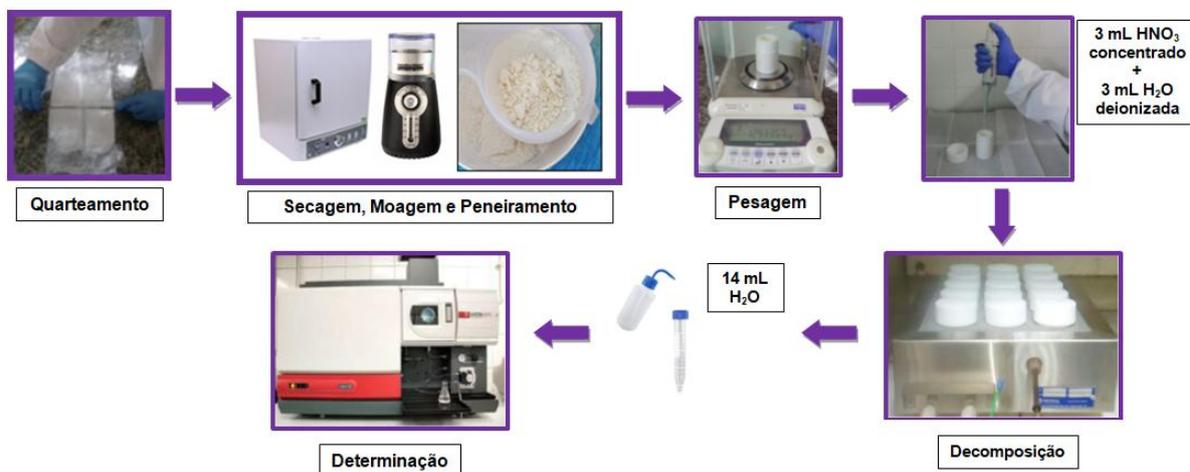


Após avaliação dos resultados, foi recomendado o seguinte procedimento: em aproximadamente 500 mg de amostras foram adicionados 3,0 mL de ácido nítrico concentrado e 3,0 mL de água deionizada em frascos de PTFE. As amostras foram aquecidas empregando bloco digestor em sistema fechado por 45 minutos, com temperatura de decomposição de 180 °C. Em seguida, os frascos foram resfriados por um período de 30 minutos e as amostras digeridas foram transferidas para frascos volumétricos sendo avolumadas para 14,0 mL com água ultrapura. Para a análise do sobrenadante, resíduo líquido gerado na extração da fécula, uma alíquota de 3,0 mL foi submetida ao procedimento de decomposição, sendo adicionado apenas 3,0 mL de ácido nítrico concentrado, nas mesmas condições estabelecidas. Todas as amostras foram analisadas em triplicata.

Para avaliação da exatidão do método, pesou-se cerca de 250 mg de material de referência certificado de farinha de trigo (NIST SRM 1567a) empregando o método analítico nas mesmas condições citadas. A Figura 12 apresenta um

esquema que compreende a etapa de pré-tratamento de amostra até a etapa de determinação.

Figura 12 - Etapas do preparo da amostra.



Fonte: autora, 2020.

4.2.2 Resultados de concentração ácida final das amostras digeridas

Os resultados de concentração ácida nas amostras digeridas, após diluição para 14,0 mL com água deionizada, foram de $3,4 \pm 0,2 \text{ mol L}^{-1}$, sendo estabelecido essa concentração para todas as soluções da curva de calibração analítica com a finalidade de minimizar interferências não espectrais de transporte (TODOLÍ; MERMET, 1999).

4.2.3 Avaliação da umidade nas amostras de produtos de mandioca

Foi possível verificar um aumento significativo na precisão dos resultados quando as amostras foram submetidas ao procedimento de secagem (KRUG; ROCHA, 2016). Nas amostras de fécula e massa de mandioca analisadas foram encontradas percentuais de umidade de aproximadamente $38,9 \pm 0,1\%$ e $43,6 \pm$

0,2%, respectivamente, para as amostras industrializadas. A amostra de massa de mandioca, preparada no laboratório apresentou uma umidade de cerca de $59 \pm 2\%$. Os valores de umidade para a mandioca disponíveis na TBCA (65,4%) são similares aos obtidos neste trabalho para a massa artesanal de mandioca, mas difere dos valores de umidade encontrados para a fécula (27,6%), conforme mostra a Tabela 1. A determinação de umidade em alimentos como fécula e farinha de mandioca é de extrema importância, pois é um parâmetro utilizado para indicar a qualidade de alimentos, podendo contribuir na sua deterioração microbiana, além de influenciar diretamente no valor econômico desses produtos, tendo em vista que, a comercialização de derivados de mandioca, geralmente, é feita por peso (RASCHEN *et al.*, 2014; HÖDÖRUGÖ *et al.*, 2015).

4.2.4 Validação do método analítico proposto

A confiabilidade do método analítico foi realizada a partir da avaliação dos seguintes parâmetros de desempenho: efeito de matriz, limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ), faixa linear de trabalho, precisão e exatidão, seguindo as recomendações da ANVISA, Resolução nº 899 de 2003.

4.2.4.1 Avaliação do efeito de matriz

O efeito de matriz foi realizado comparando os coeficientes angulares, lineares e de correlação das curvas de calibração analíticas obtidas no meio de HNO_3 3,0 mol L^{-1} e no meio da amostra digerida. As concentrações das soluções utilizadas nas curvas analíticas variaram de 0,020 e 2,0 mg L^{-1} para Ba, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Pb, Sr e Zn. Para Ca, Na, K, Mg, e P variaram de 0,5 e 50,0 mg L^{-1} . As curvas de calibração no meio da amostra foram analisadas empregando-se três réplicas.

Para verificar a possibilidade do emprego de calibração externa na etapa de determinação dos analitos, estimou-se o efeito de matriz aplicando a análise de regressão linear nos logaritmos dos coeficientes angulares das curvas de calibração

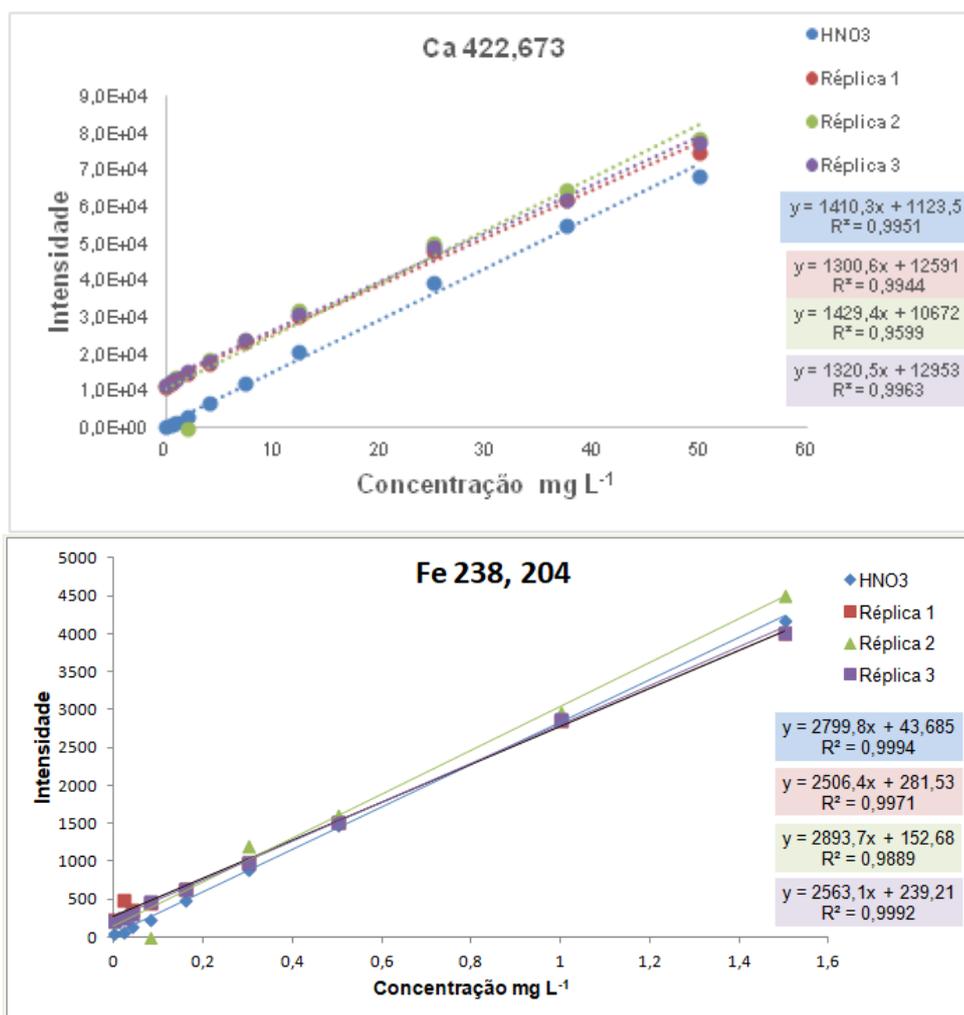
analíticas obtidas no meio de HNO₃ 3,0 mol L⁻¹ (a₁) e no meio da amostra (a₂), mostrados na Tabela 9. Foi verificado, a partir da equação linear $y = 1,029(\pm 0,126) \cdot x - 0,039(\pm 0,416)$, que não existe diferença significativa entre as inclinações das curvas analíticas estudadas, em um intervalo de 95% de confiança. A correlação entre os dois modelos foi elevada, sendo expressa pelo coeficiente de correlação $r = 0,9674$. Para valores de coeficiente linear próximo de zero, coeficientes angular e de correlação próximo a 1, os métodos podem ser considerados similares (MILLER; MILLER, 2010). Sendo assim, pode ser empregada a técnica da calibração externa, o que é considerado uma vantagem do método proposto.

Tabela 9 - Coeficientes angulares obtidos a partir das curvas analíticas em meio ácido (a₁) e em meio da amostra (a₂) e seus respectivos logaritmos decimais.

Elemento	Comprimento de onda (nm)	Coeficiente angular (a ₁)	Coeficiente angular (a ₂)	Log a ₁	Log a ₂
Ba	455,403	850150	821794	5,93	5,91
Ca	422,673	1410	1327	3,15	3,12
Co	228,615	3238	3202	3,51	3,51
Cr	267,716	2304	2231	3,36	3,35
Cu	213,598	1917	1891	3,28	3,28
Fe	238,204	1652	1561	3,22	3,19
K	769,897	6388	5527	3,81	3,74
Mg	285,213	2064	1849	3,31	3,27
Mn	257,610	17101	16251	4,23	4,21
Na	588,995	50	57	1,70	1,76
P	213,618	67	71	1,83	1,85
Pb	220,353	61	67	1,78	1,82
Sr	421,552	36347	2465	4,56	3,39
Zn	213,857	5263	5463	3,72	3,74

O comportamento das curvas de calibração analítica para os macro e microelementos pode ser observado na Figura 13, em que estão apresentadas curvas de calibração analíticas para Ca e Fe, quando foram empregadas as linhas 422,673 nm e 238,204 nm, respectivamente. Os demais elementos avaliados apresentaram uma tendência similar.

Figura 13 - Representação das curvas de calibração de Ca e Fe no meio do solvente e no meio da amostra.



4.2.4.2 Limites de detecção e de quantificação

Nesta etapa do trabalho, considerando que foi empregada a técnica ICP OES, os valores de LOD e de LOQ foram calculados empregando as concentrações equivalentes de fundo (BEC) e pela relação sinal/ruído (SBR), segundo recomendações da União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC), sendo empregadas as equações (3), (4), (5) e (6) (IUPAC, 1978).

$$\text{BEC} = \text{Cr} / \text{SBR}$$

Equação 3

$$\text{SBR} = (I_p - I_b) / I_b \quad \text{Equação 4}$$

$$\text{LOD} = (3 \times \text{BEC} \times \text{RSD}) / 100 \quad \text{Equação 5}$$

$$\text{LOQ} = (10 \times \text{BEC} \times \text{RSD}) / 100 \quad \text{Equação 6}$$

em que,

Cr: concentração de um padrão referência multielementar (0,04 mg L⁻¹ para os microelementos e 1,00 mg L⁻¹ para os macroelementos),

I_p é intensidade da concentração do padrão escolhido

I_b a intensidade do branco analítico da curva de calibração.

Para o cálculo dos valores de LOD e LOQ foram considerados os desvios padrão relativos (RSD) da medida de dez brancos analíticos. Os resultados obtidos para BEC, LOD e LOQ estão apresentados na Tabela 10.

Tabela 10 - Valores calculados para BEC, LOD e LOQ, visando determinação dos analitos por ICP OES, após decomposição em bloco digestor fechado (n=10) e comparação com outros estudos.

Analito	BEC	LOD (µg g ⁻¹)*	LOQ (µg g ⁻¹)*	Correia <i>et al.</i> (2017)	Costa <i>et al.</i> (2018)	Tarantino (2012)
Ba	0,002	0,1	0,3	0,2	**	**
Ca	0,2	3,3	11	19	27	5
Co	0,001	0,012	0,06	**	**	**
Cr	0,0003	0,03	0,09	**	**	**
Cu	0,0066	0,1	0,3	0,7	0,7	0,3
Fe	0,011	0,1	0,4	1,3	**	0,3
K	0,05	0,7	2,4	10	45	2,3
Mg	0,03	0,5	1,6	2,4	2	7,7
Mn	0,0002	0,005	0,01	0,2	0,4	0,3
Na	0,08	0,9	3,1	**	**	**
P	0,004	0,3	1,0	12	7	2,2
Pb	0,02	0,6	2,0	**	**	**
Sr	0,0002	0,002	0,005	**	**	**
Zn	0,005	0,1	0,4	0,7	0,7	0,6

*Considerando uma massa de cerca de 500 mg de amostra e um volume final de 14 mL após a decomposição; ** valores não disponíveis.

Os valores de LOQ ($\mu\text{g g}^{-1}$) variaram de 0,005 para Sr e 11 para Ca. Estes valores foram inferiores para Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, P e Zn quando comparado com os valores obtidos por Correia *et al.* (2017) e Costa *et al.* (2018), exceto para Ba, que apresentou valores superiores quando comparados com o resultado apresentado por Correia *et al.* (2017). Em relação aos valores apresentados por Tarantino (2012), os valores de LOQ encontrados neste trabalho para Ca foram maiores. Em contrapartida, para Mg, Mn, P e Zn, foram encontrados menores valores. Por fim, para os elementos Cu, Fe e K foram obtidos LOQ concordantes.

É importante ressaltar que o método desenvolvido por Costa *et al.* (2018) foi de análise direta, enquanto Correia *et al.* (2017) e Tarantino (2012) fizeram decomposição ácida das amostras avaliadas empregando radiação por micro-ondas. Os diferentes valores de limites encontrados podem estar associados aos diferentes tipos de procedimentos para preparo das amostras e configuração dos equipamentos empregados nos trabalhos supracitados.

4.2.4.3 Faixa linear de trabalho

Para a análise quantitativa de elementos em amostras de alimentos empregando a técnica ICP OES é necessária a execução de uma curva de calibração analítica multielementar, considerando as faixas concentração esperadas na amostra. Assim, as concentrações das soluções estoque variaram de 0,02 mg L^{-1} até 5,00 mg L^{-1} para Ba, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Pb, Sr e Zn e de 0,5 mg L^{-1} até 50,00 mg L^{-1} para Ca, K, Mg, Na e P.

Para quantificação do DOC, as soluções estoques variaram entre 100 mg L^{-1} até 5000 mg L^{-1} . Na Tabela 11 estão apresentados alguns parâmetros obtidos a partir das curvas analíticas, tais como: coeficiente de determinação e as equações da reta para os elementos estudados, considerando as linhas de emissão utilizadas neste trabalho. A faixa de trabalho para cada analito variou dos limites de quantificação até o nível de concentração mais elevado da curva analítica, sendo linear em toda a faixa de concentração.

Tabela 11 - Equação da reta e coeficiente de determinação para os elementos determinados por ICP OES, nas amostras digeridas.

Elemento	Faixa de concentração (mg L ⁻¹)	Equação da reta	Coeficiente de Determinação
Ba	0,02 – 5,00	$y = 1080114x + 8885$	0,9994
C	100 – 5000	$y = 196x + 20091$	0,9914
Ca	0,5 – 50,0	$y = 115650x + 354821$	0,9900
Co	0,02 – 5,00	$y = 4178x - 298$	0,9987
Cr	0,02 – 5,00	$y = 3256x + 107$	0,9986
Cu	0,02 – 5,00	$y = 13811x + 306$	0,9991
Fe	0,02 – 5,00	$y = 14376x + 814$	0,9988
K	0,5 – 50,0	$y = 4683x + 4229$	0,9992
Mg	0,5 – 50,0	$y = 5149x + 334$	0,9989
Mn	0,02 – 5,00	$y = 31297x + 989$	0,9990
Na	0,5 – 50,0	$y = 64976x + 16015$	0,9991
P	0,5 – 50,0	$y = 360x + 65$	0,9988
Pb	0,02 – 5,00	$y = 576x + 40$	0,9988
Sr	0,02 – 5,00	$y = 80409x + 662$	0,9996
Zn	0,02 – 5,00	$y = 9192x + 201$	0,9990

Os coeficientes de correlação obtidos para os elementos químicos avaliados foram maior do que 0,99, com valores mínimos aceitáveis pela ANVISA (BRASIL, 2003).

