



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

FILIFE BARBOSA SANTANA

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS ANALÍTICOS PARA
QUANTIFICAÇÃO DO TEOR TOTAL DE MINERAIS EM PALMAS
FORRAGEIRAS CRUAS E COZIDAS DO ESTADO DA BAHIA**

Salvador / BA

2020

FILIFE BARBOSA SANTANA

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS ANALÍTICOS PARA
QUANTIFICAÇÃO DO TEOR TOTAL DE MINERAIS EM PALMAS
FORRAGEIRAS CRUAS E COZIDAS DO ESTADO DA BAHIA**

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

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Daniele Cristina M. B. dos Santos

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Laís Araújo Souza

Salvador / BA

2020



SERVICO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA



TERMO DE APROVAÇÃO

FILIPE BARBOSA SANTANA

"DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS ANALÍTICOS PARA QUANTIFICAÇÃO DO TEOR TOTAL DE MINERAIS EM PALMAS FORRAGEIRAS CRUAS E COZIDAS DO ESTADO DA BAHIA"

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

Prof^a. Dr^a. Daniele Cristina Muniz Batista dos Santos

Doutorado em Química, Universidade Federal da Bahia (UFBA)

Universidade Federal da Bahia

Prof^a. Dr^a. Laís Araújo Souza

Doutorado em Química, Universidade Federal da Bahia (UFBA)

Universidade Federal da Bahia

Prof^a. Dr^a. Letícia Malta Costa

Doutorado em Química, Universidade Federal de São Carlos (UFSCar)

Universidade Federal de Minas Gerais

Prof. Dr. Rodolfo de Melo Magalhães Santana

Doutorado em Química, Universidade Federal da Bahia (UFBA)

Universidade Federal da Bahia

Salvador, 11 de setembro de 2020.

Rua Barão de Jeremoabo, 147 – Campus Universitário de Ondina 40170-115 Salvador, BA Tel:
(71) 3283-6805

E-mail: secpgquim@ufba.br

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Universitária de Ciências e Tecnologias Prof. Omar Catunda, SIBI - UFBA.

S232 Santana, Filipe Barbosa

Desenvolvimento de métodos analíticos para quantificação do teor total de minerais em palmas forrageiras cruas e cozidas do estado da Bahia / Filipe Barbosa Santana. – Salvador, 2020. 97 f.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Daniele Cristina M. B. dos Santos
Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Laís Araújo Souza

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal da Bahia. Instituto de Química, 2020.

1. Química Analítica. 2. Alimentos – Teor mineral. 3. Cacto. 4. Análise espectral. I. Santos, Daniele Cristina M. B. II. Souza, Laís Araújo. III. Universidade Federal da Bahia. IV. Título.

CDU 543

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus pois, sem ele não teria chegado a lugar nenhum.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) pela bolsa concedida.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo auxílio financeiro no projeto.

Ao Programa de Apoio a Jovens Professores Doutores (PROPESQ/UFBA, Edital PROPCI/PROPG N^o. 004/2016).

A minha mãe Tanilza pelo apoio, companheirismo, cumplicidade e acreditar no meu sucesso.

A minha família por torcer por mim e acreditar no meu sucesso.

A minha excelente orientadora, Profa. Daniele Muniz pela oportunidade, atenção, ensinamentos, exemplo de pessoa, profissional e confiança depositada desde a iniciação científica.

A minha co-orientadora, Profa. Laís Araújo, pelas excelentes contribuições para a minha formação desde a iniciação científica até o desenvolvimento do mestrado.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química e aos professores do Instituto de Química da UFBA pela contribuição para minha formação.

A professora Maria das Graças pelo carinho e pelas contribuições para a minha formação.

Ao professor Rennan Araújo pela ajuda na parte quimiométrica e pelas excelentes contribuições a este trabalho.

Ao LEPETRO pela disponibilização para utilizar seus equipamentos, em especial a Dra. Sarah Rocha.

Ao Departamento de Química do IFBA, em especial a Profa. Wagna Piler pela parceria na parte da cocção.

A todos os professores, amigos e colegas do GPQA pela convivência, colaboração e momentos de descontração. Em especial aos que se tornaram grandes amigos como Hilária, Leilane, Renata, Thaís e Wellington.

Aos demais amigos dos laboratórios do departamento de Química Analítica: Yvonbergues, Ícaro Porto e Rafael Franco.

Aos colegas do Laboratório 413 pela convivência e companheirismo.

Aos demais amigos fora da UFBA que torcem por mim e em acompanharam nessa caminhada: Larissa, Leonardo, Talitha, Tiago, Lídice e Rodrigo.