4.2.4.4 Precisão

Para avaliar a precisão, foram digeridas dez réplicas de uma mesma amostra e os analitos foram determinados por ICP OES. A precisão foi avaliada em termo de repetitividade e expressa em desvio padrão relativo (RSD%), para n=10. Dessa forma, os valores de RSD% obtidos foram menores ou iguais a 5% para todos os elementos químicos avaliados. Segundo a ANVISA, valores de precisão aceitáveis devem ser iguais ou inferiores a 5% (BRASIL, 2003). Para Ba, Co, Cr, Cu, Pb, Sr e Zn a precisão foi avaliada a partir da análise do material de referência certificado (n = 3), pois a amostra selecionada para o teste de repetitividade apresentou valores abaixo do LOQ do método para estes elementos (SOUZA *et al.*, 2014)

4.2.4.5 Avaliação da exatidão do método proposto

Para a avaliação da exatidão foi empregado o material de referência certificado de farinha de trigo (NIST SRM 1567a). O uso do SRM de farinha de trigo pode ser considerado adequado devido ao elevado teor de carboidrato, cerca de 75%, presente nesse tipo de alimento, segundo a TBCA (2019). Os valores obtidos a partir da análise do SRM variaram entre $83 \pm 3\%$ para K e $119 \pm 1\%$ para Fe, conforme apresentado na Tabela 12.

Os percentuais de recuperação para o material de referência apresentaram boas concordâncias, estando dentro da faixa de 90 a 110%, conforme os critérios sugeridos pela AOAC, exceto para Fe (119%) e K (83%) (AOAC, 2016). A faixa aceitável de percentual de recuperação, segundo as recomendações da AOAC, varia conforme a concentração do analito na amostra.

A exatidão do método proposto também foi avaliada empregando-se ensaios de adição e recuperação, em três níveis de concentração. Os valores de percentuais de recuperação estão apresentados na Tabela 13.

Tabela 12 - Comparação entre os valores certificados e observados para SRM 1567a, farinha de trigo.

Elementos	Valor certificado ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Valor encontrado ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Recuperação (%)
Ca	191 ± 4	177 ± 20	92 ± 9
Cu	$2,1 \pm 0,4$	$2,0 \pm 0,1$	93 ± 2
Fe	$14,1 \pm 0,5$	$16,7 \pm 0,2$	119 ± 1
Mn	$9,4 \pm 0,9$	$9,10 \pm 0,03$	$97,1 \pm 0,3$
Mg	400 ± 20	391 ± 7	98 ± 2
P	1340 ± 30	1368 ± 25	102 ± 2
K	1650 ± 20	1365 ± 40	83 ± 3

Resultados expressos como média \pm intervalo de confiança, n = 3.

Tabela 13 - Valores de percentuais para teste de adição e recuperação em 3 níveis de concentração para macro e microelementos empregando determinação por ICP OES.

Elementos	Recuperação (%)		
	Níveis de concentração (mg L ⁻¹)		
	I	II	III
	0,1	0,5	1
Ba	104 ± 6	109 ± 4	106 ± 1
Co	102 ± 6	103 ± 3	96 ± 6
Cr	84 ± 7	102 ± 4	97 ± 5
Cu	81 ± 5	107 ± 4	100 ± 6
Fe	103 ± 6	101 ± 7	103 ± 4
Mn	84 ± 6	103 ± 4	98 ± 6
Pb	82 ± 9	106 ± 5	97 ± 6
Sr	119 ± 2	108 ± 4	97 ± 5
Zn	92 ± 3	104 ± 3	97 ± 5
	0,5	1,0	2,0
P	108 ± 5	107 ± 1	104 ± 7
	5,0	7,5	10,0
Ca	106 ± 7	99 ± 6	103 ± 5
K	98 ± 1	99 ± 7	96 ± 4
Mg	98 ± 3	100 ± 3	91 ± 6
Na	98 ± 2	100 ± 4	91 ± 7

Resultados expressos como média ± desvio padrão, n = 3.

Os percentuais de recuperação variaram entre 81 ± 5% para Cu e 119 ± 2% para Sr, no nível I; 99 ± 6% para Ca e 109 ± 4% para Ba, no nível II e, no nível III, a variação foi de 91 ± 6% para Mg e 106 ± 1% para Ba. Os níveis de concentração utilizados para os ensaios de adição e recuperação foram estabelecidos a partir de uma análise preliminar de uma amostra de fécula, escolhida aleatoriamente, por ICP OES. As distintas faixas de concentração dos analitos, conforme apresenta Tabela 13, foram definidas a partir da concentração de cada analito presente na amostra (INMETRO, 2016).

Com base nos resultados dos parâmetros de méritos, foi possível inferir que o método proposto foi adequado para avaliação da composição mineral de amostras de derivados de mandioca.

4.2.5 Resultados de concentração dos analitos nas amostras de derivados de mandioca

A Tabela 14 apresenta os resultados de concentração dos analitos nas amostras após emprego do método analítico validado. Da análise desses resultados, é possível observar uma dispersão nos resultados de concentração de todos os elementos quantificados nas amostras. Essa inferência também foi feita por Mohan *et al.* (2019) ao realizar um estudo da composição bioquímica, mineral e proximal em 19 variedades de mandioca cultivadas na Índia. Provavelmente, essa variação de concentração seja influenciada pelo tipo de solo e manejo agrícola, visto que a mandioca é uma planta que se desenvolve bem em solos diversos. Além disso, a falta de padronização no seu processamento também pode ser outro fator relevante. (THOMAS, 2015).

Tabela 14 - Concentração, em $\mu\text{g g}^{-1}$, para amostras secas de fécula e mandioca. Determinação por ICP OES (média \pm desvio padrão, n=3).

Amostras	Ba	Ca	Cu	Fe	K	Mg	Mn	Na	P	Sr
Fécula										
TRDG	<0,32	440 \pm 33	<0,34	<0,39	207 \pm 8	27 \pm 5	0,550 \pm 0,006	<3,1	75 \pm 3	1,32 \pm 0,02
TL	0,45 \pm 0,05	114 \pm 15	<0,34	111 \pm 3	836 \pm 54	13 \pm 1	<0,02	67 \pm 6	68 \pm 3	0,43 \pm 0,06
TDL	1,06 \pm 0,08	286 \pm 22	<0,34	2,04 \pm 0,19	1771 \pm 64	43 \pm 4	0,24 \pm 0,04	22 \pm 3	112 \pm 6	0,97 \pm 0,09
FR	<0,32	356 \pm 16	<0,34	6,03 \pm 1,13	765 \pm 18	80 \pm 3	0,83 \pm 0,02	13,9 \pm 0,9	147 \pm 2	0,97 \pm 0,03
TDT	<0,32	298 \pm 7	<0,34	<0,39	325 \pm 5	55 \pm 1	0,59 \pm 0,03	18,2 \pm 0,2	107 \pm 3	1,46 \pm 0,06
TBA	0,54 \pm 0,02	56 \pm 5	<0,34	5,54 \pm 0,31	870 \pm 40	22 \pm 1	<0,02	98 \pm 3	80 \pm 3	0,07 \pm 0,01
TFDM	0,83 \pm 0,03	379 \pm 41	<0,34	<0,39	354 \pm 32	35 \pm 1	0,550 \pm 0,001	71 \pm 9	98 \pm 6	1,22 \pm 0,12
TAF	<0,32	174 \pm 12	<0,34	1,45 \pm 0,17	819 \pm 42	13 \pm 1	0,23 \pm 0,03	52 \pm 3	89 \pm 3	0,087 \pm 0,003
TUP	2,60 \pm 0,13	265 \pm 1	<0,34	<0,39	1246 \pm 8	63 \pm 2	0,504 \pm 0,004	42 \pm 1	155 \pm 9	1,95 \pm 0,09
TLA	<0,32	334 \pm 45	<0,34	<0,39	265 \pm 26	65 \pm 9	<0,02	<3,1	150 \pm 19	2,95 \pm 0,50
TDI	<0,32	542 \pm 53	<0,34	<0,39	275 \pm 26	12 \pm 2	<0,02	<3,1	58 \pm 5	<0,005
TQD	<0,32	276 \pm 46	<0,34	1,75 \pm 0,22	437 \pm 42	40 \pm 1	0,33 \pm 0,03	71 \pm 1	144 \pm 14	0,86 \pm 0,12
TBB	<0,32	540 \pm 58	0,93 \pm 0,16	2,27 \pm 0,13	7362 \pm 276	533 \pm 65	3,27 \pm 0,43	73 \pm 6	1774 \pm 160	3,85 \pm 0,62
TP	<0,32	119 \pm 22	<0,34	<0,39	422 \pm 37	37 \pm 6	<0,02	<3,1	108 \pm 16	<0,005
PC	<0,32	25 \pm 1	<0,34	8,31 \pm 0,10	626 \pm 19	56 \pm 3	<0,02	25 \pm 1	106 \pm 5	<0,005
TR	<0,32	<11	<0,34	<0,39	233 \pm 22	38 \pm 6	<0,02	<3,1	71 \pm 11	<0,005
FEIL	<0,32	<11	<0,34	<0,39	632 \pm 25	9,8 \pm 0,5	<0,02	<3,1	110 \pm 1	<0,005
Mandioca										
MMSEF	<0,32	398 \pm 45	1,3 \pm 0,2	1,7 \pm 0,3	6295 \pm 7	463 \pm 28	3,05 \pm 0,11	69 \pm 6	1263 \pm 69	3,2 \pm 0,1
MMTRDG	4,22 \pm 0,04	96 \pm 6	<0,34	3,60 \pm 0,09	156 \pm 7	39 \pm 2	<0,02	<3,1	111 \pm 4	0,62 \pm 0,02
Outros*										
SOB	<0,32	15 \pm 1	<0,34	<0,39	710 \pm 9	38,3 \pm 0,7	0,220 \pm 0,003	4,7 \pm 0,2	132 \pm 2	<0,005
MMAEF	<0,32	440 \pm 6	0,48 \pm 0,60	0,99 \pm 0,06	4012 \pm 80	220 \pm 1	1,38 \pm 0,02	25 \pm 2	598 \pm 4	5,46 \pm 0,06

*Outros: sobrenadante e resíduo obtidos após a extração da fécula

Os elementos essenciais K, P e Mg foram quantificados em todas as amostras analisadas. Cálcio foi quantificado em quase todas as amostras, exceto em FEIL e TR, sendo estas amostras de fécula de mandioca. A distribuição da concentração média dos macronutrientes estudados segue a ordem: K > Ca > P > Mg. A mandioca extrai nutrientes do solo de acordo com suas exigências nutricionais, a qual segue essa sequência (FIALHO; VIEIRA, 2013a). Foi possível verificar que Na não foi quantificado com a mesma regularidade que os macronutrientes supracitados, sendo determinado em 14 das 21 amostras analisadas. Segundo a literatura, geralmente, as concentrações de K nos alimentos vegetais são superiores às de Na (SANTOS *et al.*, 2014). Em altas concentrações, este elemento pode causar desequilíbrio nutricional em decorrência da redução da disponibilidade de K, Ca e Mg, comprometendo o crescimento e desenvolvimento das plantas (FREIRE *et al.*, 2013).

Considerando os microelementos estudados, Sr ($<0,005 - 3,85 \mu\text{g g}^{-1}$) foi quantificado em 15 do total de amostras avaliadas, seguido de Mn, Ba e Cu. Mesmo sendo quantificado em apenas 12 amostras, Fe apresentou-se em maior concentração que os demais microelementos. O elemento Cu foi quantificado em apenas três amostras, uma de fécula (TBB), na amostra de mandioca, (MMSEF) e na amostra de massa residual (MMAEF), ambas obtidas no processo de extração da fécula realizado no laboratório.

4.2.6 Comparação de resultados para as amostras de fécula e mandioca obtidas com outros trabalhos da literatura

Na Tabela 15 estão apresentadas as concentrações médias obtidas para os analitos avaliados neste trabalho para as amostras de fécula, em comparação com outros estudos disponíveis na literatura. Foram selecionados trabalhos que avaliaram amostras de mandioca, farinha e fécula de mandioca.

Tabela 15 - Comparação entre as concentrações médias ($\mu\text{g g}^{-1}$) deste trabalho com estudos de amostras similares.

Autor	Ba	Ca	Cu	Fe	K	Mg	Mn	Na	P	Sr	Preparo	Técnica
Este trabalho ^a	0,63	280	0,93	17,3	1026	67	0,79	50,3	203,1	1,34	Bloco digestor	ICP OES
TBCA (2019) ^a	n.d.	227	Tr	4,2	312	34	0,0007	13,1	312	n.d.	n.d.	ICP OES
Este trabalho ^b	4,22	247	0,78	3,6	3225	207	2,34	69	687	1,91	Bloco digestor	ICP OES
TBCA (2019) ^b	n.d.	138	0,6	2,5	1880	404	0,0005	19,5	267	n.d.	n.d.	ICP OES
Costa (2012) ^c	n.d.	92,7	n.d.	14,1	284,2	26,5	n.d.	8,7	248,4	n.d.	Micro-ondas	ICP OES
Correia <i>et al.</i> (2017) ^c	3,27	318	0,53	10,6	2660	370	1,85	n.d.	374	4,75	Micro-ondas	ICP OES e ICP MS
Costa <i>et al.</i> (2018) ^c	n.d.	776	3	6,6	3202	837	5,5	n.d.	559	n.d.	Bloco digestor	LIBS
Mohan <i>et al.</i> (2019) ^c	n.d.	1502	3,18	120	6500	740	22	n.d.	800	n.d.	Via úmida	FAAS

a: fécula de mandioca, b: mandioca, c: farinha de mandioca, n.d.: não disponível, Tr: traço

Os valores de concentração encontrados para Ba variaram entre $<0,32$ e $2,60 \mu\text{g g}^{-1}$, sendo a média da concentração para a fécula $0,63 \mu\text{g g}^{-1}$. Os valores encontrados por *Correia et al.* (2017) ($3,27 \mu\text{g g}^{-1}$), em um estudo realizado em amostras de farinha de mandioca, foram cerca de 5 vezes maiores que os obtidos neste trabalho para fécula e de mesma ordem de grandeza para a amostra de mandioca ($4,22 \mu\text{g g}^{-1}$). Essa variação pode ser justificada pelas diferentes etapas de processamento da mandioca em fécula e farinha. O processo de obtenção da fécula requer a utilização de água na extração, contribuindo para a perda de nutrientes por lixiviação. Normalmente, a farinha obtida a partir da mandioca possui os mesmos componentes que as matérias-primas, exceto o teor de umidade. Dessa forma, as perdas de nutrientes são menores quando comparado com o processo de extração da fécula, conforme apresenta a Figura 3 (JÚNIOR; ALVES, 2014).

Os resultados para Ca ($<11 - 542 \mu\text{g g}^{-1}$) apresentaram uma média de concentração para fécula e mandioca de 280 e 247, respectivamente. Em comparação com a TBCA, esses valores são de mesma ordem de grandeza tanto para a fécula quanto para a mandioca. Entretanto, as concentrações de Ca obtidas por *Mohan et al.* (2019) em um estudo realizado em amostras de mandioca foram cerca de cinco vezes maiores que os valores obtidos neste estudo. Em comparação com as concentrações apresentadas por *Costa* (2012), em amostras de farinha de mandioca, os valores médios obtidos neste trabalho apresentam uma proporção de até três vezes mais.

Os valores de concentração para P variaram entre $58 - 1774 \mu\text{g g}^{-1}$, apresentando uma concentração média para a fécula ($203 \mu\text{g g}^{-1}$) e para mandioca ($687 \mu\text{g g}^{-1}$) da mesma ordem de grandeza quando comparado com os valores encontrados na literatura (Tabela 15). Esse comportamento foi similar para as concentrações médias obtidas para K (156 e $7362 \mu\text{g g}^{-1}$) tanto para a fécula ($1026 \mu\text{g g}^{-1}$) quanto para mandioca ($3225 \mu\text{g g}^{-1}$), exceto para o valor relatado pela TBCA ($312 \mu\text{g g}^{-1}$), para fécula de mandioca, e para os valores médios apresentados por *Costa* (2012), para farinha de mandioca. O solo é a principal fonte de minerais para vegetais como a mandioca, influenciando também a composição mineral de seus derivados. Sendo assim, a variação de concentração de minerais em amostras de derivados de mandioca, provavelmente, pode ser atribuído às distintas regiões de cultivo (*CORREIA et al.*, 2017).

As concentrações obtidas para Na variaram de $< 3,1$ e $98 \mu\text{g g}^{-1}$, para a fécula, e, para a mandioca, a variação foi de $< 3,1$ e $69 \mu\text{g g}^{-1}$. Os teores médios para esse elemento foram cerca de 4 vezes maiores que os valores apresentados pela TBCA, tanto para a fécula ($50,3 \mu\text{g g}^{-1}$) quanto para a mandioca ($69 \mu\text{g g}^{-1}$).

As concentrações obtidas de Fe variaram de $< 0,39$ e $111 \mu\text{g g}^{-1}$, apresentando uma média de concentração para as amostras de fécula ($17,3 \mu\text{g g}^{-1}$) concordante com os valores médios apresentados por Costa (2012) ($14,1 \mu\text{g g}^{-1}$). Entretanto, as concentrações obtidas por Mohan *et al.* (2019) são 7 vezes maiores quando comparado com os valores obtidos neste trabalho.