RESUMO

A palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* e *Nopalea cochenilifera*) tem sido uma das cactáceas mais cultivadas na região nordeste brasileira por manter-se resistente ao longo do período seco, servindo tanto para alimentação animal quanto para alimentação humana. Apesar de estar sendo bastante cultivada no nordeste brasileiro, ainda há uma escassez de informações referentes à sua composição mineral. Desta forma, este trabalho tem por objetivo propor estratégias analíticas para determinação do teor total de As, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Na, P, Pb, Sr e Zn em folhas de palma crua e cozidas empregando diferentes procedimentos de preparo de amostras e determinação por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES). As amostras foram coletadas em diferentes cidades do estado da Bahia (11) e uma na cidade de Serra Talhada (Pernambuco) para fins de comparação entre os diferentes estados. Para avaliar o teor total foram propostos os seguintes procedimentos: i) decomposição ácida em bloco digestor com sistema fechado; ii) extração ácida empregando um banho ultrassônico. Na otimização de ambos os procedimentos foram empregados um planejamento fatorial completo e a massa pesada foi cerca de 0,5 gramas. A condição ótima de decomposição ácida foi: HNO₃ (5,0 mol L⁻¹) adição de 2,0 mL de H₂O₂ (30 % m m⁻¹) durante 2 horas à temperatura de 180°C. Para o procedimento de extração, a condição ótima foi 10 mL de HNO₃ (1,5 mol L⁻¹) sonicados por 7 minutos e 30 segundos. A exatidão para o procedimento (i) foi verificada por meio de material certificado de referência (CRM Agro C1003a – Folha de tomate e CRM NIST 1547 – Folha de pêssgo) e testes de adição e recuperação e, para o procedimento (ii) com CRM Agro C1003a, CRM NIST 1573a – Folha de tomate e CRM Agro FC_012017 – Folha de cana de açúcar e comparação com o procedimento (i). Em ambos os procedimentos os percentuais de recuperação variaram entre 80 e 120 %. A precisão para os dois procedimentos foi avaliada a partir do desvio padrão relativo (%), n=10, sendo menor ou igual a 7,0% para todos os analitos. Após aplicar os procedimentos (i) e (ii) nas 12 amostras, observou-se que as maiores concentrações foram para Ca, seguido por K, Mg e P. As menores concentrações foram observadas para o microelemento Cu, seguido por Fe, Zn, Ba e Sr. Vale ressaltar que para o procedimento (ii) não houve bons percentuais de extração para Ca e Fe. Os analitos As, Cd, Co, Cr, Na e Pb ficaram abaixo do limite de quantificação, em todas as amostras, nos dois procedimentos propostos. Ferramentas estatísticas como a análise de componente principal (PCA) e análise de agrupamento hierárquico (HCA) foram aplicadas e foi observada uma tendência de similaridade entre as amostras com uma pequena dispersão entres as variedades estudadas. Verificou-se também a influência do processo de cozimento na concentração dos elementos presentes nas folhas de palma. Observou-se, que as alterações na concentração dos elementos são menores no micro-ondas quando comparados ao fogão. A avaliação da ingestão diária recomendada (IDR), demonstrou que a ingestão regular de 50 g de palma, crua ou cozida, possuem boa contribuição para a ingestão de elementos essenciais como Ca, Cu, Fe, K, Mg, P e Zn, sendo as maiores contribuições, em %, para Ca (44-240), Mg (89-236) e Zn (8,8-75).

Palavras-chave: Palma forrageira, decomposição ácida, extração, cocção, ICP OES, minerais

ABSTRACT

The forage palm (*Opuntia ficus-indica* and *Nopalea cochenilifera*) has been one of the most cultivated cacti in the northeast region of Brazil because it remains resistant throughout the dry period, serving both for animal and human food. Despite being widely cultivated in northeastern Brazil, there is still a lack of information regarding its mineral composition. Thus, this work aims to propose analytical strategies to determine the total content of As, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Na, P, Pb, Sr and Zn in palm leaves raw and cooked using different sample preparation procedures and determination by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES). The samples were collected in different cities in the state of Bahia (11) and one in the city of Serra Talhada (Pernambuco) for comparison between the different states. To assess the total content, the following procedures were proposed: i) acid decomposition in a digester block with a closed system; ii) ultrasound assisted extraction. In the optimization of both procedures, a complete factorial design was used and the heavy mass was about 0.5 grams. The optimal condition for acid decomposition was: HNO₃ (5.0 mol L⁻¹) addition of 2.0 mL of H₂O₂ (30% m m⁻¹) for 2 hours at 180 °C. For the extraction procedure, the optimal condition was 10 mL of HNO₃ (1.5 mol L⁻¹) sonicated for 7 minutes and 30 seconds. The accuracy for the procedure (i) was verified using certified reference material (CRM Agro C1003a – Tomato leaves and CRM NIST 1547 - Peach leaves) and addition and recovery tests and, for procedure (ii) with CRM Agro C1003a, CRM NIST 1573a - Tomato leaf and CRM Agro FC_012017 - Sugar cane leaf and comparison with procedure (i). In both procedures, the recovery percentages varied between 80 and 120%. The precision for both procedures was assessed based on the relative standard deviation (%), n = 10, being less than or equal to 7.0% for all analytes. After applying procedures (i) and (ii) to the 12 samples, it was observed that the highest concentrations were for Ca, followed by K, Mg and P. The lowest concentrations were observed for the Cu microelement, followed by Fe, Zn, Ba and Mr. Vale point out that for procedure (ii) there were no good extraction percentages for Ca and Fe. Analyzes As, Cd, Co, Cr, Na and Pb were below the limit of quantification, in all samples, in two proposed procedures. Statistical tools such as principal component analysis (PCA) and hierarchical cluster analysis (HCA) were applied and a similarity trend was observed between the samples with a small dispersion among the studied varieties. The influence of the cooking process on the concentration of the elements present in the palm leaves was also verified. It was observed that the changes in the concentration of the elements are smaller in the microwave when compared to the stove. The evaluation of the recommended daily intake (RDI) showed that regular intake of 50 g of raw or cooked palm has a good contribution to the intake of essential elements such as Ca, Cu, Fe, K, Mg, P and Zn, being the highest contributions, in %, to Ca (44-240), Mg (89-236) and Zn (8,8-75).

Keywords: Forage palm, acid decomposition, extraction, cooking, ICP OES, minerals

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Características anatômicas da palma forrageira.	17
Figura 2. (a) Palma gigante; (b) Palma doce ou miúda.	18
Figura 3. Amostras de palma forrageira adquiridas.	31
Figura 4. Gráfico de Pareto para o planejamento fatorial 2^4 com DOC (%).	45
Figura 5. Gráfico de Pareto para o planejamento fatorial 2^4 com Resposta Múltipla.	45
Figura 6. Perfis para valores previstos e desejabilidade para o planejamento fatorial 2^4 com DOC e RM.	47
Figura 7. Gráfico das três componentes principais obtidas para as amostras: (a) escore de PC1 X PC2; (b) peso de PC1 x PC2.	64
Figura 8. Gráfico das três componentes principais obtidas para as amostras: (a) escore de PC1 X PC3; (b) peso de PC1 x PC3.	65
Figura 9. Dendograma correspondente à classificação de 36 amostras de palma forrageira por HCA, com distâncias Euclidianas.	67
Figura 10. Gráfico de Pareto para a Resposta múltipla, após aplicação do planejamento fatorial 2^3 para a extração.	72
Figura 11. Gráfico de Pareto para a resposta múltipla, após aplicação do planejamento fatorial 2^3 para a cocção.	82

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Aplicações e usos da palma forrageira entre 2010 e 2020.	19
Tabela 2. Codificação das amostras com respectiva localização geográfica.	30
Tabela 3. Condições operacionais do ICP OES.	34
Tabela 4. Fatores e níveis experimentais estabelecidos para o planejamento fatorial 2^4 para otimização do procedimento de decomposição em bloco digestor em sistema fechado.	35
Tabela 5. Matriz do planejamento fatorial completo 2^3 para otimização do procedimento de extração em banho ultrassônico.	36
Tabela 6. Matriz do planejamento fatorial completo 2^3 para otimização do procedimento de cocção da folha de palma.	37
Tabela 7. Comparação da concentração, em $\mu\text{g g}^{-1}$, da palma inteira seca e úmida após decomposição em bloco digestor em sistema fechado (média \pm desvio, $n=3$).	39
Tabela 8. Comparação das concentrações na palma inteira e somente na casca secas, em $\mu\text{g g}^{-1}$, após decomposição em bloco digestor fechado (média \pm desvio, $n=3$).	40
Tabela 9. Comparação entre amostra seca em estufa e amostra seca em liofilizador, em $\mu\text{g g}^{-1}$, após decomposição em bloco digestor fechado (média \pm desvio, $n=3$).	41
Tabela 10. Comparação do desvio padrão relativo das amostras passadas ou não na malha, em %, após decomposição em bloco digestor fechado ($n=3$).	42
Tabela 11. Respostas ao planejamento fatorial completo 2^4 para decomposição ácida em bloco digestor fechado.	44
Tabela 12. Teor de carbono orgânico dissolvido nas amostras após decomposição ácida em bloco digestor com sistema fechado ($n=3$).	48
Tabela 13. Valores de LOD e LOQ para os analitos estudados após decomposição ácida e quantificação por ICP OES.	50
Tabela 14. Curvas analíticas de calibração das amostras após decomposição ácida e quantificação por ICP OES.	51

Tabela 15. Composição do material de referência certificado, em $\mu\text{g g}^{-1}$, CRM Agro C1003a, após digestão ácida em bloco digestor fechado (média \pm desvio padrão, $n=3$).	52
Tabela 16. Composição do material de referência certificado, em $\mu\text{g g}^{-1}$, CRM NIST 1515, após digestão ácida em bloco digestor fechado (média \pm intervalo de confiança $n=3$).	53
Tabela 17. Valores de percentual obtidos para o teste de adição e recuperação em três níveis de concentração para as determinações por ICP OES.	54
Tabela 18. Coeficientes angulares das curvas analíticas de calibração para o estudo do efeito de matriz usando soluções padrão em ácido diluído e no meio da amostra empregando-se ICP OES.	55
Tabela 19. Resultados do teste de repetitividade ($n=10$) após aplicação do método de decomposição ácida.	57
Tabela 20. Concentração dos analitos após decomposição ácida em bloco digestor fechado (média \pm desvio padrão, $n=3$).	61
Tabela 21. Percentuais de extração (%) dos analitos, após aplicação do planejamento fatorial 2^3 , para de massa 0,5 g.	70
Tabela 22. Percentuais de extração (%) dos analitos, após aplicação do planejamento fatorial 2^3 , para de massa 1,0 g.	71
Tabela 23. Respostas ao planejamento fatorial 2^3 para a extração em banho ultrassônico.	72
Tabela 24. Limites de detecção e quantificação para os analitos, após aplicação do procedimento de extração em banho ultrassônico por ICP OES.	73
Tabela 25. Curvas analíticas de calibração das amostras após extração em banho ultrassônico e quantificação por ICP OES.	74
Tabela 26. Composição do material de referência certificado, em $\mu\text{g g}^{-1}$, CRM NIST 1573a (média \pm IC, $n=4$) após procedimento de extração.	75
Tabela 27. Composição do material de referência certificado, em $\mu\text{g g}^{-1}$, CRM Agro C1003a (média \pm desvio padrão, $n=4$) após procedimento de extração.	76

Tabela 28. Composição do material de referência certificado, em $\mu\text{g g}^{-1}$, CRM Agro FC_012017 após procedimento de extração (média \pm IC, n=4).	76
Tabela 29. Comparação da concentração média para a amostra CM, em $\mu\text{g g}^{-1}$, obtida pela extração com um método de decomposição total em bloco digestor fechado com sistema fechado.	77
Tabela 30. Resultados do teste de repetitividade (n=10) após aplicação do método de extração em banho ultrassônico.	78
Tabela 31. Concentração dos analitos nas amostras de folha de palma após aplicação do procedimento de extração.	80
Tabela 32. Resposta múltipla para o planejamento fatorial 2^3 para o procedimento de cocção.	82
Tabela 33. Teor de microelementos na palma e na água de cocção após aplicação do procedimento de cocção em forno de micro-ondas caseiro em comparação com os teores de microelementos na palma crua.	85
Tabela 34. Teor de macroelementos na palma e na água de cocção após aplicação do procedimento de cocção em forno de micro-ondas caseiro em comparação com os teores de macroelementos na palma crua.	86
Tabela 35. IDR dos minerais e sua contribuição para a ingestão regular de 50 g de folha de palma.	88