Para Mg, a variação de concentração obtida foi entre $9,8$ e $533 \mu\text{g g}^{-1}$ para a fécula, com uma concentração média ($67 \mu\text{g g}^{-1}$) aproximadamente duas vezes maiores que a relatada pela TBCA. Para a mandioca, a faixa de concentração foi de 39 e $374 \mu\text{g g}^{-1}$, com teor médio ($207 \mu\text{g g}^{-1}$) de mesma ordem de grandeza que os obtidos pela maioria dos trabalhos apresentados na Tabela 15, exceto pela concentração média encontrada por Costa (2012).

Os reduzidos teores obtidos para Zn, Mn e Cu em amostras de mandioca, também pode ter sido influenciada pelas práticas de manejo agrícola, destacando-se a calagem, em que se aplica calcário no solo com a finalidade de aumentar os teores de Ca e Mg no mesmo, aumentando o pH do solo, o que contribui para diminuição da disponibilidade dos referidos microelementos (THOMAS, 2015). Para os elementos Co (0,062), Cr (0,0868), Zn (0,435) e Pb (1,9), os resultados obtidos encontraram-se abaixo do LOQ.

4.3 CONSIDERAÇÕES PARCIAIS

Nesta etapa, foi possível estabelecer uma condição para decomposição de amostras de derivados de mandioca com o emprego de um planejamento experimental de dois níveis, em bloco digestor em sistema fechado e determinação por ICP OES. O método desenvolvido apresentou boa precisão e exatidão, além de baixos limites de quantificação, o que permitiu a determinação de Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P e Sr.

Com o objetivo de ampliar as informações acerca da composição mineral de derivados de mandioca, foi realizado um estudo complementar visando quantificar alguns elementos químicos que ficaram abaixo do LOQ nesta etapa (Co, Cr, Zn e Pb), além de elementos essenciais que apresentaram baixos valores de concentração (Cu e Mn). Neste estudo também foram avaliados os seguintes elementos químicos: As, Cd, Se e V. Dessa forma, para a realização da segunda etapa deste trabalho foi empregada a técnica ICP-MS, devido aos baixos limites de quantificação alcançados nesta técnica.

5. DETERMINAÇÃO DE As, Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Pb, Se, V e Zn EM FÉCULA DE MANDIOCA EMPREGANDO ICP-MS

5.1 EXPERIMENTAL

5.1.1 Reagentes, materiais utilizados, soluções e amostras

Soluções de calibração/verificação contendo Li, In, Co, Ba, Ce e As na concentração de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ foram preparadas para otimização diária do equipamento. Para a análise das amostras, uma solução de trabalho multielementar contendo As, Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Pb, Se, V e Zn foi preparada utilizando soluções estoque (SpecSol®) de concentração de 1000 mg L^{-1} . Essas soluções também foram utilizadas tanto para o estudo de possíveis interferências quanto para avaliação da exatidão na realização de teste de adição e recuperação.

Escândio, Ge, Tl e Rh foram empregados como padrões internos em todas as soluções analisadas (amostras, material de referência certificado, soluções da curva analítica e branco analítico). A concentração final dos padrões internos na amostra digerida foi de $2 \mu\text{g L}^{-1}$.

A concentração ácida dos digeridos, bem como das soluções da curva analítica foi ajustada para 2% (v v⁻¹), a fim de atender uma limitação técnica do equipamento e contribuir para a redução de possíveis interferências. Desta forma, as amostras foram diluídas dez vezes com água deionizada antes das análises.

Uma solução de limpeza de ácido nítrico destilado 2% (v v⁻¹) foi utilizada no intervalo de análise de cada amostra com o objetivo de reduzir possíveis efeitos de memória. As análises no modo com Tecnologia de Célula de Colisão (CCT) foram realizadas empregando-se 8% (v v⁻¹) H₂ em He como gás de colisão. Também foi utilizado gás argônio (White Martins, São Paulo, Brasil) de pureza 99,996% em ambos os modos de análise. Todas as soluções foram preparadas em capela de fluxo laminar para minimizar contaminações externas. Nesta etapa foram analisadas as mesmas amostras de fécula e de mandioca digeridas em bloco digestor em sistema fechado, conforme descrito na etapa 4.1.4 e 4.1.7.

5.1.2 Instrumentação

Nesta etapa do trabalho foi empregado um espectrômetro de massas com plasma indutivamente acoplado, *Thermo Fischer Scientific* (Waltham, EUA), modelo X série II, quadrupolo, configurado com um nebulizador concêntrico e uma câmara de nebulização com sistema Peltier com pérola de impacto, além de uma tocha de quartzo de parte única e injetor de quartzo de 1,5 mm. O instrumento foi operado nos modos normal e empregando CCT. Para a seleção dos isótopos e do modo de análise foram empregados dois modos de aquisição de sinal, a saber: modo de monitoramento das razões m/z, do inglês *Peak Jump* e modo de varredura (*survey run*) para visualização de possíveis interferências poliatômicas e isobáricas.

As condições operacionais empregadas na leitura das amostras estão resumidas na tabela 16:

Tabela 16 - Condições operacionais de medida do ICP – MS no modo normal.

Parâmetros	
Radio frequência do gerador (MHz)	1350
Câmara de nebulização	Ciclônica
Nebulizador	Concêntrico
Modo de aquisição de dados	Peakjump e survey
Tempo de integração de sinal (ms)	50
Vazão do gás auxiliar (L min ⁻¹)	1,5
Vazão do gás do nebulizador (L min ⁻¹)	0,8 – 0,9
Vazão de bombeamento da amostra (L min ⁻¹)	0,7
Equações de correção	⁷⁵ As = (-3.13220 * ⁷⁷ Ar C) [#] ⁸² Se = (-1.00100 * ⁸³ Kr) [#]
Cone de amostragem e skimmer	Níquel
Sweeps	100
Dwell Time (ms)	10
Réplicas	3

[#]Disponível pelo fabricante

Para as análises no modo CCT, foi necessário aguardar 10 minutos após abertura do gás da célula de colisão, para estabilização dos sinais e os seguintes parâmetros foram adotados conforme Tabela 17.

Tabela 17 - Condições operacionais de medida do ICP-MS no modo CCT.

Parâmetros	
Pole Bias (V)	-10
Hexapole Bias (V)	-5
Focus (V)	0 – 5
Gás CCT (L min ⁻¹)	4 – 5

Nas análises por ICP-MS, alguns parâmetros foram verificados diariamente com o objetivo de alcançar uma condição de compromisso que minimizasse as interferências e melhorasse os sinais analíticos para uma determinação multielementar. Os parâmetros verificados antes das análises foram as razões m/z dos isótopos ⁷Li, ¹¹⁵In, ²³⁸U, ⁷⁵As para análise no modo CCT, além dos parâmetros óxidos (¹⁵⁶Ce/¹⁴⁰Ce) e dupla carga (¹³⁸Ba⁺⁺/¹³⁸Ba⁺), de acordo com recomendações do fabricante, atendendo uma ampla faixa de razões m/z. Condições consideradas ótimas exigiam os seguintes níveis de contagens, a saber: ⁷Li > 60.000 cps, ¹¹⁵In > 400.000 cps, ²³⁸U > 800.000 cps, ⁷⁵As > 15.000 cps. Para óxidos e dupla carga eram aceitáveis razões menores que 2% (THERMO FISHER, 2007).

Em situações de persistência de baixas contagens, primeiramente, realizava-se uma calibração manual, variando os seguintes parâmetros: tensão das lentes iônicas, vazão de gás de nebulização, alinhamento X, Y e Z da tocha usando uma solução de ajuste contendo 10 µg L⁻¹ de ⁷Li, ¹¹⁵In, ²³⁸U, ⁷⁵As (CCT) em 2% (v v⁻¹) de HNO₃. Por fim, havendo constância de baixos sinais, uma calibração automática era realizada. A otimização de óxidos e dupla carga também eram feitas variando a vazão de nebulização e a potência de rádio frequência.

5.1.3 Investigação de interferências empregando os modos de análise normal e CCT

Nesta etapa, foi realizado um teste com a finalidade de definir o modo de análise (CCT ou normal) e os isótopos utilizados na análise das amostras. Para a seleção dos isótopos e dos modos de análise foi realizada uma triagem, em que, primeiramente, foram avaliadas as abundâncias isotópicas e os potenciais interferentes, de acordo com o programa computacional do equipamento e com informações obtidas na literatura. Posteriormente, foi realizado um teste empregando um SRM de farinha de trigo 1567a da NIST em ambos os modos, além de testes de adição e recuperação em três níveis de concentração ($0,5 \mu\text{g L}^{-1}$; $1,0 \mu\text{g L}^{-1}$ e $2,0 \mu\text{g L}^{-1}$). Para Zn, o teste para seleção dos isótopos, bem como a avaliação da exatidão foram realizados apenas com o ensaio do SRM. Foram selecionados pelo menos dois isótopos estáveis de cada elemento, de acordo com as maiores abundâncias isotópicas, a saber: ^{50}V , ^{51}V , ^{52}Cr , ^{53}Cr , ^{55}Mn , ^{59}Co , ^{63}Cu , ^{64}Zn , ^{65}Cu , ^{66}Zn , ^{75}As , ^{78}Se , ^{80}Se , ^{82}Se , ^{111}Cd , ^{114}Cd , ^{206}Pb , ^{207}Pb , ^{208}Pb .

5.2 APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

5.2.1 Estudo das condições experimentais para seleção dos isótopos e modo de análise

Primeiramente, foi realizada uma pesquisa, tanto no próprio programa computacional do equipamento quanto na literatura (MONTASER; GOLIGHTLY, 1992; MAY; WIEDMEYER, 1998; THOMAS, 2013) das abundâncias isotópicas dos elementos estudados e de suas potenciais interferências, levando em consideração as possíveis fontes dessas interferências e as informações encontradas na literatura. Apesar das amostras terem sido submetidas a um procedimento de decomposição com o uso de HNO_3 , foi possível inferir que carbono e nitrogênio residuais podem atuar como fontes de interferências poliatômicas. Dentre outras possíveis espécies, Ar e O também podem atuar como interferentes, além dos macroatômicos K, Ca, Mg e P, presentes nas

amostras de derivados de mandioca. A Tabela 18 apresenta os isótopos estudados, suas abundâncias naturais e um resumo de suas interferências.

Tabela 18 - Isótopos estudados, suas abundâncias naturais e interferências.

Isótopo	Abundância (%)	Interferentes
⁵⁰ V	0,24	³⁶ Ar ¹⁴ N(0,3%)
⁵¹ V	99,76*	¹² C ³⁹ K(92,0%), ¹⁶ O ³⁵ Cl
⁵² Cr	83,76*	⁴⁰ Ar ¹² C(98,5%), ³⁶ Ar ¹⁶ O(0,3%), ¹² C ⁴⁰ Ca(95,8%), ³⁵ Cl ¹⁶ O ¹ H
⁵³ Cr	9,55	⁴⁰ Ar ¹³ C(1,1%), ¹⁷ OH ³⁶ Ar(0,3%), ¹⁴ N ³⁹ K(92,7%),
⁵⁵ Mn	100,00	⁴⁰ Ar ¹⁵ N(0,4%), ⁵⁴ Fe(66,9%)
⁵⁹ Co	100,00	¹⁴ N ⁴⁵ Sc(99,6%), ⁴⁰ Ar ⁹ F(99,6%)
⁶³ Cu	69,10	⁴⁰ Ar ²³ Na(99,6%), ¹² C ⁵¹ V(98,7%)
⁶⁴ Zn	48,8	⁴⁰ Ar ²⁴ Mg(78,3%), ¹² C + ⁵² Cr(82,8%)
⁶⁵ Cu	30,9	⁴⁰ Ar ²⁵ Mg(10,1%), ¹² C ⁵³ Cr(9,4%)
⁶⁶ Zn	27,9	¹² C ⁵⁴ Fe(5,8%), ¹⁴ N ⁵² Cr(83,5%), ⁴⁰ Ar ²⁶ Mg(11,2%)
⁷⁵ As	100,00	¹⁶ O ⁵⁹ Co(99,8%), ⁴⁰ Ar ³⁵ Cl(75,1%), ¹² C ⁶³ Cu(68,3%), ¹⁷ OH ⁵⁸ Ni(67,6%), ¹ H ⁷⁴ Ge(36,5%)
⁷⁸ Se	23,52	¹⁴ N ⁶⁴ Zn(48,7%), ¹² C ⁶⁶ Zn(27,5%), ¹ H ⁷⁷ Se(7,5%)
⁸⁰ Se	49,96	⁸⁰ Kr(2,3%), ⁴⁰ Ar ⁴⁰ Ar(99,2%), ⁴⁰ Ar ⁴⁰ Ca(96,5%), ¹⁷ OH ⁶³ Cu(68,9%), ¹ H ⁷⁹ Br(50,6%), ¹⁶ O ⁶⁴ Zn(48,8%), ¹⁴ N ⁶⁶ Zn(27,7%), ¹² C ⁶⁸ Zn(18,4%)
⁸² Se	8,84*	⁸² Kr(11,6%), ¹ H ⁸¹ Br(49,4%), ¹⁷ OH ⁶⁵ Cu(30,8%), ¹⁶ O ⁶⁶ Zn(27,7%), ¹² C ⁷⁰ Ge(20,3%), ¹⁴ N ⁶⁸ Zn(18,5%)
¹¹¹ Cd	12,86*	¹² C ⁹⁹ Tc(98,9%), ⁴⁰ Ar ⁷¹ Ga(39,6%), ¹⁷ OH ⁹⁴ Zr(17,4%), ¹⁶ O ⁹⁵ Mo(14,7%), ¹ H ¹¹⁰ Pd(13,5%), ¹² C ⁹⁹ Ru(12,7%),
¹¹⁴ Cd	28,81	¹¹⁴ Sn(0,7%), ⁴⁰ Ar ⁷⁴ Ge(36,4%), ¹² C ¹⁰² Ru(31,0%), ¹⁶ O ⁹⁸ Mo(23,9%), ¹⁴ N ¹⁰⁰ Ru(12,7%), ¹ H ¹¹³ Cd(12,3%)
²⁰⁶ Pb	25,15	¹ H ²⁰⁵ Tl(70,5%),
²⁰⁷ Pb	21,10	¹⁴ N ¹⁹³ Ir(61,3%), ¹⁹¹ Ir ¹⁶ O+
²⁰⁸ Pb	52,40*	¹⁶ O ¹⁹² Os(40,9%), ¹⁹² Pt ¹⁶ O

*recomendado pelo fabricante Fonte: Adaptado de May e Wiedmeyer (1998) e Thermo (2007)

Na Tabela 19 e na Figura 14 estão apresentados os percentuais de concordância para Mn, Cu, Zn, Se e Cd obtidos da análise do SRM de farinha de trigo 1567a, os quais variaram entre 72% para Se (m/z 78) e 157% para Cd (m/z 111). Não estão disponíveis

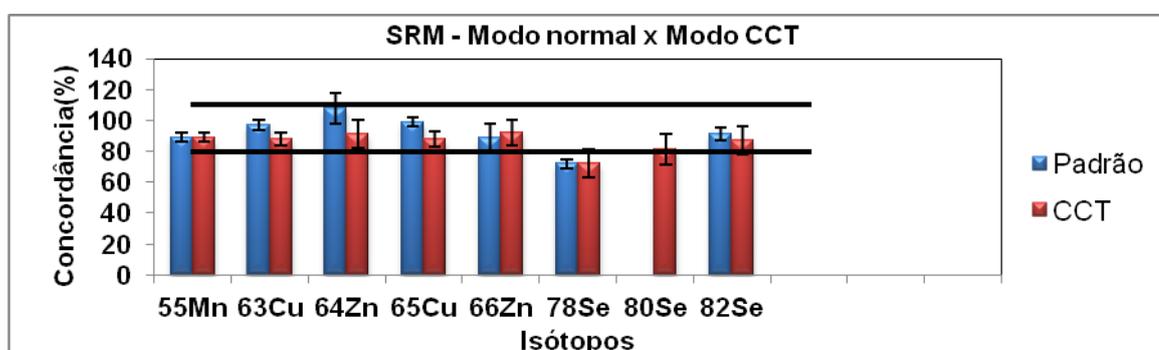
os valores certificados para os elementos químicos As, Co, Cr, Pb e V. Os resultados obtidos mostraram que percentuais de concordância, dentro da faixa recomendada pela AOAC (80-110%), foram encontrados para Mn e Cu, para todos os isótopos selecionados para esses elementos e nos dois modos de análise. Os melhores percentuais de concordância para Se foram obtidos quando o isótopo ^{82}Se foi empregado. Para o elemento Zn, o isótopo 66 apresentou percentuais de concordância satisfatórios nos dois modos de análise, mas o isótopo 64 apresentou apenas no modo CCT. Para as demais condições, os percentuais obtidos estavam abaixo da faixa aceitável. Os valores em negrito, na Tabela 19, destacam os resultados que estão dentro da faixa aceitável.

Tabela 19 - Resultados da análise de SRM de farinha de trigo 1567a.