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	Análise de variância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CRM	Material de Referência Certificado do inglês: <i>“Certified Reference Material”</i>
DOC	Carbono Orgânico Dissolvido, do inglês: <i>“Dissolved Organic Carbon”</i>
DPR	Desvio padrão relativo
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FAAS	Espectrometria de absorção atômica com chama, do inglês: <i>“Flame Atomic Absorption Spectrometry”</i>
HCA	Análise de agrupamento hierárquico, do inglês: <i>“Hierarchical cluster analysis”</i>
ICP OES	Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado, do inglês: <i>“Inductively coupled plasma optical emission spectrometry”</i>
IDR	Ingestão Diária Recomendada
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia
IUPAC	União Internacional de Química Pura e Aplicada, do inglês: <i>“International Union of Pure and Applied Chemistry”</i>
LOD	Limite de detecção, do inglês: <i>“Limit of detection”</i>
LOQ	Limite de quantificação, do inglês: <i>“Limit of quantification”</i>
MIP OES	Espectrometria de Emissão Óptica com plasma induzido por micro-ondas, do inglês: <i>“Microwave induced plasma with optical emission spectrometry”</i>
PANC	Planta alimentícia não convencional
PC	Componente principal, do inglês: <i>“Principal component”</i>
PCA	Análise de Componentes Principais, do inglês: <i>“Principal component analysis”</i>
RM	Resposta Múltipla

SUMÁRIO

1) Introdução	15
2) Fundamentação teórica.....	16
2.1 A palma forrageira.....	16
2.2 Procedimentos de preparo da amostra para análise elementar	20
2.2.1) Decomposição da matéria orgânica por via úmida	20
2.2.2) Extração assistida por ondas ultrassônicas	22
2.3 Ferramentas quimiométricas aplicadas à química analítica	23
2.3.1) Técnicas de planejamento de experimentos.....	23
2.3.2) Análise multivariada de dados	25
2.4 Métodos de cocção de alimentos	26
2.5 Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado	27
3) Objetivos.....	29
3.1) Objetivo Geral	29
3.2) Objetivos Específicos.....	29
4) Parte Experimental.....	30
4.1) Amostras e materiais certificados de referência	30
4.2) Reagentes e Soluções	32
4.3) Instrumentação	33
4.4) Otimização dos procedimentos de preparo de amostra	34
4.4.1) Decomposição em Bloco Digestor em Sistema Fechado	34
4.4.2) Extração em Banho Ultrassônico.....	35
4.5) Procedimentos de cocção.....	36
5) Resultados e discussão	38
5.1) Procedimento de decomposição em bloco digestor em sistema fechado	38
5.1.1) Estudos preliminares	38
5.1.1.1) Comparação entre procedimento de digestão para a amostra seca ou amostra úmida	38
5.1.1.2) Comparação entre teor na palma inteira e teor somente a casca ...	39
5.1.1.3) Comparação entre secar a amostra na estufa e no liofilizador	40
5.1.1.4) Comparação entre homogeneizar ou não a amostra	41
5.1.2) Otimização do procedimento de decomposição ácida	42

5.1.3) Carbono Orgânico Dissolvido	47
5.1.4) Validação do método de decomposição ácida	48
5.1.4.1) Limites de detecção e quantificação	49
5.1.4.2) Linearidade e faixa linear de trabalho.....	50
5.1.4.3) Exatidão.....	51
5.1.4.4) Efeito de matriz.....	54
5.1.4.5) Precisão.....	56
5.1.5) Aplicação nas amostras.....	57
5.1.6) Análise multivariada dos dados.....	62
5.2) Alternativa a decomposição ácida: extração em banho ultrassônico	68
5.2.1) Estudo da massa e otimização do procedimento de extração	68
5.2.2) Validação do método de extração	73
5.2.2.1) Limites de detecção e quantificação	73
5.2.2.2) Linearidade e faixa linear de trabalho.....	74
5.2.2.3) Exatidão.....	74
5.2.2.4) Precisão.....	78
5.2.3) Aplicação nas amostras.....	78
5.3) Avaliação da influência da cocção na concentração dos minerais na folha de palma.....	81
5.3.1) Otimização do procedimento de cocção	81
5.3.2) Aplicação do procedimento de cocção	83
5.4) Avaliação da contribuição desses minerais para a Ingestão diária recomendada (IDR)	87
6) CONSIDERAÇÕES FINAIS	89
REFERÊNCIAS.....	91

1) Introdução

A maior parte do território do nordeste brasileiro é caracterizado por um clima semiárido, o qual está sujeito a elevados períodos de seca, afetando diretamente a disponibilidade de alimentos para a produção animal, o que inviabiliza as atividades agropecuárias nessa região (MARQUES *et al.*, 2017). Deste modo, a busca por alimentos que possibilitem a alimentação animal nesses períodos de grande estiagem tem crescido bastante e, a palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* e *Nopalea cochenilifera*) vem ganhando destaque nas últimas décadas como uma alternativa para alimentação dos rebanhos e manutenção da atividade pecuária no semiárido nordestino. Tal fato se deve por ser uma cactácea que atinge até cerca de 90% do seu peso em água, mantendo-se resistente ao longo do período seco (BRASIL, 2013; CARDOSO *et al.*, 2019; MARQUES *et al.*, 2017).

A palma forrageira tem sido uma das cactáceas mais cultivada no mundo, sendo encontrada em regiões com baixa disponibilidade hídrica ou alta variabilidade do regime pluviométrico, na qual a produção de outras plantas forrageiras, tais como capim pangola e braquiárias, é limitada (SALEHI *et al.*, 2019). Sua cultura vem sendo indicada para alimentação animal, pois é uma fonte alimentar de carboidratos, minerais, vitaminas, é de fácil digestibilidade, além de ter aceitabilidade pelos rebanhos (BRASIL, 2019). Dessa forma, viabiliza a produção de carne e de leite nessas regiões, e permite a geração de renda e alimentos para milhares de famílias (VOLTOLINI *et al.*, 2016).

Além da alimentação animal, a palma também tem sido utilizada no preparo de bebidas e sobremesas para alimentação humana (MÉNDEZ *et al.*, 2015; SALEHI *et al.*, 2019) sendo, portanto, considerada uma planta alimentícia não convencional – PANC (KELEN *et al.*, 2015). De acordo com Tuler, Peixoto e Silva (2019), as PANCs são as plantas que possuem uma ou mais partes comestíveis, que não estão incluídas em nosso cardápio cotidiano, sendo principalmente encontradas em comunidades tradicionais e de pequenos agricultores familiares.

Apesar de estar sendo bastante cultivada no nordeste brasileiro, ainda não há informações na literatura referente à composição mineral da palma forrageira nessa região, tornando-se necessário mais estudos acerca desse tipo de alimento em termos de elementos essenciais e potencialmente tóxicos.

A informação química dos alimentos é importante no que tange a uma população, porque os elementos químicos participam de diversos processos metabólicos no corpo, sendo necessário monitorá-los. Na alimentação humana, os elementos podem ser divididos em 2 grupos: macromelementos, os quais são necessários mais de 100 mg por dia (C, O, H, N, S, P, Cl, Na, K, Ca, Mg) e constituem mais de 99,0% do peso corporal e micromelementos (elementos vestigiais) cujo suprimento diário é inferior a 100 mg por dia, como por exemplo, Fe, Zn, Cu, Cr, F, Se, I, Mn, Si. No entanto, também existem elementos cujo papel no organismo humano é prejudicial em qualquer quantidade tais como Pb, Cd e Hg, e Al cuja toxicidade ainda é objeto de investigações (DŁUGASZEK, 2018).

Na ausência de testes de biodisponibilidade, a determinação da composição mineral de alimentos envolvendo diferentes métodos de cozimento é uma das alternativas mais recomendadas para a obtenção de dados mais seguros para nutricionistas envolvidos no planejamento de cardápios (De SOUZA *et al.*, 2016). Portanto, o desenvolvimento de métodos analíticos que visem investigar o teor total e avaliar a influência do processo de cozimento na concentração de elementos essenciais e potencialmente tóxicos em amostras de folha de palma são de extrema importância para contribuir de forma significativa para a segurança alimentar, gerando dados comparáveis, bem como a validação desses processos analíticos, para a confiabilidade dos resultados gerados.

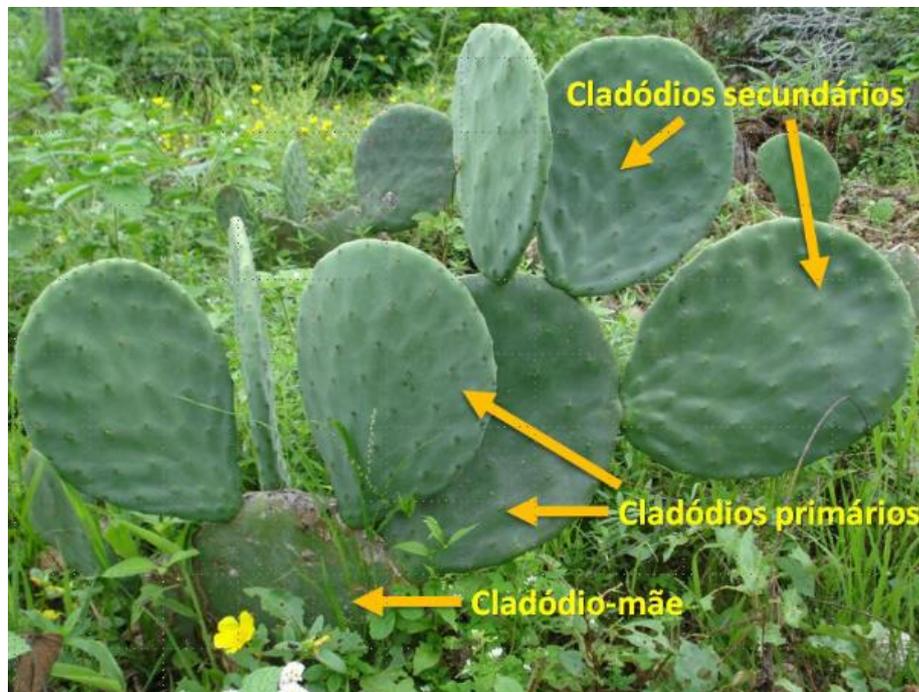
2) Fundamentação teórica

2.1 A palma forrageira

A palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* e *Nopalea cochenilifera*) é uma planta originária das regiões áridas e semiáridas do México (MARQUES *et al.*, 2017), sendo atualmente encontrada em diferentes países como Marrocos, Tunísia, Eritreia, Etiópia, Argentina, Peru, Bolívia, Brasil, Estados Unidos, Espanha, Itália, Israel, Irã e África do Sul (SALEHI *et al.*, 2019). Possui alta capacidade de adaptação a diferentes condições ambientais e, portanto, pode ser plantada em vários sistemas ecológicos, crescendo, essencialmente, nas regiões tropicais e subtropicais (BAYAR, KRIAA e KAMMOUN, 2016; SALEHI *et al.*, 2019).