Isótopo	Valores certificados (ng g ⁻¹)	Valores observados (ng g ⁻¹)		Concordância (%)	
		CCT	Normal	CCT	Normal
^{55}Mn	9400 ± 900	8360 ± 157	8360 ± 157	89 ± 3	89 ± 3
^{63}Cu	2100 ± 200	2045 ± 207	2045 ± 193	88 ± 4	97 ± 3
^{64}Zn	11600 ± 400	10298 ± 973	12577 ± 890	91 ± 9	108 ± 10
^{65}Cu	2100 ± 200	2072 ± 224	2072 ± 199	88 ± 5	99 ± 3
^{66}Zn	11600 ± 400	10368 ± 861	10368 ± 860	92 ± 8	89 ± 9
^{78}Se	1100 ± 200	790 ± 65	790 ± 28	72 ± 9	72 ± 3
^{80}Se	1100 ± 200	917 ± 83	*	81 ± 10	*
^{82}Se	1100 ± 200	998 ± 150	1000 ± 29	87 ± 9	91 ± 4
^{111}Cd	26 ± 2	52 ± 35	40 ± 27	157 ± 180	154 ± 168
^{114}Cd	26 ± 2	53 ± 35	32 ± 28	137 ± 178	122 ± 169

*Não avaliado no modo normal; média ± intervalo de confiança (n=3)

Figura 14 - Resultado de SRM de farinha de trigo 1567a no modo normal e CCT.



O elemento Cd apresentou percentuais de concordância entre $122 \pm 169\%$ (modo normal) e $157 \pm 180\%$ (modo CCT), podendo indicar que as condições empregadas não foram suficientes para a eliminação de possíveis interferências para esse tipo de matriz amostral, mesmo quando a célula de colisão foi utilizada.

Para Zn, foram escolhidas as razões m/z 64 e 66, com abundâncias naturais de 48,6 e 27,9%, respectivamente. Segundo a literatura, o isótopo principal de ^{64}Zn sofre interferência na presença de S e O, formando as seguintes espécies $^{32}\text{S}^{16}\text{O}^{16}\text{O}$.

Na Tabela 20 estão apresentados os resultados obtidos para o ensaio do teste de adição e recuperação, realizado nas amostras de fécula de mandioca, para os analitos estudados. Pode-se verificar que os percentuais de recuperação para as concentrações de V, Mn, As e Se, ao serem utilizadas as razões m/z 51, 55, 75 e 82, respectivamente, estavam dentro da faixa aceitável em ambos os modos de análise e nos três níveis de concentração avaliados. Para Co (m/z 59), Cu (m/z 65), Cd e Pb (todos os isótopos avaliados), os melhores percentuais de recuperação foram obtidos quando o modo normal foi empregado. Os valores de percentuais de recuperação mais adequados estão destacados em negrito (Tabela 20).

Para avaliação da determinação Cr, os isótopos 52 e 53 foram selecionados, os quais possuem abundâncias isotópicas de 83,76% e 9,51%, respectivamente. O isótopo ^{52}Cr tem sido bastante afetado pela espécie poliatômica $^{40}\text{Ar}^{12}\text{C}$ (98,5%), a qual possui uma elevada abundância e, levando em consideração o tipo de gás do plasma e a presença de carbono na amostra, existe uma grande possibilidade dessa interferência ser formada. Sendo assim, determinações de Cr empregando a massa 52 exige algum tipo de correção de interferência (THOMAS, 2013). Os percentuais de recuperação para Cr foram de $87 \pm 28\%$ (m/z 52, modo CCT) e $181 \pm 42\%$ (m/z 52, modo normal). Foi possível observar valores elevados de percentuais de recuperação quando o modo normal foi empregado. Entretanto, as interferências espectrais afetaram significativamente a precisão e exatidão para esse elemento, mesmo com o emprego da célula de colisão.

Tabela 20 - Teste de adição e recuperação em 3 níveis de concentração .

Isótopos	Níveis de concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)					
	0,5	1,0	2,0	0,5	1,0	2,0
	Recuperação (%) – Normal			Recuperação (%) – CCT		
^{50}V	75 ± 7	75 ± 7	129 ± 22	261 ± 195	60 ± 8	175,9 ± 31
^{51}V	101 ± 1	101 ± 1	92 ± 1	109 ± 1	89 ± 1	94 ± 1
^{52}Cr	181 ± 42	121 ± 20	134 ± 21	107 ± 139	104 ± 69	87 ± 28
^{53}Cr	119 ± 55	143 ± 1	126 ± 3	116 ± 144	108 ± 74	93 ± 31
^{55}Mn	103 ± 3	103 ± 3	103 ± 1	103 ± 3	97 ± 3	97 ± 2
^{59}Co	96 ± 1	96 ± 1	94 ± 3	99 ± 1	115 ± 1	114 ± 1
^{63}Cu	83 ± 11	83 ± 11	90 ± 13	73 ± 5	100 ± 2	95 ± 1
^{65}Cu	98 ± 1	98 ± 1	95 ± 2	76 ± 1	104 ± 5	97 ± 1
^{75}As	104 ± 3	104 ± 3	94 ± 3	89 ± 5	101 ± 2	94 ± 2
^{78}Se	203 ± 160	203 ± 141	94 ± 17	106 ± 5	106 ± 3	105 ± 3
^{80}Se	*	*	*	299 ± 200	265 ± 159	92 ± 13
^{82}Se	94 ± 3	94 ± 3	102 ± 5	97 ± 6	105 ± 7	94 ± 3
^{111}Cd	96 ± 2	96 ± 2	108 ± 1	79 ± 1	105 ± 1	94 ± 1
^{114}Cd	106 ± 1	106 ± 1	105 ± 3	72 ± 6	93 ± 4	96 ± 2
^{206}Pb	98 ± 3	98 ± 3	86 ± 1	69 ± 1	87 ± 4	78 ± 1
^{207}Pb	96 ± 3	96 ± 3	86 ± 1	67 ± 1	86 ± 4	79 ± 1
^{208}Pb	98 ± 3	98 ± 3	111 ± 1	67 ± 2	85 ± 5	78 ± 1

*Não disponível no modo normal; Resultados expressos com média ± desvio padrão (n=3).

Para avaliação de Cd, foram selecionados os isótopos ^{111}Cd e ^{114}Cd , com abundâncias naturais de 12,86% e 28,81%, respectivamente. Para ^{114}Cd , existe uma interferência isobárica de Sn (0,65%), o que implica que se houver qualquer quantidade de Sn na amostra a quantificação de Cd usando essa razão m/z pode ficar comprometida. Ainda foi relatado por Vrijens *et al.*, (2011) que espécies de K, tais como $^{39}\text{K}^{16}\text{O}_2^{1}\text{H}$, $^{40}\text{Ar}^{39}\text{K}^{16}\text{O}_2$, podem ser uma causa de interferência no isótopo ^{111}Cd . Os referidos autores constataram que as interferências nessa razão m/z não foram significativas em análise de sangue humano, mesmo sem a utilização de uma célula de colisão. Vale destacar que diferente dos resultados obtidos da análise do SRM de farinha de trigo (Tabela 19), os percentuais de recuperação para Cd, apresentados na Tabela 20, foram satisfatórios para quase todas as situações estudadas, exceto no nível 1, modo CCT, para as duas m/z avaliadas ($79 \pm 1\%$, ^{111}Cd e $72 \pm 6\%$, ^{114}Cd). Esses baixos percentuais de recuperação podem ser justificados pelo baixo nível de concentração desse analito na amostra, dificultando sua análise ao se utilizar o modo CCT, considerando a baixa sensibilidade causada quando se utiliza a célula de colisão (THOMAS, 2013).

O elemento Mn é monoisotópico, sendo selecionada a razão m/z 55 para sua avaliação. São relatadas várias espécies interferentes para essa razão m/z, como $^{40}\text{Ar}^{14}\text{N}^{1}\text{H}$, $^{39}\text{K}^{16}\text{O}^+$, as quais, de acordo com os resultados de percentuais de recuperação (Tabelas 19 e 20), não se mostraram significativas neste estudo, variando de $97 \pm 2\%$ (modo CCT) e $103 \pm 3\%$ (nos dois modos).

Cobalto também tem apenas um isótopo estável e, portanto, para esse estudo foi selecionada a massa 59. As principais interferências para ^{59}Co relatadas na literatura (KADAR *et al.*, 2011) são $^{43}\text{Ca}^{16}\text{O}$ e $^{42}\text{Ca}^{16}\text{O}^{1}\text{H}$, sendo que os isótopos ^{43}Ca e ^{42}Ca , que originam as referidas espécies, possuem apenas 0,1 e 0,6% de abundância, respectivamente. Os percentuais de recuperação para Co confirmam que as possíveis interferências para essa razão m/z não foram significativas, variando de $94 \pm 3\%$ (modo normal) e $115 \pm 1\%$ (modo CCT).

A concentração de Cd, Cu, Mn e Zn foi avaliada por Correia *et al.* (2017) em amostras de farinhas de trigo, milho e mandioca empregando ICP-MS. Esses autores relataram que foi possível fazer determinações desses elementos utilizando o modo normal na análise de SRM de farinha de trigo 1567a, apresentando percentuais de recuperação aceitáveis.

Os dois isótopos de V foram selecionados para este estudo, ^{50}V e ^{51}V , com abundâncias naturais de 0,24% e 99,8%, respectivamente. As determinações de V na presença de cloreto são bastante afetadas por interferências da espécie $^{16}\text{O}^{35}\text{Cl}^+$, sendo recomendado o emprego do isótopo ^{50}V . Entretanto, considerando a baixa abundância desse isótopo, a sensibilidade para esse elemento químico pode ser comprometida. Sendo assim, uma possível alternativa para determinações de V por ICP-MS, foi a utilização da massa 51 com as devidas correções de interferentes (THOMAS, 2013). Foi possível inferir, a partir dos percentuais de recuperação ($89 \pm 1\%$ e $109 \pm 1\%$) que as interferências para V só foram resolvidas quando a razão m/z 51 foi empregada, nos dois modos de análise.

Para avaliação de Cu, utilizando as razões m/z 63 (69,17%) e 65 (30,83%) foram selecionadas. Na presença de Na, o isótopo mais abundante de Cu não pode ser usado por causa da interferência da $^{40}\text{Ar}^{23}\text{Na}$ e $^{23}\text{Na}^{40}\text{Ca}$. Na tabela 20, foi possível perceber que os melhores percentuais de recuperação ($83 \pm 11\%$, m/z 65 e $98 \pm 1\%$, m/z 63) para esse elemento foram obtidos no modo normal nas duas razões m/z avaliadas. Entretanto, para o isótopo ^{63}Cu , nesse mesmo modo de operação foram verificados maiores desvios.

A avaliação para Pb foi realizada usando os isótopos estáveis ^{206}Pb (25,15%), ^{207}Pb (21,11%) e ^{208}Pb (52,38%). Os principais interferentes para essas m/z são espécies de Pt e Ir, como $^{190}\text{Pt}^{16}\text{O}$, $^{191}\text{Ir}^{16}\text{O}$, $^{192}\text{Pt}^{16}\text{O}$. Entretanto, esses elementos não são tão comuns em amostras de alimentos (BRITO, 2011). Os percentuais de recuperação para Pb, variaram de 67 ± 1 e $86 \pm 4\%$, no modo CCT e, no modo normal, de $78 \pm 1\%$ e $111 \pm 1\%$. No ensaio de adição e recuperação, os melhores percentuais e menores desvios para Pb foram obtidos empregando o modo normal.

Arsênio possui um único isótopo, sendo selecionada a m/z 75 para sua avaliação. O principal interferente para essa m/z é a espécie $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}$, o qual possui 75% de abundância. Os percentuais de recuperação encontrados para As estavam dentro da faixa de aceitação em todas as condições avaliadas.

Para determinação de Se foram selecionados os isótopos ^{78}Se e ^{82}Se , nos dois modos de análise, e ^{80}Se disponível apenas no modo CCT. As abundâncias para esses isótopos são 23,78%, 8,73%, 49,61%, respectivamente. Os resultados de Se ao escolher a m/z 80 são superestimados conforme apresentados na Tabela 20. Esse comportamento foi observado por Kadar *et al.*, 2011, sendo verificado que

o emprego da célula de colisão não se mostrou eficiente para a eliminação das interferências poliatômicas da espécie $^{40}\text{Ar}_2$. Os percentuais de recuperação para Se foram satisfatórios em todos os níveis quando a m/z 82 foi empregada. As Figuras 15 e 16 apresentam comparativamente os percentuais de recuperação do ensaio de adição e recuperação nos dois modos avaliados.

Figura 15 - Resultados comparativos de percentuais de recuperação em três níveis de concentração empregando o modo CCT.

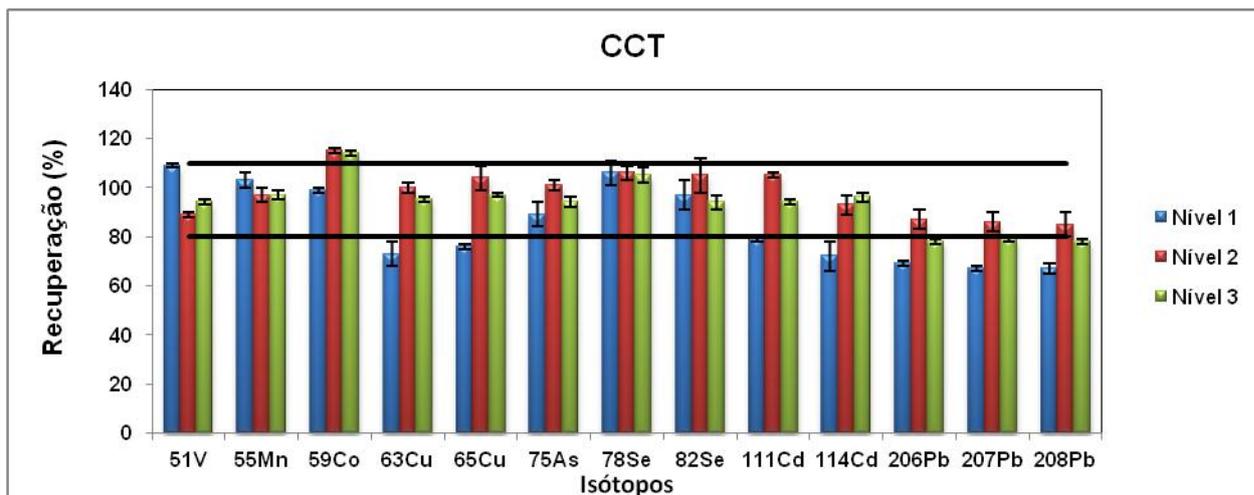
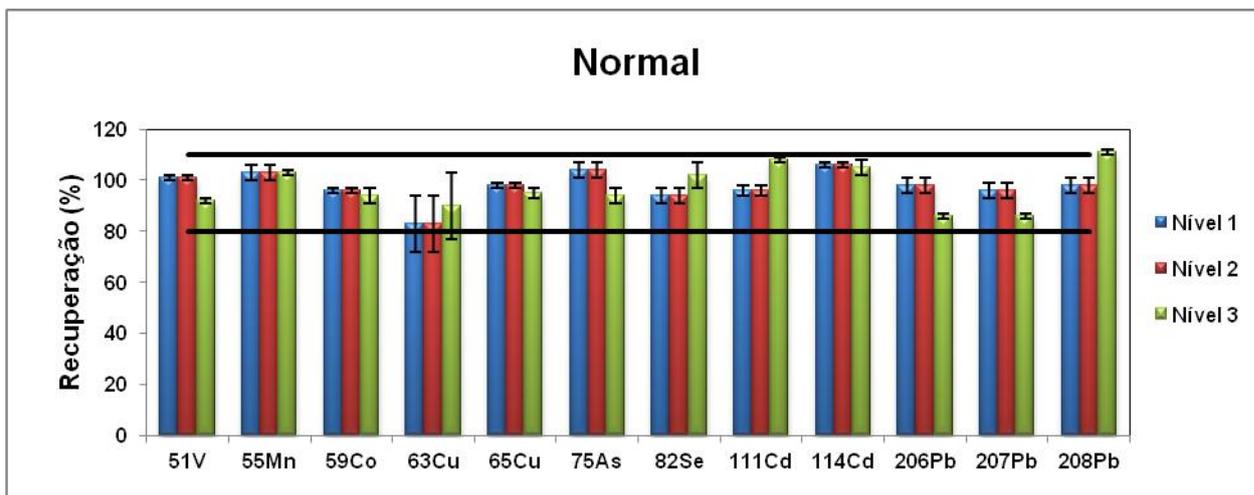


Figura 16 - Resultados comparativos de percentuais de recuperação em três níveis de concentração empregando o modo normal.



Após considerações acerca dos potenciais interferentes e dos resultados do teste de interferência, as seguintes condições foram definidas para análise das amostras de fécula de mandioca, conforme mostra a Tabela 21:

Tabela 21 - Seleção de isótopos e modo de análise para determinação em ICP-MS.

Modo de análise	Isótopo
Normal	¹¹⁴ Cd, ⁵⁵ Mn, ⁵⁹ Co, ⁶⁵ Cu, ²⁰⁸ Pb, ⁷⁵ As
CCT	⁵¹ V, ⁸² Se, ⁶⁶ Zn

Diante dos elevados desvios padrão obtidos para Cr nos resultados dos ensaios do teste de adição e recuperação, a determinação desse elemento nas amostras não foi realizada. Mesmo obtendo bons percentuais de recuperação para Zn nos dois modos de análise, optou-se pelo modo CCT, considerando as possíveis diferenças matriciais entre a fécula e a farinha de trigo (SRM). Para V, mesmo obtendo bons percentuais de recuperação ($89 \pm 1\%$ e $109 \pm 1\%$) quando selecionada a razão m/z 51, também foi empregado o modo CCT.

5.2.2 Validação do método proposto

Para validação do método foram avaliados os seguintes parâmetros de desempenho: limites de detecção e de quantificação, faixa linear de trabalho, precisão e exatidão (BRASIL, 2003). Na avaliação da exatidão foram considerados os resultados obtidos do teste de interferentes, conforme descrito na etapa 5.2.1.

5.2.2.1 Resultados de limites de detecção e quantificação

Nos ensaios para estimar os valores dos limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) foram consideradas dez réplicas da solução de brancos analíticos. Os valores de LOD e LOQ foram calculados a partir das Equações 7 e 8:

$$\text{LOD} = (3xs) / m$$

Equação 7

$$LOQ = (10xs) / m$$

Equação 8

em que m é a sensibilidade de calibração da curva analítica e s é desvio padrão das soluções dos brancos analíticos.

Os resultados dos limites de detecção e quantificação estão apresentados na Tabela 22.

Tabela 22 - Limites de detecção e de quantificação estimados para a determinação dos analitos por ICP-MS, após decomposição em bloco digestor em sistema fechado ($n=10$).

Elemento	LOD ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	LOD* (ng g^{-1})	LOQ* (ng g^{-1})
As	0,01	0,04	3,68	12
Cd	0,03	0,11	9,15	30
Co	0,02	0,06	5,06	17
Cr	0,04	0,14	11,7	39
Cu	0,1	0,3	27,1	90
Mn	0,01	0,03	2,69	9
Pb	0,1	0,2	14,2	47
V	0,01	0,02	1,77	6
Se	0,02	0,06	4,71	16
Zn	3	11	1,0**	3,2**

*Considerando uma massa de amostra de cerca de 500 mg e volume total de 14 mL após decomposição e aferição com diluição 1:10, $v v^{-1}$; **Resultados em $\mu\text{g g}^{-1}$.

5.2.2.2 Faixa linear de trabalho

A faixa linear de trabalho para os elementos estudados correspondeu aos valores de LOQ a $50 \mu\text{g L}^{-1}$ para todos os elementos estudados em ICP-MS, sendo $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$ a menor concentração avaliada. Todas as soluções da curva analítica foram ajustadas para uma acidez de 2%. Na Tabela 23 estão elencados os coeficientes de determinação e as equações da reta para os elementos avaliados por ICP-MS.

Tabela 23 - Equação da reta e coeficiente de determinação para cada elemento determinado por ICP-MS.

Elemento	Faixa de concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Equação da reta	Coefficiente de Determinação
As	0,5 – 50,0	$y = 5340x + 0,006$	0,9996
Cd	0,5 – 50,0	$y = 28596x + 0,33$	0,9997
Co	0,5 – 50,0	$y = 34225x + 0,01$	0,9996
Cr	0,5 – 50,0	$y = 458x + 0,07$	0,9997
Cu	0,5 – 50,0	$y = 18222x + 0,12$	0,9997
Cu	0,5 – 50,0	$y = 445x + 0,16$	0,9997
Mn	0,5 – 50,0	$y = 49095x + 0,05$	0,9996
Pb	0,5 – 50,0	$y = 5305x + 0,13$	0,9997
Se	0,5 – 50,0	$y = 922x + 0,08$	0,9999
Se	0,5 – 50,0	$y = 11x + 0,03$	0,9995
Zn	0,5 – 50,0	$y = 7919x + 4,63$	0,9980

É possível inferir, a partir dos coeficientes de determinação, uma alta correlação entre os valores de concentração e os sinais analíticos obtidos, atendendo aos critérios mínimos aceitáveis pela ANVISA (BRASIL, 2003), com valores de $< 0,99$.

5.2.2.3 Precisão

A precisão foi avaliada em termo de repetitividade, em que dez réplicas de uma mesma amostra de fécula de mandioca foram digeridas e analisadas por ICP-MS. Os resultados de precisão obtidos para todos os analitos estudados nesta etapa apresentaram valores de $\text{RSD}\% \leq 5$, atendendo às recomendações da ANVISA (BRASIL, 2003).

5.3 Determinação dos elementos por ICP-MS

A Tabela 24 apresenta os valores de concentração dos analitos obtidos por ICP-MS.

Tabela 24- Concentração, em ng g^{-1} , para amostras secas de fécula e mandioca. Resultados por ICP-MS, média \pm desvio padrão (n=3).

Amostra	As	Cd	Co	Cu	Mn	Pb	Se	V	Zn
Fécula									
FR	< 12	< 9	< 17	104 \pm 5	617 \pm 36	< 14	82 \pm 7	< 6	< 3208
TRDG	< 12	22 \pm 2	295 \pm 10	226 \pm 11	489 \pm 16	20 \pm 1	< 16	95 \pm 7	5207 \pm 300
TL	15 \pm 1	< 9	< 17	< 90	154 \pm 2	< 14	< 16	137 \pm 3	< 3208
TDL	75 \pm 6	< 9	< 17	< 90	286 \pm 2	< 14	< 16	11 \pm 1	< 3208
TDT	64 \pm 6	< 9	< 17	< 90	521 \pm 14	25 \pm 2	< 16	< 6	< 3208
TBA	62 \pm 6	< 9	< 17	< 90	109 \pm 1	< 14	215 \pm 27	< 6	< 3208
TFDM	70 \pm 6	< 9	< 17	< 90	590 \pm 12	< 14	< 16	106 \pm 6	< 3208
TAF	< 12	< 9	< 17	162 \pm 3	424 \pm 25	< 14	< 16	20 \pm 2	< 3208
TUP	< 12	< 9	< 17	< 90	305 \pm 23	< 14	< 16	41 \pm 2	< 3208
TLA	91 \pm 2	< 9	< 17	< 90	468 \pm 11	< 14	< 16	< 6	< 3208
TQD	87 \pm 8	< 9	25 \pm 2	< 90	254 \pm 12	202 \pm 16	< 16	< 6	< 3208
TDI	75 \pm 3	< 9	< 17	< 90	498 \pm 35	438 \pm 8	186 \pm 16	< 6	< 3208
TBB	84 \pm 3	< 9	< 17	1071 \pm 40	2280 \pm 55	40 \pm 1	< 16	< 6	< 3208
TP	92 \pm 4	< 9	< 17	< 90	394 \pm 11	< 14	< 16	15 \pm 1	< 3208
TR	82 \pm 3	47 \pm 1	< 17	< 90	70 \pm 6	< 14	< 16	14 \pm 1	< 3208
PC	158 \pm 5	< 9	< 17	178 \pm 15	289 \pm 4	< 14	< 16	16 \pm 1	5168 \pm 433
FEIL	< 12	< 9	< 17	< 90	178 \pm 1	< 14	< 16	< 6	< 3208
Mandioca									
MMSEF	< 12	< 9	22 \pm 1	1159 \pm 38	2523 \pm 66	521 \pm 18	158 \pm 23	< 6	6344 \pm 440
MMTRDG	< 12	34 \pm 1	22 \pm 4	346 \pm 51	447 \pm 16	129 \pm 2	< 16	< 6	4900 \pm 190
Outros									
MMAEF	< 12	< 9	< 17	480 \pm 4	1460 \pm 25	< 14	< 16	< 6	5960 \pm 10
SOB	< 12	< 9	< 17	847 \pm 63	1580 \pm 34	97 \pm 1	109 \pm 2	< 6	< 3208

O emprego da técnica ICP-MS permitiu a ampliação da avaliação elementar das amostras de derivados de mandioca. Foi possível determinar os elementos químicos Co, Zn e Pb, os quais apresentaram concentrações abaixo dos valores de LOQ, em todas as amostras por ICP OES. Além de ser possível determinar elementos como As, Cd, Se e V, como mostra a Tabela 24. Apesar de também serem determinados por ICP OES, para fins de comparação com outras informações na literatura, foram consideradas as concentrações de Cu e Mn obtidas por ICP-MS.

Para As ($<12 - 158 \text{ ng g}^{-1}$), os resultados obtidos apresentaram uma média de concentração de 80 ng g^{-1} , sendo quantificado em 12 amostras das 16 estudadas. O principal aporte de As nos vegetais é o solo, podendo ser de origem natural ou antropogênica. As fontes naturais podem ser a solubilização de rochas, emissões vulcânicas e atividades biológicas. Dentre as fontes antropológicas, é possível citar a mineração, uso de pesticidas, fertilizantes e combustíveis fósseis (CUBADDA et al., 2010; FUNES PINTER *et al.*, 2018).

Para o elemento Pb ($<14 - 521 \text{ ng g}^{-1}$), a concentração média obtida nos derivados de mandioca foi de 237 ng g^{-1} . Muller *et al.* (2017) desenvolveram um método de decomposição de amostras com alto teor de carboidratos em meio de H_2O_2 , empregando forno de micro-ondas e determinação por ICP-MS. Para as amostras de farinha de mandioca, a concentração média apresentada para Pb (350 ng g^{-1}) foram de mesma ordem de grandeza dos valores obtidos no presente estudo. As concentrações obtidas para Cd variaram entre valores abaixo do LOQ ($< 9 \text{ ng g}^{-1}$) e 47 ng g^{-1} , apresentando uma concentração média de 30 ng g^{-1} . A ANVISA (2013) estabelece os valores máximos permitidos para contaminantes em alimentos de acordo com a Resolução nº 42. Para raízes e tubérculos, os limites máximos permitidos para As é $0,20 \mu\text{g g}^{-1}$, enquanto para Cd e Pb esse limite é $0,10 \mu\text{g g}^{-1}$. Em comparação com os limites máximos de contaminantes, considerando o peso úmido, as concentrações médias obtidas para As ($0,05 \mu\text{g g}^{-1}$) e Cd ($0,01 - 0,02 \mu\text{g g}^{-1}$) nas amostras de derivados de mandioca estão abaixo dos valores estabelecidos. Para Pb as concentrações médias obtidas para as amostras de fécula industrializada ($0,09 \mu\text{g g}^{-1}$) e a concentração obtida para a massa industrializada de mandioca, MMTRDG, ($0,06 \mu\text{g g}^{-1}$) também apresentaram valores abaixo dos limites máximos permitidos. No entanto, a concentração obtida para a massa artesanal de mandioca,

MMSEF, ($0,31 \mu\text{g g}^{-1}$) foi cerca de 3 vezes maior do que o recomendado. Com base nesses resultados, fica evidente a importância de um monitoramento contínuo em amostras de mandioca e seus derivados, visando garantir que os níveis de contaminação não ultrapassem limites seguros para a população.

As concentrações médias obtidas para Mn, Cu e Zn foram 1063 ng g^{-1} , 603 ng g^{-1} e 4488 ng g^{-1} , respectivamente. Gomes *et al.* (2017) avaliaram a concentração de elementos químicos em farinha de mandioca do estado do Pará, Brasil, por ICP OES. Dentre os elementos avaliados por esses autores, tanto as concentrações médias relatadas para Mn (1390 ng g^{-1}) quanto as concentrações médias apresentadas para Zn (2290 ng g^{-1}) foram de mesma ordem de grandeza dos valores médios encontrados neste trabalho. No entanto, a concentração média de Cu (4790 ng g^{-1}) apresentadas por estes autores foi cerca de 8 vezes maior do que a concentração média obtida neste trabalho.

A Tabela 25 apresenta um resumo estatístico dos dados obtidos após análise das amostras de derivados de mandioca por ICP-MS. Foram desconsiderados os resultados inferiores aos valores de LOQ.

Tabela 25 - Resumo estatístico das concentrações, em ng g^{-1} , obtidas em 16 amostras de derivados de mandioca.

Elemento	As (ng g^{-1})	Cd (ng g^{-1})	Co (ng g^{-1})	Cu (ng g^{-1})	Mn (ng g^{-1})	Pb (ng g^{-1})	Se (ng g^{-1})	V (ng g^{-1})	Zn (ng g^{-1})
Média	80	33	159	603	1063	237	126	85	4488
Mediana	84	34	24	480	447	193	155	21	5207
Máximo	158	47	295	1159	2523	521	215	106	7277
Mínimo	<12	<9	<17	<90	70	<14	<16	<6	<3208
Desvio padrão	50	19	191	425	869	184	79	71	2913

5.4 Comparação com os valores de ingestão diária recomendada

Segundo a ANVISA, a ingestão diária recomendada (IDR) é a quantidade de proteína, vitaminas e minerais que deve ser consumida diariamente para atender às necessidades nutricionais da maior parte dos indivíduos e grupos de pessoas de uma população sadia (BRASIL, 2005c). A Tabela 26 apresenta uma comparação

entre os valores médios de concentração determinados para os elementos obtidos por ICP OES e ICP-MS com os valores de IDR.

Tabela 26 - Contribuição nutricionais dos derivados de mandioca para a ingestão diária recomendada, considerando 100 g de alimento.

Elemento	Ca	Cu	Fe	Mg	Mn	P	Se	Zn
IDR para adultos (mg)	1000	0,9	14	260	2,3	700	0,03	7
FI (%)	2,8	3,9	12,4	2,8	2,1	3,1	53,7	7,4
FA (%)	*	*	*	0,4	0,8	1,6	*	*
MA (%)	4,0	12,9	1,2	17,8	11,0	18,0	52,7	9,1
MI (%)	1,0	3,8	2,6	1,5	1,9	1,6	*	7,0

FI: fécula industrializada, FA: fécula artesanal, MA: mandioca artesanal, MI: mandioca industrializada, *não quantificado.

Com base na recomendação de ingestão diária para adultos (IDR), é possível inferir que o consumo diário de 100 g de fécula de mandioca industrializada (FI) fornece cerca de 7,4% de ingestão para Zn, 12,4% para Fe, 3,9% para Cu, 3,1% para P, 2,1% para Mn e 2,8% para Ca e Mg. Do ponto de vista nutricional, o elemento Se representa a maior contribuição, 53,7% para a amostra FI e 52,7% para a massa artesanal de mandioca (MA), para o IDR. Entretanto, só foi possível quantificar esse elemento químico em apenas 3 amostras, conforme apresenta a Tabela 26. Dessa forma, para uma melhor conclusão dos resultados, estudos complementares são necessários.

Comparativamente, o consumo de 100 g de fécula artesanal (FA) representa a menor contribuição dos elementos avaliados para o IDR, sendo apenas cerca de 0,4% de Mg, 0,8% de Mn e 1,6% de P, essa variação pode ser justificada pelas distintas formas com que o processo de extração da fécula é realizada. A contribuição para ingestão de Cu, P, Mn, Zn, Fe e Ca em massa de mandioca industrializada (MI) é responsável por 1 a 7% das doses recomendadas. Finalmente, observou-se contribuições médias de 47%, 13%, 10%, 9%, 8%, 3% para Se, Cu, P e Mn, Zn, Fe e Ca, respectivamente, em 100 g de mandioca artesanal, sendo as maiores contribuições dentre as amostras apresentadas na Tabela 26.

5.5 Balanço de massa para as amostras produzidas em laboratório (*in situ*)

Conforme informado na parte experimental 4.1.4., as amostras codificadas como MMSEF, FEIL, SOB, MMAEF foram obtidas por um processo de extração de fécula cuja execução foi realizada em laboratório. O código MMSEF corresponde à amostra de mandioca integral, a qual foi processada na amostra FEIL - fécula artesanal. Deste processo, ainda foram originadas as amostras SOB - sobrenadante e MMAEF - massa residual, obtidas após extração. Nas amostras produzidas artesanalmente no laboratório, foi empregado um balanço de massa comparando o somatório dos valores de concentração obtidos das amostras SOB, FEIL e MMAEF (originadas no processo de extração) com os valores de concentração obtidos após análise da massa de mandioca integral (MMSEF), de acordo com a Equação 9. Os resultados de balanço de massa estão apresentados na Tabela 27.

$$BM = \frac{(SOB + MMAEF + FEIL)}{MMSEF} \times 100$$

Equação 9

Tabela 27 - Resultado das concentrações dos analitos, em $\mu\text{g g}^{-1}$, e de balanço de massa (BM) (%) para as amostras de massa e fécula de mandioca obtidas *in situ*. Determinação ICP OES e ICP-MS (média \pm desvio padrão, n=3).

Amostra	MMAEF	SOB	FEIL	MMSEF	BM (%)
Ca	440 \pm 6	15 \pm 1	<11	398 \pm 45	115 \pm 12
Cu*	0,480 \pm 0,004	0,85 \pm 0,06	< 0,02	1,16 \pm 0,04	115 \pm 1
Fe	0,99 \pm 0,06	<0,39	1,8 \pm 1,0	1,7 \pm 0,3	71 \pm 26
K	4012 \pm 80	710 \pm 9	632 \pm 25	6295 \pm 7	85 \pm 7
Mg	220,0 \pm 0,2	38,3 \pm 0,7	9,8 \pm 0,5	463 \pm 28	58 \pm 5
Mn*	1,46 \pm 0,03	1,58 \pm 0,03	0,178 \pm 0,001	2,5 \pm 0,1	126 \pm 2
Na	25 \pm 2	4,7 \pm 0,2	<3,1	69 \pm 6	57 \pm 1
P	598 \pm 4	132 \pm 2	110 \pm 1	1263 \pm 69	67 \pm 3
Se*	< 0,016	0,109 \pm 0,002	< 0,016	0,158 \pm 0,023	69 \pm 1
Sr	5,46 \pm 0,06	<0,005	<0,005	3,2 \pm 0,1	172 \pm 8
Zn*	5,96 \pm 0,01	< 3,2	< 3,2	6,3 \pm 0,4	96 \pm 9

*Resultados obtidos por ICP-MS

A partir da análise da Tabela 27, foi possível verificar valores aceitáveis de balanço de massa apenas para Ca, Cu, K e Zn. Resultados adequados de balanço de massa devem estar na faixa de 80 e 120% (SOUZA *et al.*, 2018). Os valores de

BM fora da faixa de aceitação para Fe, Mg, Na, P, Se e Sr podem estar relacionados às perdas ou contaminações ocorridos durante a extração da fécula. As concentrações obtidas para Sr, na amostra MMAEF (resíduo) foram maiores que as concentrações encontradas para a mandioca (MMSEF), o que pode indicar uma possível contaminação. Foram encontrados resultados inconclusivos para As, Ba, Cd, Co, Pb e V.