De acordo com Marques *et al.* (2017), a palma possui estrutura anatômica (Figura 1) peculiar com folhas em forma de espinhos endurecidos e pontiagudos, o caule é do tipo cladódio (comumente chamado de raquete) que se caracteriza pelo aspecto volumoso ou “carnudo”, verdes e achatados, podendo ser classificados em primário ou secundário, de acordo com a sua disposição sobre o crescimento. São ramificadas, de porte arbustivo, com altura entre 1,5 e 3 m, mais compridos (30 - 60 cm) do que largos (6 - 15 cm), variando de densamente espinhosos até desprovidos de espinhos (CAMPOS *et al.*, 2017).

Figura 1. Características anatômicas da palma forrageira.



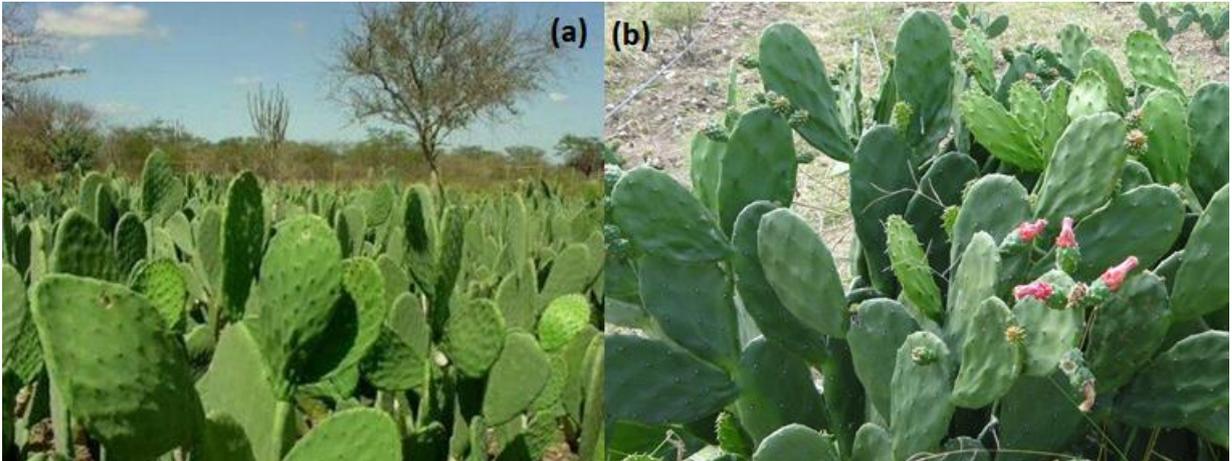
Fonte: MARQUES *et al.*, 2017.

Esta planta pertence à família das *Cactaceae* e à ordem *Centrospermae* (NHARINGO e MOYO, 2016). As duas espécies de palma forrageira mais cultivadas aqui no Brasil são a *Opuntia ficus-indica* conhecida como palma gigante e *Nopalea cochenilifera* conhecida como palma miúda ou palma doce (CAMPOS *et al.*, 2017; MARQUES *et al.*, 2017). A espécie *Opuntia ficus-indica* (Figura 2a) apresenta raquetes ovaladas de cor verde escura com 19 a 28 mm de espessura, 30 a 60 cm de comprimento, 20 a 40 cm de largura, recobertas por uma camada de cera.

Enquanto que a *Nopalea cochenilifera* (Figura 2b) apresenta raquetes em torno de 25 cm de comprimento com formato abovado (base mais fina que a ponta)

e coloração verde intenso brilhante, o caule apresenta grande ramificação e de pequeno porte, as flores são vermelhas e durante o ciclo a corola permanece semiaberta, o fruto tem formato de baga e com cor roxa (MARQUES *et al.*, 2017).

Figura 2. (a) Palma gigante; (b) Palma doce ou miúda.



Fonte: Google imagens.

A composição química da palma forrageira pode variar de acordo com a espécie, fase de desenvolvimento, época do ano, espaçamento e adubação (BAYAR, KRIAA e KAMMOUN, 2016; EMBRAPA, 2012). Ela é rica em carboidratos não fibrosos (62%) e nutrientes digestíveis totais (62%), apresenta baixos teores de matéria seca (12%), proteína bruta (5%), fibra em detergente neutro (27%), fibra em detergente ácido (19%) e teores consideráveis de matéria mineral (12%) (EMBRAPA, 2012).

Atualmente, a palma forrageira tem sido empregada em diversas aplicações, sendo objeto de estudo devido ao seu potencial farmacêutico, presença de fitoquímicos, filme de revestimento para prolongar a vida útil dos alimentos, composição de ácidos graxos e descontaminação de água do rio e de águas residuais através da adsorção e processos de coagulação-floculação (NHARINGO e MOYO, 2016).

Na Tabela 1, podem ser observados alguns estudos, entre 2010 e 2020 que investigaram as propriedades da palma forrageira. Nota-se que a palma tem sido estudada com diversos objetivos em relação às propriedades bioquímicas (KAUR *et al.*, 2012), tratamento de doenças (THOUNAOJAM *et al.*, 2015), novas aplicações (DAMASCENO *et al.*, 2016) e utilização com outros materiais (CASSANO *et al.*,

2010), apresentando um grande potencial tecnológico e inovador (VILA NOVA, 2018). Por outro lado, foram encontrados apenas dois trabalhos visando a determinação da composição mineral: o primeiro trabalho, de Méndez *et al.* (2015), os autores determinaram P, Na, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn, Mn e Cr em amostras de cactos de *Opuntia dillenii* e *Opuntia ficus indica* das Ilhas de Tenerife na Espanha por FAAS. O segundo trabalho, de Salehi *et al.* (2019), os pesquisadores determinaram Ca, Mg, Mn, K, P, Cu, Al, Ni e Na em folhas de palma do Irã por ICP OES. Não foram encontrados nenhum tipo de estudo com relação à composição mineral da palma forrageira aqui no Brasil.

Tabela 1. Aplicações e usos da palma forrageira entre 2010 e 2020.