5.6 CONSIDERAÇÕES PARCIAIS

Nesta etapa foi realizada a avaliação da concentração dos elementos As, Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Pb, Se, V e Zn em amostras de derivados de mandioca empregando a técnica ICP-MS. Para a seleção dos isótopos dos elementos, foi realizado um estudo de potenciais interferentes, sendo estabelecidas as seguintes condições para a análise das amostras: no modo normal foram selecionados os isótopos ^{114}Cd , ^{55}Mn , ^{59}Co , ^{65}Cu , ^{208}Pb , ^{75}As e, no modo CCT, ^{51}V , ^{82}Se , ^{66}Zn . Para o elemento Cr, não foi possível minimizar as interferências espectrais mesmo quando o modo CCT foi empregado. O método analítico desenvolvido apresentou baixos limites de detecção e quantificação, além de boa precisão e exatidão.

Com base na ingestão diária recomendada para adultos, o consumo de 100 g de derivado de mandioca fornece entre 1,0 e 2,8% da ingestão diária de Ca, 3,8 - 2,9% para Cu, 1,2 - 12,4% para Fe, 0,4 - 17,8% para Mg, 0,8 - 11,0% para Mn, 1,6 - 18,0% para P, 52,7 - 53,7% para Se e 7,0 - 9,1% para Zn. As concentrações médias obtidas para As e Cd nas amostras avaliadas estavam abaixo dos valores estabelecidos pela ANVISA. No entanto, para Pb ($0,31 \mu\text{g g}^{-1}$), na amostra MMSEF, o valor encontrado foi cerca de 3 vezes maior do que o recomendado. Considerando que além de determinar as concentrações totais de elementos químicos em amostras de alimentos, é de interesse estimar a quantidade dessas espécies que pode ser absorvida pelo organismo, na etapa 3 foi realizado um teste de bioacessibilidade em amostras de derivados de mandioca.

6. ESTIMATIVA DA BIOACESSIACESSIBILIDADE *IN VITRO* DE ELEMENTOS Cu, Fe, Mg e Mn, EM AMOSTRAS DE FÉCULA E MASSA DE MANDIOCA.

6.1 EXPERIMENTAL

6.1.1 Instrumentação e equipamentos

Para a realização desta etapa, os seguintes equipamentos foram utilizados:

- ✓ Balança analítica (Scientech, modelo SA210, USA);
- ✓ Incubadora com agitação orbital (TECNAL, modelo TE 4200, Brasil);
- ✓ Medidor de pH OHAUS (modelo STARTER 3100, USA);
- ✓ Centrífuga Marconi (modelo MA – 1810, Brasil);
- ✓ Sistema de purificação de água (Elga, PURELAB, Option-Q, Reino Unido);
- ✓ Destilador de ácido (Milestone, sub-boiling distillation, Itália);

6.1.2 Reagentes, soluções e amostra

Com a finalidade de realizar os ensaios de bioacessibilidade em todos os tipos de derivados de mandioca estudados, foram selecionadas 2 amostras industrializadas, uma de fécula (TRDG) e uma de mandioca (MMTRDG), e duas amostras produzidas em laboratório, MMSEF (mandioca) e FEIL (fécula), previamente tratadas conforme etapas 4.1.4 e 4.1.5.

Foram preparadas as seguintes soluções: (1) solução contendo Mg a partir de soluções estoque (Specsol®, Brasil) com concentração de 10000 mg L⁻¹; (2) solução contendo Cu, Fe e Mn usando soluções estoque (Specsol, Brasil) com concentração de 1000 mg L⁻¹.

Para o ensaio de bioacessibilidade, as enzimas, reagentes orgânicos e inorgânicos utilizados no preparo de cada solução foram adquiridas de Sigma-

Aldrich (EUA), exceto Albumina de soro bovino (BSA), pepsina, pancreatina, as quais foram adquiridas da Merck (Alemanha).

A simulação das condições fisiológicas de digestão *in vitro* para o teste de bioacessibilidade foi reproduzida conforme modelo descrito por Oomen *et al.*, (2003), adaptado por Versantvoort *et al.*, (2005). Dessa forma, para esses ensaios foram preparadas soluções sintéticas de saliva, suco gástrico, duodenal e biliar conforme apresenta Tabela 28.

Tabela 28 - Composição das fluídos sintéticos de saliva, sucos gástrico, duodenal e biliar empregados na bioacessibilidade de amostras de fécula e massa de mandioca (Versantvoort, 2005).

Fluido	Saliva	Gástrico	Duodenal	Biliar
Orgânico (g L ⁻¹)	ureia (25)	glucose (65) ácido glucorônico (2) ureia (25) glucosamina HCl (33)	ureia (25)	ureia (25)
Inorgânico (g L ⁻¹)	KCl (89,6) KSCN (20) NaH ₂ PO ₄ (88,8) NaSO ₄ (57) NaCl (175,3) NaHCO ₃ (84,7)	NaCl (175,3) NaHPO ₄ (88,8) KCl (89,6) CaCl ₂ (22,2) NH ₄ Cl (30,6) *HCl 37% m m ⁻¹	NaCl (175,3) NaHCO ₃ (84,7) KH ₂ PO ₄ (8) KCl (89,6) MgCl ₂ (5) 180 µL **HCl 37% m m ⁻¹	NaCl (175,3) NaHCO ₃ (84,7) KCl (89,6) MgCl ₂ (5) ***HCl 37% m m ⁻¹
Enzimas e outros	290mg α-amilase 15 mg ácido úrico 25 mg mucina	1g BSA 2,5 g pepsina 3 g mucina	CaCl ₂ 22,2 g L ⁻¹ 1 g BSA 9 g pancreatina 1,5 g lipase	CaCl ₂ 22,2 g L ⁻¹ 1,8 g BSA 30 g pancreatina 1,5 g lipase
pH	6,8	1,3	8,2	8,2

* alíquota de 6,5 mL, **180 µL e ***150 µL para um total de 500 mL de solução.

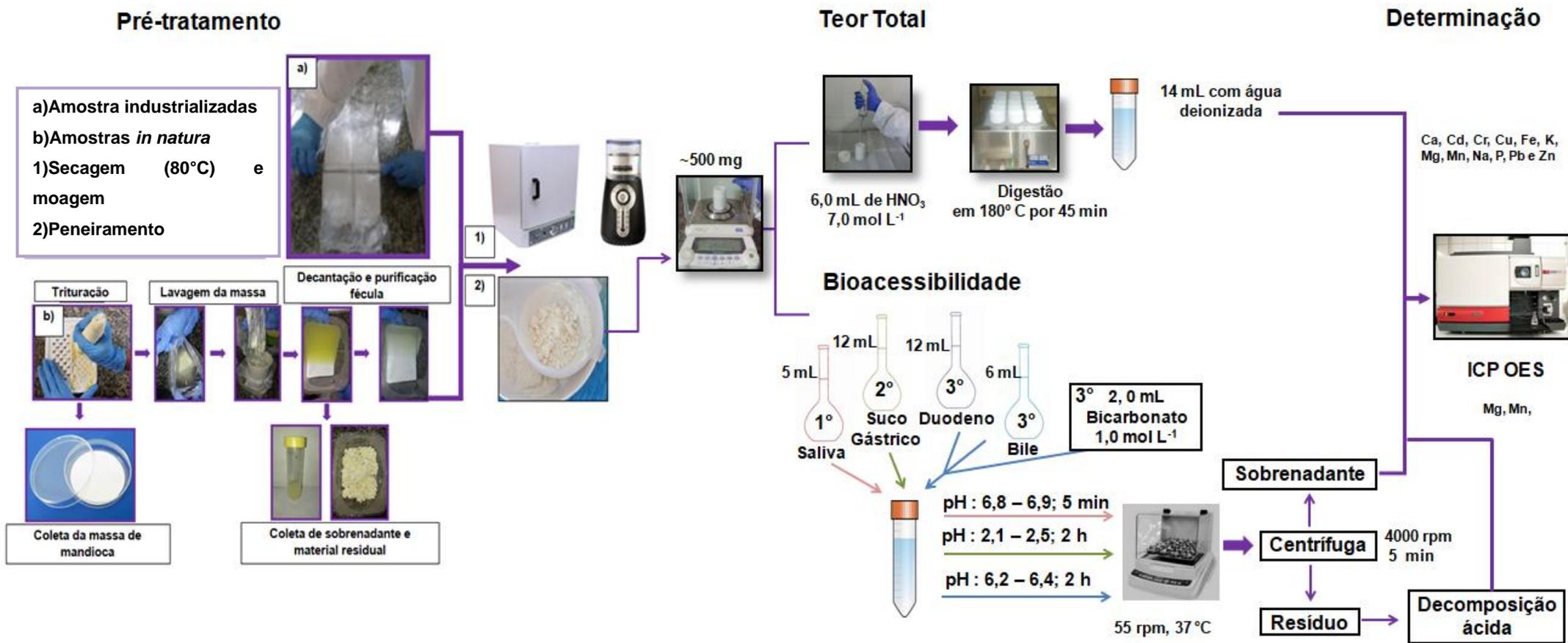
Para solubilização dos componentes orgânicos, inorgânicos e enzimas, os fluídos sintéticos foram submetidos à agitação de 100 rpm em temperatura ambiente por um período de 3 h. Para a decomposição total e residual das amostras foi utilizado ácido nítrico (Merck, Darmstadt, Alemanha) destilado, além de água deionizada.

6.1.3 Procedimento de bioacessibilidade *in vitro* em amostras de fécula de mandioca

Antes do ensaio de bioacessibilidade, os fluídos sintéticos foram aquecidos a uma temperatura de $37 \pm 2^\circ\text{C}$ por 1 hora para ativação das enzimas. Após período de ativação, pesou-se cerca de 500 mg de amostra em tubo de polietileno de 50 mL. Em seguida, adicionou-se 6,0 mL de solução de saliva sintética, incubando-se as amostras por 5 min. Posteriormente, foram adicionados 12,0 mL de suco gástrico, incubando-se por 2 h. Por último, soluções de duodeno (12,0 mL), de bile (6,0 mL) e 2,0 mL de bicarbonato $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ foram adicionadas simultaneamente, incubando-se por mais 2 h. Todo o processo de incubação ocorreu numa velocidade de 55 rpm a $37 \pm 2^\circ\text{C}$. Medidas de pH foram realizadas em cada etapa do processo. Após adição da solução sintética de saliva, o pH medido nas amostras foi de $6,8 \pm 0,1$. A variação de pH encontrada após a etapa gástrica foi de $2,4 \pm 0,2$. E, finalmente, a média do pH do quimo foi de $6,8 \pm 0,1$.

Após todo o ensaio de bioacessibilidade, as amostras foram centrifugadas por 5 min, em velocidade de cerca de 4000 rpm para separação do quimo, fração solúvel gerada após o processo simulado de digestão, do resíduo, que compreende a amostra que não solubilizou nas soluções sintéticas. Em seguida, foram coletadas alíquotas do quimo para serem analisadas imediatamente por ICP OES. As amostras residuais foram secas em estufa e, posteriormente, foram digeridas conforme método analítico descrito na etapa 4.1.7. A Figura 17 apresenta um esquema do preparo das amostras avaliadas.

Figura 17 - Representação esquemática do preparo de amostra, considerando as etapas 1 e 3.



Fonte: autora, 2020

6.2 APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

6.2.1 Validação do método analítico

O método de bioacessibilidade foi validado através do balanço de massa (soma dos teores bioacessíveis (TB) mais concentração residual (R) comparado ao teor total (TT)), conforme a Equação 10 (SOUZA *et al.*, 2018):

$$BM = (TB+R) / TT \times 100 \quad \text{Equação 10}$$

em que, BM significa balanço de massa. O teor residual foi obtido

Resultando em recuperações absolutas que variaram de 95% para Mg e 122% para Mn. Para os demais elementos estudados, os resultados de balanço de massa ficaram abaixo da faixa aceitável.

Para confirmação da validação também foram avaliados os seguintes parâmetros de desempenho: limites de detecção e de quantificação, faixa linear de trabalho, precisão.

6.2.2 Limites de detecção e quantificação

Os ensaios de limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) foram realizados considerando 10 réplicas de brancos analíticos, conforme descrito na etapa 5.2.2.1 e seguindo as Equações 7 e 8. Os resultados dos limites estão apresentados na Tabela 29.

Tabela 29 - Limites de detecção e de quantificação para a determinação dos analitos após extração bioacessível (n=10).

Elemento	LOD (mg L ⁻¹)	LOQ (mg L ⁻¹)	*LOD (µg g ⁻¹)	*LOQ (µg g ⁻¹)
Cu	0,01	0,04	0,83	2,77
Fe	0,03	0,11	2,61	8,69
Mg	0,43	1,43	33	109
Mn	0,001	0,003	0,06	0,21

* Considerando uma massa de amostra de cerca de 0,5 g e volume total de 38 mL.

O valor de LOQ obtido para o elemento Mg é justificado pela composição química das soluções sintéticas de saliva, suco gástrico, duodenal e biliar, as quais contêm elevadas concentrações deste macroelemento, conforme mostra a Tabela 28. Por esse motivo, outros macroelementos como Ca, P, K e Na não foram considerados neste estudo. Alguns microelementos, avaliados na etapa 1 (Co, Cr, Pb e Zn) também não foram incluídos neste estudo, pois apresentaram resultados de concentração total abaixo dos valores de LOQ. Para os ensaios de LOD e LOQ foi considerado um volume de 38 mL, o que corresponde ao volume total das soluções sintéticas utilizadas.

6.2.3 Faixa linear de trabalho

As concentrações da curva de calibração analítica variaram entre 0,02 e 2,0 mg L⁻¹ para os elementos Cu, Fe, Mn. Para Mg a variação foi de 0,5 e 50,0 mg L⁻¹. Todas as soluções da curva de calibração analítica foram avolumadas com os fluidos sintéticos utilizados nos ensaios de bioacessibilidade. A faixa linear de trabalho correspondeu a variação entre os valores de LOQ e a concentração mais elevada da curva de calibração analítica.

Na Tabela 30 estão elencados os coeficientes de determinação e as equações da reta para os elementos avaliados na bioacessibilidade.

Tabela 30 - Equação da reta e coeficiente de determinação para cada elemento determinado por ICP-MS.

Elemento	Faixa de concentração (mg L ⁻¹)	Equação da reta	Coefficiente de Determinação
Cu	0,02 – 2,0	$y = 18222x + 0,12$	0,9997
Fe	0,02 – 2,0	$y = 15802x + 2715$	0,9982
Mn	0,02 – 2,0	$y = 198214x + 2059$	0,9988
Mg	0,5 - 50,0	$y = 17002x + 129153$	0,9981

6.2.4 Precisão

A precisão do método, avaliada em termo de repetitividade, foi avaliada considerando 7 réplicas da amostra de fécula. Os valores de RSD% para Cu, Mn e Mg foram de 3, 9 e 11%, respectivamente. Para Fe os valores obtidos estavam abaixo do LOQ.

6.3 Determinação dos teores bioacessíveis de Mg e Mn

Nesta etapa, foi possível quantificar os teores bioacessíveis apenas para Mg e Mn em apenas 2 (MMSEF e TRDG) das 4 amostras analisadas. Os demais analitos avaliados tiveram teores bioacessíveis abaixo do LOQ.

Magnésio apresentou teores bioacessíveis (385 ± 42) acima dos limites de quantificação apenas para a amostra de mandioca (MMSEF). Conforme relatado por Montagnac; Davis; Tanumihardjo (2009), o processamento da mandioca em seus derivados pode afetar o valor nutricional dos mesmos. Com esses resultados foi possível inferir que o processamento da mandioca pode levar a uma redução do teor de minerais por lixiviação, contribuindo também para uma menor disponibilidade de nutrientes para o organismo.

Para Mn, esses valores variaram de $1,44 \pm 0,13 \mu\text{g g}^{-1}$ (MMSEF) e $0,59 \pm 0,01 \mu\text{g g}^{-1}$ (TRDG). Dessa forma, as frações bioacessíveis (FB) obtidas para esses elementos e calculadas a partir da Equação 11, variaram de $43 \pm 4\%$ e $106 \pm 2\%$ para Mn, e, para Mg, a fração bioacessível foi de $80 \pm 8\%$.

$$\text{FB} = (\text{TB}/\text{TT}) \times 100$$

Equação 11

Em que, TB é o teor bioacessível e TT o teor total.

A Tabela 31 apresenta um resumo dos resultados obtidos nos ensaios de bioacessibilidade. Para o cálculo do balanço de massa (BM), foi empregada a Equação 11.

Tabela 31 - Teores totais (TT), teores bioacessíveis (TB), teores residuais (TR) em $\mu\text{g g}^{-1}$, fração bioacessível (FB) e balanço de massa (BM), em percentagem, para os elementos Mg e Mn.

Amostra	TT ($\mu\text{g g}^{-1}$)	TB ($\mu\text{g g}^{-1}$)	FB (%)	TR ($\mu\text{g g}^{-1}$)	BM (%)
Mg					
MMSEF	463 ± 28	385 ± 42	80 ± 8	79 ± 7	95 ± 8
TRDG	27 ± 5	< 109	< 109	29 ± 6	122 ± 11
Mn					
MMSEF	3,05 ± 0,11	1,44 ± 0,13	43 ± 4	1,9 ± 0,05	106 ± 2
TRDG	0,55 ± 0,01	0,59 ± 0,01	106 ± 2	0,02 ± 0,001	110 ± 1

As frações bioacessíveis para Mn na amostra de fécula foram maiores quando comparado com a amostra de mandioca. A disponibilidade de alguns elementos pode variar dependendo da composição da amostra, sendo influenciada pela presença de fatores antinutricionais, os quais podem diminuir a solubilidade de espécies catiônicas divalentes (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010). Dos fatores nutricionais presentes na mandioca, o fitato destaca-se com grande abundância, aproximadamente 624 mg / 100 g nas raízes, sendo capaz de interagir com esses cátions e interferir na absorção dos mesmos pelo organismo, (MONTAGNAC; DAVIS; TANUMIHARDJO, 2009).

Estudos complementares são necessários para uma avaliação mais ampla da bioacessibilidade de elementos essenciais e não essenciais em amostras de mandioca e seus derivados.

6.4 CONSIDERAÇÕES PARCIAIS

Nesta etapa foi realizada a estimativa da bioacessibilidade para Cu, Fe, Mg e Mn. Entretanto, foi possível estimar teores bioacessíveis apenas para Mn e Mg, sendo necessários estudos complementares para uma melhor avaliação da bioacessibilidade dos demais elementos químicos em amostras de fécula e massa de mandioca;

7. CONCLUSÕES

Neste trabalho foram avaliadas estratégias analíticas para avaliação da concentração total e fazer uma estimativa da bioacessibilidade de elementos essenciais e potencialmente tóxicos em fécula de mandioca.

A condição adequada para decomposição de amostras de derivados de mandioca em bloco digestor em sistema fechado, seguido da determinação por ICP OES foi realizada empregado um planejamento experimental 2^4 . O modelo matemático obtido teve um bom ajuste ($p = 0,68$), além de uma boa correlação entre os dados preditos e experimentais ($r = 0,9617$). O planejamento experimental foi bastante eficiente no que se refere a custo e frequência analítica, quando comparado com uma otimização univariada

Foi possível reproduzir o processamento da mandioca em fécula, sendo verificado que perdas e contaminação podem ocorrer ao longo do processo, o que reforça a necessidade de uma padronização do mesmo. Com a avaliação dos dados obtidos, pode-se afirmar que a mandioca é uma melhor fonte de minerais quando comparado com a fécula, além de ser viável o reaproveitamento dos subprodutos (sobrenadante e massa residual) gerados a partir da extração, mesmo esses tendo um menor teor de elementos. A distribuição de concentração dos macroelementos estudados segue a ordem: $K > Ca > P > Mg$, na maioria das amostras de fécula, mostrando a sua importância em termos nutricionais.

Foi realizado um estudo para avaliar a concentração de As, Cd, Se e V e confirmar as concentrações de Co, Cr, Cu, Mn, Pb e Zn empregando ICP-MS. Foi constatado que para determinar os elementos As, Cd, Co, Cu, Mn e Pb em amostras de fécula, após decomposição utilizando ácido nítrico, não foi necessário o uso da célula de colisão. Para os elementos V, Se e Zn, o modo CCT se mostrou eficiente. Entretanto, para Cr, não foi possível resolver as interferências espectrais, mesmo empregando o modo CCT.

Os métodos desenvolvidos apresentaram boa precisão e exatidão, baixos limites de quantificação, o que possibilitou a determinação de Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P e Sr por ICP OES, e As, Cd, Co, Cu, Mn, Pb, Se, V e Zn por ICP-MS, em

amostras de fécula de mandioca, bem como estimar os teores bioacessíveis de Mn e Mg nessas amostras.

As concentrações médias obtidas para As e Cd nas amostras de fécula estão abaixo dos valores estabelecidos pela ANVISA. No entanto, a concentração média obtida para Pb foi cerca de 3 vezes maior que o recomendado. Assim, fica evidente a importância de uma avaliação contínua em amostras de mandioca e seus derivados, visando garantir que os níveis de contaminação não ultrapassem limites seguros para a população.

Com base na ingestão diária recomendada para adultos, o consumo de 100 g de derivado de mandioca fornece 1,0 - 2,8% da ingestão diária de Ca, 3,8 - 2,9% para Cu, 1,2 - 12,4% para Fe, 0,4 - 17,8% para Mg, 0,8 - 11,0% para Mn, 1,6 - 18,0% para P, 52,7 - 53,7% para Se e 7,0 - 9,1% para Zn.

Após avaliação da bioacessibilidade, ficou confirmado que os teores bioacessíveis são influenciados tanto pelo o processamento dos alimentos quanto pela sua composição. Foi possível estimar teores bioacessíveis apenas para Mn e Mg, sendo necessários estudos complementares para uma melhor avaliação da bioacessibilidade em amostras de fécula de mandioca.

Este trabalho tem uma contribuição significativa, seja pela proposta de um procedimento simples e de baixo custo para avaliação da composição elementar da fécula de mandioca, assim como estimar a bioacessibilidade de Mn e Mg, trazendo novas informações nutricionais e de interesse para a saúde pública. Estudos complementares devem ser realizados, de forma a ampliar este estudo para maior número de amostras e elementos.

8. REFERÊNCIAS

AGUDELO, M. A. H. **Estudo da bioacessibilidade in vitro (estática e dinâmica) de alguns metais de importância biológica em semente de soja transgênica e não transgênica.** Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química. Campinas, 2015.

AMORIM, J. F. O. DE; ROSÁRIO, F. J. P.; LEVINO, N. A.; COSTA, P. M. R.; LIMA, D. C. S. Inovações Inclusivas em Regiões Periféricas: um estudo do Arranjo Produtivo Local de Mandioca no Agreste alagoano. **Cadernos de Prospecção**, p. 259–272, ago. 2018.

AOAC. **Official methods of analysis of AOAC International, in Guidelines for Standard Method Performance Requirements (Appendix F).** Rockville.

ÁVILA, D. V. L.; SOUZA, S. O.; COSTA, S. S. L.; GARCIA, C. A. B.; ALVES, J. P. H.; ARAUJO, R. G. O.; PASSOS, E. A. Multivariate optimization of conditions for digestion of wet feeds for dogs and cats using a closed digester block and multielement determination by ICP-OES. **Journal of AOAC International**, v. 100, n. 5, p. 1483–1491, 2017.

AZMI, A. S.; YUSUF, N; JIMAT, D. N.; PUAD, N. I. M; Co-production of lactic acid and ethanol using rhizopus sp. from hydrolyzed inedible cassava starch and leaves. **IJUM Engineering Journal**, v. 17, n. 2, p. 1–10, 2016.

BARBOSA, I. S.; BRITO, G. B. DOS SANTOS, GABRIEL L.; SANTOS, L. N. TEIXEIRA, LEONARDO S. G. ARAUJO, RENNAN G. O. KORN, MARIA GRAÇAS A. Multivariate data analysis of trace elements in bivalve molluscs: Characterization and food safety evaluation. **Food Chemistry**, v. 273, p. 64–70, 2019.

BARBOSA, J. T. P.; SANTOS, C. M. M.; PERALVA, V. N.; FLORES, E. M. M.; KORN, M.; NÓBREGA, J. A.; KORN, M. G. A. Microwave-assisted diluted acid digestion for trace elements analysis of edible soybean products. **Food Chemistry**, v. 175, p. 212–217, 2015.

BEHERA, S.; RAY, R. C. Batch ethanol production from cassava (*Manihot esculenta* Crantz.) flour using *Saccharomyces cerevisiae* cells immobilized in calcium alginate. **Annals of Microbiology**, v. 65, n. 2, p. 779–783, 2015.

BONVEHÍ, J. S.; BERMEJO, F. J. O. Element content of propolis collected from different areas of South Spain. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 185, n. 7, p. 6035–6047, 2013.

BOSSO, S. T.; ENZWEILER, J. ENSAIOS PARA DETERMINAR A (BIO)DISPONIBILIDADE DE CHUMBO EM SOLOS CONTAMINADOS: REVISÃO. **Química Nova**, v. 31, n. 2, p. 394–400, 2008.

BRANDÃO, T. B. C. **Caracterização da qualidade da farinha de mandioca produzida no agreste alagoano.** Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Alagoas. Faculdade de Nutrição. Maceió, 2007.

BRASIL. **Resolução – RE nº 899, DE 29 de maio de 2003.** Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Diário Oficial da União. Brasília, 2003.

BRASIL. **Resolução RDC nº 263, de 22 de setembro de 2005 ementa.** Aprova o “Regulamento Técnico para produtos de cereais, amidos, farinhas e farelos”, constante do Anexo desta Resolução. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Diário Oficial da União. Brasília, 2005a.

BRASIL. **Instrução Normativa Nº 23, 14 de Dezembro de 2005.** Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Diário Oficial da União. Brasília, 2005b.

BRASIL. **RDC 269/2005: Regulamento Técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais.** Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Diário Oficial da União. Brasília, 2005c.

BRASIL. **Resolução - RDC nº 42 de 29 de Agosto de 2013.** Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Diário Oficial da União. Brasília, 2013.

BRITO, G. B. **Distribuição de elementos essenciais e contaminantes em fanerógama halodúle wrightii e macroalgas marinhas da Baía de Todos os Santos, Bahia, Brasil.** Dissertação de mestrado. Universidade Federal da Bahia. Instituto de Química. Salvador, 2011.

CAMPOS, V. M.; SILVA, F. L. F. OLIVEIRA., J. P. S. R., LÍVIA P. D. M., W. O.; LOPES, G. s. Investigation of a rapid infrared heating assisted mineralization of soybean matrices for trace element analysis. **Food Chemistry**, v. 280, n. November 2018, p. 96–102, 2019.

CHIOCCHETTI, G. M.; LATORRE, T.; CLEMENTE, M. J.; JADÁN-PIEDRA, C. D., V. Toxic trace elements in dried mushrooms: Effects of cooking and gastrointestinal digestion on food safety. **Food Chemistry**, v. 306, n. March 2019, p. 125478, 2020.

CORREIA, F. O. **Otimização de métodos analíticos para determinação de elementos essenciais e não essenciais em farinha de mandioca, trigo e milho consumida na cidade de Aracaju/SE.** Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Sergipe. São Cristóvão, 2014.

CORREIA, F. O.; SILVA, D. S.; COSTA, S. SILVÉRIO L.; SILVA, I. K.; DA SILVA, D. R.; ALVES, J. P. H.; GARCIA, C. A. B.; MARANHÃO, T. A. P.; PASSOS, E. A.; ARAUJO, R. G. O. Optimization of microwave digestion and inductively coupled plasma-based methods to characterize cassava, corn and wheat flours using chemometrics. **Microchemical Journal**, v. 135, p. 190–198, 2017.

COSTA, E. M. **Estratégias para caracterização da farinha de mandioca produzida no Estado da Bahia.** Tese de doutorado. Universidade Federal da Bahia. Instituto de Química. Salvador, 2012.

COSTA, V. C.; DE BABOS, D. V.; DE AQUINO, F. W. B.; VIRGÍLIO, A.; AMORIM, F. A. C.; PEREIRA-FILHO, E. R. Direct Determination of Ca, K and Mg in Cassava Flour Samples by Laser-Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS). **Food Analytical Methods**, v. 11, n. 7, p. 1886–1896, 2018.

COZZOLINO, S. M. F. **Biodisponibilidade de nutrientes.** 5º ed. SÃO PAULO: 1,

2016.

CUBADDA, F.; CIARDULLO, S.; D'AMATO, M.; RAGGI, A.; AURELI, F.; CARCEA, M. Arsenic contamination of the environment-food chain: A survey on wheat as a test plant to investigate phytoavailable arsenic in Italian agricultural soils and as a source of inorganic arsenic in the diet. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 18, p. 10176–10183, 2010.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de Alimentos de Fennema**. 4. ed. Porto Alegre, 2010.

DEBAUN, R. M.; CONNORS, W. M. Nutritional Assay: Relationship Between in Vitro Enzymatic Digestibility and In Vivo Protein Evaluation of Powdered Whey. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 2, n. 10, p. 524–526, 1954.

DEMIATE, I. M.; KOTOVICZ, V. Amido de mandioca na indústria brasileira de alimentos. **Ciencia e Tecnologia de Alimentos**, v. 31, n. 2, p. 388–397, abr. 2011.

EMBRAPA. **A Embrapa - Portal Embrapa**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/>>. Acesso em: 20 fev. 2020.

FAN, Y.; GAO, L.; YI, J.; ZHANG, Y.; YOKOYAMA, W. Development of β -Carotene-Loaded Organogel-Based Nanoemulsion with Improved in Vitro and in Vivo Bioaccessibility. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 65, n. 30, p. 6188–6194, 2017.

FAO. **Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura. Produzir mais com menos: Mandioca**, 2014. Disponível em: <<http://www.fao.org/ag/save-and-grow/cassava/pt/index.html>>. Acesso em: 12 fev. 2019.

FAO. **Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura. FAOSTAT**. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>>. Acesso em: 23 dez. 2019.

FELIPE, F. I.; ALVES, L. R. A.; VIEIRA, R. M. Produção na Tailândia versus Brasil. **Agroanalysis**, p. 1, 2013.

FERREIRA, S. L. C. **Introdução às técnicas de planejamento de experimentos**. 1. ed. Salvador: 1, 2015.

FIALHO, J. D. F.; VIEIRA, E. A. **Mandioca no cerrado: orientações técnicas**. 2º ed. Brasília: Embrapa, 2013a.

FIALHO, J. DE F.; VIEIRA, E. A. **Mandioca no cerrado Q u e s t õ e s p r á t i c a s**. 2º ed. Brasília: Embrapa, 2013b.

FIDELES, M. C.; BENTO, J. A. C.; FERREIRA, K. C.; DE OLIVEIRA, A. L. M.; CALIARI, M.; SOARES, M. S. Physicochemical and technological characteristics of arrowroot flour modified by ultrasound and low-temperature heat treatment. **Ciencia Rural**, v. 49, n. 10, p. 1–10, 2019.

FIORDA, F. A.; SOARES, M. S.; DA SILVA, F. A.; GROSMANN, M. V.E.; SOUTO, L. R.F. Microstructure, texture and colour of gluten-free pasta made with amaranth

flour, cassava starch and cassava bagasse. **LWT - Food Science and Technology**, v. 54, n. 1, p. 132–138, 2013a.

FIORDA, F. A.; SOARES, M.; JÚNIOR, S.; ALVES DA SILVA, F.; REIS, L.; SOUTO, F.; VICTÓRIA, M.; GROSSMANN, E. Farinha de bagaço de mandioca: aproveitamento de subproduto e comparação com fécula de mandioca. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 43, n. 4, p. 408–416, 2013b.

FREIRE, J. L. O.; CAVALCANTE, L. F. NASCIMENTO, R.; REBEQUI, A. M. Teores de clorofila e composição mineral foliar do maracujazeiro irrigado com águas salinas e biofertilizante. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 36, n. 1, p. 57–70, 2013.

FUMES, B. H.; SILVA, M. R.; ANDRADE, F. N.; NAZARIO, C. E. D.; LANÇAS, F. M. Recent advances and future trends in new materials for sample preparation. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, v. 71, p. 9–25, 2015.

FUNES PINTER, I.; SALOMON, M. V.; GIL, R.; MASTRANTONIO, L.; BOTTINI, R.; PICCOLI, P. Arsenic and trace elements in soil, water, grapevine and onion in Jáchal, Argentina. **Science of the Total Environment**, v. 615, p. 1485–1498, 2018.

GARCÍA-POYO, M. C.; GRINDLAY, G.; GRAS, L.; DE LOOS-VOLLEBREGT, M. T. C.; MORA, J. Non-spectral interferences due to the presence of sulfuric acid in inductively coupled plasma mass spectrometry. **Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy**, v. 105, p. 71–76, 2015.

GAUR, S.; AGNIHOTRI, R. Trace Mineral Micronutrients and Chronic Periodontitis—a Review. **Biological Trace Element Research**, v. 176, n. 2, p. 225–238, 2017.

GOMES, B. S.; et al. Assessment of the Concentration of Trace Elements in Cassava Flour (*Manihot esculenta* Crantz) by Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry. Vol 9, No. 4, |1699-1711| Rev. Virtual Quim. v. 9, n. 4, p. 1699–1711, 2017.

GONZÁLEZ, F. H. D.; SILVA, S. C. DA. **Minerais E Vitaminas No Metabolismo**. Porto Alegre: LACVET-Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias. Faculdade de Veterinária. Universidade do Rio Grande do Sul, 2019.