Tipo de Estudo	Referência
Corante natural para bebidas e produtos lácteos	CASSANO <i>et al.</i> , 2010
Controle do diabetes mellitus	GODARD <i>et al.</i> , 2010
Aplicações Farmacêuticas	KAUR <i>et al.</i> , 2012
Tratamento do câncer no cólon do útero	SERRA <i>et al.</i> , 2013
Tratamento de doenças sexualmente transmissíveis	SEMENYA <i>et al.</i> , 2013
Tratamento de obesidades, síndrome metabólica e diabetes	THOUNAOJAM <i>et al.</i> , 2015
Absorção de Cádmio e biotratamento de metais potencialmente tóxicos	FOX <i>et al.</i> , 2012; BARKA <i>et al.</i> , 2013; NHARINGO e MOYO, 2016
Tratamento de resíduos de água	DE SOUZA <i>et al.</i> , 2014; NHARINGO <i>et al.</i> , 2015
Aplicações na formulação de cosméticos	DAMASCENO <i>et al.</i> , 2016
Reflorestamento e recuperação do solo	AYNEKULU <i>et al.</i> , 2016
Benefícios gastrointestinais	VERÓN <i>et al.</i> , 2017
Atividade antioxidante e propriedades funcionais	SALEHI <i>et al.</i> , 2019 BARBA <i>et al.</i> , 2020

Fonte: VILA NOVA, 2018 – Adaptado.

A palma forrageira também vem sendo consumida na alimentação humana, principalmente nas regiões de baixa disponibilidade hídrica (MÉNDEZ *et al.*, 2015; SALEHI *et al.*, 2019). Por conter proteínas, vitaminas, minerais, fibras e compostos bioativos estudos relacionados aos valores nutricionais e funcionais dessa cactácea

tem crescido bastante (DE SANTIAGO *et al.*, 2018; SALEHI *et al.*, 2019). Como alimento, costuma-se comer o fruto da planta (pera espinhosa), bem como suas hastes, conhecidas como “cladodes” ou “nopales” (DE SANTIAGO *et al.*, 2018). Aqui no nordeste brasileiro, a palma é culturalmente consumida cozida, podendo ser preparada cozida com carne, refogada, na forma de omelete ou suflê e, também, pode ser usada na preparação de doces (BRASIL, 2015).

Deste modo, estudos relacionados a composição mineral da palma forrageira são de suma importância para contribuir com informações sobre essa planta que está sendo amplamente consumida no Brasil, em especial na região nordeste, e utilizada tanto na alimentação animal quanto na alimentação humana.

2.2 Procedimentos de preparo da amostra para análise elementar

A preparação da amostra é uma etapa crítica e considerada essencial para o sucesso da análise (PINHEIRO, BARROS e NÓBREGA, 2019). Tal etapa consiste em processos químicos e físicos que visam converter a amostra de interesse em uma forma adequada para a introdução no instrumento de medida, minimizando assim interferentes na quantificação dos analitos (KRUG e ROCHA, 2016).

Por exemplo, a espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS) e a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) requerem a introdução da amostra na forma líquida, dessa forma, podem ser empregados procedimentos de preparo da amostra, tais como a decomposição da matéria orgânica por via úmida e a extração ultrassônica (KRUG e ROCHA, 2016).

2.2.1) Decomposição da matéria orgânica por via úmida

De acordo com Krug e Rocha (2016), os procedimentos empregados para a decomposição de materiais orgânicos por via úmida implicam em aquecimento da amostra na presença de um ácido mineral oxidante concentrado ou diluído, de misturas de ácidos oxidantes e de mistura de um ácido oxidante com peróxido de hidrogênio. O emprego de ácidos diluídos no tratamento de amostras tem sido muito utilizado, quando comparado ao ácido concentrado, com o intuito de se reduzir altos volumes de resíduos ácidos que são produzidos, o que exige gerenciamento adequado para evitar danos ao meio ambiente (ÁVILA *et al.*, 2018).

Os principais sistemas utilizados para a decomposição da matéria orgânica por via úmida podem ser sistemas fechados, no qual, emprega-se aquecimento condutivo em bloco digestor ou radiação micro-ondas em forno de micro-ondas, ou em sistemas abertos em que emprega-se aquecimento condutivo em placa de aquecimento ou bloco digestor (SOUZA, 2016). A decomposição em sistemas fechados é dita mais vantajosa que os sistemas abertos por minimizar as perdas por volatilização dos solventes e de espécies voláteis e por minimizar contaminações pelo ar, tendo um interesse crescente na utilização desses sistemas, especialmente na análise de traços (KRUG e ROCHA, 2016).

O ácido nítrico é frequentemente utilizado em processos de decomposição de amostras devido à sua fácil purificação e eficiência na oxidação de compostos orgânicos (GONZALEZ *et al.*, 2009). Durante o processo de decomposição há a liberação de fumos marrons (óxidos de nitrogênio), podendo ser considerado um indicativo de que a reação de oxidação da matéria orgânica está acontecendo, conforme Equação 1 (não balanceada):



Na literatura são encontrados diversos trabalhos empregando o ácido nítrico diluído para o preparo da amostra. Aqui está destacado três trabalhos que empregaram forno de micro-ondas com cavidade. Dentre eles, Peixoto *et al* (2019) determinaram a concentração de Ba, Cu, Fe, Mn, Mo, Se, Sr e Zn em amostras de leite materno por ICP-MS e como reagentes ácido nítrico (2,8 mol L⁻¹) e peróxido de hidrogênio. Pereira *et al* (2019) determinaram Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Zn, P e S em suplementos esportivos por ICP OES utilizando apenas ácido nítrico (5,0 mol L⁻¹). Muller *et al* (2015) determinaram As, Cd, Hg e Pb em plantas medicinais por ICP-MS utilizando apenas ácido nítrico (4,0 mol L⁻¹).