GUPTA, U. C.; GUPTA, S. C. Sources and Deficiency Diseases of Mineral Nutrients in Human Health and Nutrition: A Review. **Pedosphere**, v. 24, n. 1, p. 13–38, 2014.

HÖDÖRUGÖ, D. I.; COSTESCU, C. I., CORPAŞ, L.; HÖDÖRUGÖ, N; G. ISENGARD, H. D. Differentiation of rye and wheat flour as well as mixtures by using the kinetics of Karl Fischer water titration. **Food Chemistry**, v. 195, p. 49–55, 2015.

HOLLER, S. R.; SKOOG, DE D. A.; CROUCH, F. J. **Princípios de Análise Instrumental**. 6° ed. São Paulo: Bookman, 2009.

IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/lspa/referencias>>. Acesso em: 10 abr. 2019.

INMETRO. Doq-Cgcre-008 - Orientação Sobre Validação De Métodos Analíticos. **Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia**, n. 05, p. 31, 2016.

INSTITUTE OF MEDICINE. **Dietary Reference Intakes: The Essential Guide to Nutrient Requirements**. Washington, D.C.: National Academies Press, 2006.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos - 1ª Edição Digital**. IV ed. São Paulo: SES - CCD -IAL. Secretaria de Estado da Saúde. Coordenadoria de Controle de Doenças, 2008.

IUPAC. trace element. In: OXFORD (Ed.). **IUPAC Compendium of Chemical Terminology - G**. 2° ed. Research Triangle Park, NC: IUPAC, 2014. p. 2246.

IUPAC. Analytical Chemistry Division, Commission on Spectrochemical and Optical Procedures for Analysis. Nomenclature, Symbols, units and their usage in spectrochemical analysis – II. *Spectrochimica Acta Part B – Atomic Spectroscopy*, v. 33, p. 242 – 245, 1978.

JAEKEL, L. Z.; SCHMIELE, M.; DA SILVA RODRIGUES, R.; CHANG, Y. K.. Influence of the extrusion process on the technological properties of hydroxypropylated cross-linked cassava starch. **Journal of Food Science and Technology**. v. 52, 11, p. 7305-7312, 2015.

JÚNIOR, M. DE SOUZA M.; ALVES, R. N. B. **Cultura da mandioca: aspectos socioeconômicos, melhoramento genético, sistemas de cultivo, manejo de pragas e doenças e agroindústria**. 1° ed. Brasília: Embrapa, 2016. v. 1

KADAR, A.; NOËL, L.; CHEKRI, R.; VASTEL, C.; MILLOUR, S.; GUÉRIN, T. Optimisation of ICP-MS collision/reaction cell conditions for the determination of elements likely to be interfered (V, Cr, Fe, Co, Ni, As and Se) in foodstuffs. **Talanta**, v. 85, n. 5, p. 2605–2613, 2011.

KORN, M. G. A.; BOA MORTE, E. S.; SANTOS, D. C. M. B.; CASTRO, J. T.; BARBOSA, J. T. P.; TEIXEIRA, A. P.; FERNANDES, A. P.; WELZ, B. SANTOS, W. P. C.; SANTOS, E. B. G. N.; KORN, M. Sample preparation for the determination of metals in food samples using spectroanalytical methods - A review. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 43, n. 2, p. 67–92, 2008.

KRUG, F. J.; ROCHA, F. R. P. **Métodos de preparo de amostras para análise elementar**. PIRACICABA: SBQ - Sociedade Brasileira de Química, 2016.

KUBO, I.; SHIMIZU, K.; NIHEI, K. I. Maniçoba, a quercetin-rich Amazonian dish. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, p. 129–154, 1 dez. 2012.

LI, J.; LI, K.; CUI, X. Y.; BASTA, N. T.; LI, L. P.; LI, H. B.; MA, L. Q.. In vitro bioaccessibility and in vivo relative bioavailability in 12 contaminated soils: Method comparison and method development. **Science of the Total Environment**, v. 532, p. 812–820, 2015.

LI, P.; ZHU, M. A consolidated bio-processing of ethanol from cassava pulp accompanied by hydrogen production. **Bioresource Technology journal**, v. 102, p. 10471–10479, 2011.

LOMTHONG, T.; LERTWATTANASAKUL, N.; KITPREECHAVANICH, V. Production of raw starch degrading enzyme by the thermophilic filamentous bacterium *Laceyella sacchari* LP175 and its application for ethanol production from dried cassava chips.

Starch/Staerke, v. 68, n. 11–12, p. 1264–1274, nov. 2016.

LUCAS-GONZÁLEZ, R.; VIUDA-MARTOS, M.; PÉREZ-ALVAREZ, J. A.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J. In vitro digestion models suitable for foods: Opportunities for new fields of application and challenges. **Food Research International**, v. 107, n. February, p. 423–436, 2018.

MARTINEZ, D. G.; FEIDEN, A.; BARICCATTI, R.; ZARA, K. R. F. Ethanol production from waste of cassava processing. **Applied Sciences**, v. 8, n. 11, p. 2158, 2018.

MAY, T. W.; WIEDMEYER, R. H. A Table of Polyatomic Interferences in ICP-MS. **Atomic Spectroscopy**, v. 19, n. 5, p. 150–155, 1998.

MENDOZA, J. C.; GARRIDO, T. G.; QUILODRÁN, R. C.; SEGOVIA, C. M.; PARADA, A. J. Evaluation of the bioaccessible gastric and intestinal fractions of heavy metals in contaminated soils by means of a simple bioaccessibility extraction test. **Chemosphere**, v. 176, p. 81–88, 2017.

MILLER, J. N.; MILLER, J. C. **Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry**. 6. ed. England: Pearson, 2010.

MOHAN, G.; RAJU, J.; SHINY, R.; ABHILASH, P.V.; SOUMYA, S.; SHEELA, M.; BYJU, G. Biochemical , mineral and proximate composition of Indian cassava varieties. **International Journal of Chemical Studies**. v. 7, n. 4, Janeiro, 2019.

MONTAGNAC, J. A.; DAVIS, C. R.; TANUMIHARDJO, S. A. Nutritional value of cassava for use as a staple food and recent advances for improvement. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 8, n. 3, p. 181–194, 2009.

MONTASER, A.; GOLIGHTLY, D. W. **Inductively Coupled Plasmas in Analytical Atomic Spectrometry**. 2° ed. New York: VCH Publisher, 1992.

MORALES, C. F. G. **Avaliação do desempenho agrônômico e culinário de genótipos de mandioca (Manihot esculenta Crantz) em Pelotas, RS e Cruz das Almas, BA**. Pelotas: Tese de doutorado. Universidade Federal de Pelotas. Faculdade de Agronomia, 2015.

MULLER, E. I.; MULLER, C. C.; SOUZA, J. P.; MULLER, A. L.H.; ENDERS, M. S.P.; DONEDA, M.; FROHLICH, A. C.; IOP, G. D.; ANSCHAU, K. F. Green microwave-assisted wet digestion method of carbohydrate-rich foods with hydrogen peroxide using single reaction chamber and further elemental determination using ICP-OES and ICP-MS. **Microchemical Journal**, v. 134, p. 257–261, 2017.

NETO, B. D. B.; SCARMÍNIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos. Aplicações na Ciência e na Indústria**. 4° ed. Campinas: Unicamp, 2010.

NÓBREGA, J. A. et al. Microwave-assisted digestion of organic samples: How simple can it become? **Talanta**, v. 98, p. 272–276, 2012.

NOVAES, C. G. **Aplicação de técnicas quimiométricas na otimização de métodos usando a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado e espectrometria de absorção atômica com chama**

visando a análise de amostras ambientais. Tese de doutorado. Universidade Federal da Bahia. Instituto de Química. Salvador, 2011.

OOMEN, A. G.; ROMPELBERG, C. J.M.; BRUIL, M. A.; DOBBE, C. J.G.; PEREBOOM, D. P.K.H.; SIPS, A. J.A.M. Development of an in vitro digestion model for estimating the bioaccessibility of soil contaminants. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 44, n. 3, p. 281–287, 2003.

ORLANDINI, P.; LIMA, L. R. Sinopse do gênero *Manihot* Mill . (Euphorbiaceae) no Estado de São Paulo, Brasil. *Hoehnea*, v. 41, n. 1, p. 51– 60, 2014.

PALAVECINO, P. M.; PENCI, M. C.; RIBOTTA, P. D. Impact of chemical modifications in pilot-scale isolated sorghum starch and commercial cassava starch. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 135, p. 521–529, 2019.

PANIZ, F. P.; PEDRON, T.; FREIRE, B. M.; TORRES, D. P.; SILVA, F. F.; BATISTA, B. L. Effective procedures for the determination of As, Cd, Cu, Fe, Hg, Mg, Mn, Ni, Pb, Se, Th, Zn, U and rare earth elements in plants and foodstuffs. **Analytical Methods**, v. 10, n. 33, p. 4094–4103, 2018.

RASCHEN, M. R.; LUCION, F. B.; CICHOSKI, A. J.; MENEZES, C. R.; WAGNER, R.; LOPES, E. J.; ZEPKA, L. Q.; BARIN, J. S. Determinação do teor de umidade em grãos empregando radiação micro-ondas. **Ciencia Rural**, v. 44, n. 5, p. 925–930, 2014.

RUBY, M. V.; DAVIS, A.; LINK, T. E.; SCHOOF, R.; CHANEY, R. L.; FREEMAN, G. B.; BERGSTROM, P. Development of an in Vitro Screening Test to Evaluate the in Vivo Bioaccessibility of Ingested Mine-Waste Lead. **Environmental Science and Technology**, v. 27, n. 13, p. 2870–2877, 1993.

SANTOS, D. C. M. B.; CARVALHO, L. S. B.; LIMA, D. C.; LEÃO, D. J.; TEIXEIRA, L. S. G.; KORN, M. G. A. Determination of micronutrient minerals in coconut milk by ICP OES after ultrasound-assisted extraction procedure. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 34, n. 1, p. 75–80, 2014.

SANTOS, T. B. **Caracterização físico-química e morfologia de amidos do tipo ceroso de genótipos selecionados de mandioca.** Dissertação de mestrado. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Instituto de Tecnologia. Seropédica, 2018.

SANTOS, W. P. C.; RIBEIRO, N. M.; SANTOS, D. C. M. B.; KORN, M. G. A.; LOPES, M. V. Bioaccessibility assessment of toxic and essential elements in produced pulses, Bahia, Brazil. **Food Chemistry**, v. 240, p. 112–122, 2018.

SCHARF, B.; CLEMENT, C. C.; ZOLLA, V.; PERINO, G.; YAN, B.; ELCI, S. G.; PURDUE, E.; GOLDRING, S.; MACALUSO, F.; COBELLI, N.; VACHET, R. W.; SANTAMBROGIO, L. Molecular analysis of chromium and cobalt-related toxicity. **Scientific Reports**, v. 4, n. 5729, p. 1–12, 2014.

SEBRAE. **Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e pequenas Empresas. Estudo de Mercado sobre a Mandioca (Farinha e Fécula).** ESPM. SEBRAE. Disponível em:

<[http://www.biblioteca.sebrae.com.br/bds/BDS.nsf/2AA42520A9A66B5783257405004FCB94/\\$File/01.relatorio_MANDIOCA.pdf](http://www.biblioteca.sebrae.com.br/bds/BDS.nsf/2AA42520A9A66B5783257405004FCB94/$File/01.relatorio_MANDIOCA.pdf)>.

SENAR - SERVIÇO NACIONAL DE APRENDIZAGEM RURAL. **Agroindústria : Produção de derivados da mandioca**. Coleção SENAR – 214. Agroindústria: produção de derivados da mandioca. Brasília, 2018.. Acesso em: 23 dez. 2019.

SILVA, T. F. DA; CONTI-SILVA, A. C. Preference mappings for gluten-free chocolate cookies: Sensory and physical characteristics. **Nutrition and Food Science**, v. 46, n. 3, p. 374–387, 2016.

SORAPIPATANA, C.; YOOSIN, S. Life cycle cost of ethanol production from cassava in Thailand. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 15, p. 1343 – 1349, 2011.

SORIANO, E.; YUSÀ, V.; PASTOR, A.; DE LA GUARDIA, M. Dynamic reaction cell inductively couple plasma-mass spectrometry optimization for seawater analysis. **Microchemical Journal**, v. 137, p. 363–370, 2018.

SOUZA, L. A.; ROSENDE, M.; KORN, M. G. A.; MIRÓ, M. Flow-through dynamic microextraction system for automatic in vitro assessment of chyme bioaccessibility in food commodities. **Analytica Chimica Acta**, v. 1026, p. 51–61, 2018.

SOUZA, S. O.; COSTA, S. S. L.; SANTOS, D. M. S.; PINTO, J. S.; GARCIA, C. A. B.; ALVES, J. P. H.; ARAUJO, R. G. O.. Simultaneous determination of macronutrients, micronutrients and trace elements in mineral fertilizers by inductively coupled plasma optical emission spectrometry. **Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy**, v. 96, p. 1–7, 2014.

TAPPIBAN, P.; SMITH, D. R.; TRIWITAYAKORN, K.; BAO, J. Recent understanding of starch biosynthesis in cassava for quality improvement: A review. 2018.

TARANTINO, T. D. B. **Desenvolvimento de um procedimento alternativo para determinação de elementos traço em arroz empregando digestão assistida por micro-ondas com ácido nítrico diluído**. [s.l.] Dissertação de mestrado. Universidade Federal da Bahia. Instituto de Química. Salvador, 2012.

TBCA. **Tabela brasileira de composição de alimentos**. Disponível em: <http://www.tbca.net.br/base-dados/int_composicao_alimentos.php?cod_produto=C0906B>. Acesso em: 6 dez. 2019.

THERMOFISHER. **XSeries 2 ICP-MS Getting Started Guide**. Revision B ed. Alemanha: Thermo Fisher Scientific Inc., 2007.

THOMAS, P. C. **Desenvolvimento e produtividade da cultura da mandioca adubada com cama de aviário**. [s.l.] Dissertação de mestrado. Universidade de Rio Verde. Faculdade de Agronomia. Goiás, 2015.

THOMAS, R. **Practical guide**. 4° ed. Boca Raton: Taylor e Francis Group, 2013.

TODOLÍ, J. L.; MERMET, J. M. Acid interferences in atomic spectrometry: Analyte signal effects and subsequent reduction. **Spectrochimica acta, Part B: Atomic spectroscopy**, v. 54, n. 6, p. 895–929, 1999.

TORRES-LOZADA, P.; MARMOLEJO-REBELLÓN, L. F.; CAJIGAS-CERÓN, Á. A. Cassava starch separation: Evaluation of sedimentation by gravity in channels.

Ingenieria e Investigacion, v. 34, n. 1, p. 42–47, 2014.

TUZEN, M.; ULUOZLU, O. D.; MENDIL, D.; SOYLAK, M.; MACHADO, L. O. R.; SANTOS, W. N. L.; FERREIRA, S. L. C.. A simple, rapid and green ultrasound assisted and ionic liquid dispersive microextraction procedure for the determination of tin in foods employing ETAAS. **Food Chemistry**, v. 245, n. November 2016, p. 380–384, 2018.

TUZEN, M.; SOYLAK, M. Determination of trace metals in canned fish marketed in Turkey. **Food Chemistry**, v. 101, n. 4, p. 1378–1382, 2007.

VERSANTVOORT, C. H.M.; OOMEN, A. G.; VAN DE KAMP, E.; ROMPELBERG, C. J. M. SIPS, ADRIËNNE J.A.M. Applicability of an in vitro digestion model in assessing the bioaccessibility of mycotoxins from food. **Food and Chemical Toxicology**, v. 43, n. 1, p. 31–40, jan. 2005.

VIEIRA, T. S.; FREITAS, F. V.; SILVA, L. A. A.; BARBOSA, W. M.; SILVA, E. M. M. Efeito da substituição da farinha de trigo no desenvolvimento de biscoitos sem glúten. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 18, n. 4, p. 285–292, 2015.

VRIJENS, J.; COUCK, P.; S., C.; BAEYENS, W.; LEERMAKERS, M. Spectral interferences in the analysis of cadmium in human blood by ICP-MS: Comparison between high resolution sector field ICP-MS and quadrupole ICP-MS. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 26, n. 9, p. 1819–1826, 2011.

WANG, W.; HOSTETTLER, C. E.; DAMBERGER, F. F.; KOSSMANN, J.; LLOYD, J. R.; ZEEMAN, S. C.. Modification of cassava root starch phosphorylation enhances starch functional properties. **Frontiers in Plant Science**, v. 871, n. October, p. 1–16, 2018.

XAVIER, A. D. S.; FURTADO, D. Z. S.; ASSUNÇÃO, N. A.; NASCIMENTO, A. N. Bioaccessibility of Fe and Zn (associated to proteins) in cashew nut. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 83, p. 103259, 2019.

YAN, K.; DONG, Z.; NAIDU, R.; LIU, Y.; LI, Y.; WIJAYAWARDENA, A.; SANDERSON, P.; LI, H.; MA, L. Q. Comparison of in vitro models in a mice model and investigation of the changes in Pb speciation during Pb bioavailability assessments. **Journal of Hazardous Materials**, <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121744>, 2019.

ZHU, F. Composition, structure, physicochemical properties, and modifications of cassava starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 122, p. 456–480, 2015.