Em contrapartida, Ferreira *et al* (2019a) determinaram Al, As, Ba, Ca, Cd, Co, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, P, S, Sr, Ti, V e Zn em amostras de produtos do tabaco (charuto, desfiado e corda) empregando um bloco digestor fechado com aquecimento condutivo, utilizando ácido nítrico diluído (3,0 mol L⁻¹), peróxido de hidrogênio como agente oxidante auxiliar e quantificação por ICP OES.

A maioria dos trabalhos relatados e encontrados na literatura, que empregam sistema fechado, utilizam o forno de micro-ondas para a decomposição das amostras, sendo ainda escassos os trabalhos que empregam o bloco digestor com sistema fechado. Dessa forma, pesquisadores tem demonstrado interesse em realizar mais estudos com esse equipamento já que apresenta um menor custo quando comparado ao forno de micro-ondas, como demonstrado no trabalho recente de Ferreira *et al* (2019a).

2.2.2) Extração assistida por ondas ultrassônicas

Apesar da decomposição ácida ser bastante empregada para o preparo da amostra, ela apresenta algumas desvantagens como o uso de uma alta quantidade de reagentes que podem aumentar o risco de contaminação da amostra afetando principalmente elementos que estão em baixas concentrações. Além de requerer altas temperaturas, pressões elevadas (no caso de sistemas fechados) para a decomposição, geração de mais resíduos e perdas de analitos mais voláteis (no caso de sistemas abertos) (AMORIM *et al.*, 2017; COSTA *et al.*, 2018b; GAMELA, COSTA e PEREIRA-FILHO, 2020).

Como alternativa ao procedimento de decomposição, a extração ácida surge como uma opção para o preparo da amostra, principalmente quando associada à energia ultrassônica (COSTA *et al.*, 2018b). A extração assistida por ultrassom é baseada na ação de ondas mecânicas de baixa frequências quais resultam na cavitação acústica, fenômeno responsável pela formação e colapso de bolhas de cavitação que refletem em áreas pontuais de alta pressão e temperatura. Isso facilita o processo de extração dos elementos, o que implica na solubilização dos analitos no solvente empregado, sem a decomposição total da matriz da amostra (FREITAS *et al.*, 2015; PRIEGO-CAPOTE e DE CASTRO, 2007).

Geralmente são utilizados banhos ultrassônicos, que operam à temperatura ambiente e à pressão atmosférica, empregando menor quantidade de ácidos, há uma minimização das perdas de analitos voláteis, requer um menor trabalho operacional e tempo de preparo, sendo considerado mais rápidos e de menor custo que os procedimentos de decomposição ácida (AMORIM *et al.*, 2017; COSTA *et al.*, 2018b; GAMELA, COSTA e PEREIRA-FILHO, 2020; LIMA *et al.*, 2016).

Na literatura são reportados alguns trabalhos empregando o ultrassom para o preparo de amostra. Gamela, Costa e Pereira-Filho (2020) utilizaram a extração assistida por ultrassom para a determinação de Ca, Fe, K, Mg, Mn, P e Zn em amostras de pimenta por ICP OES, empregando ácido nítrico $1,0 \text{ mol L}^{-1}$, por 5 minutos a 40°C . Lima *et al.*, (2016) determinaram Cd, Cu, Cr, Mn, Pb e Zn em fertilizantes inorgânicos por MIP OES, empregando HCl $50 \% \text{ v v}^{-1}$, sonicado por 10 minutos e aquecimento a 85°C . Costa *et al* (2018b) empregaram extração assistida por ultrassom para determinação de Ca, Mg, K, Na, Cu, Zn, Mn e Al em folhas de chá por ICP OES utilizando ácido nítrico $1,0 \text{ mol L}^{-1}$, sonicado por 7 minutos a 75°C .

Observa-se nos trabalhos supracitados que a extração ultrassônica emprega um menor tempo de extração e permite utilizar soluções ácidas mais diluídas quando comparados aos procedimentos de decomposição ácida. Deste modo, nota-se que a extração ultrassônica apresenta-se como uma alternativa ao preparo da amostra, porém faz-se necessário estudar as variáveis que afetam a extração dos analitos, empregando por exemplo otimizações multivariadas das condições de extração dos analitos (KRUG e ROCHA, 2016).

2.3 Ferramentas quimiométricas aplicadas à química analítica

De acordo com Ferreira (2015), as ferramentas quimiométricas têm sido amplamente utilizadas na química analítica, pois permitem o emprego de fundamentos matemáticos e estatísticos aliados a recursos de informática para planejar experimentos visando a otimização e também avaliação dos dados de origem química, com o objetivo de obter a máxima quantidade de informações. Estas podem ser subdivididas em técnicas de planejamento de experimentos, análise multivariada e calibração multivariada. Neste estudo foram utilizadas as técnicas de planejamento de experimentos e a análise multivariada.

2.3.1) Técnicas de planejamento de experimentos

As técnicas de planejamentos de experimentos podem ser empregadas para avaliação preliminar dos fatores mais significativos do processo em que, geralmente, emprega-se o planejamento fatorial de dois níveis e, também, para determinação

das condições críticas destes, em que emprega-se a técnica de metodologia de superfície de resposta (MSR) (FERREIRA *et al.*, 2019b).

Em um planejamento fatorial de dois níveis, o número de experimentos estabelecidos pela matriz é determinado pela expressão (2^k), sendo (k) o número de fatores investigados (FERREIRA *et al.*, 2019b). Esse tipo de planejamento permite a seleção das variáveis mais relevantes no processo analítico, ou seja, aquelas que afetarão significativamente a magnitude da resposta (NOVAES *et al.* 2016). Para a avaliação do erro experimental podem ser realizados repetições autênticas de todo o planejamento ou repetições no ponto central em que o número de experimentos deverá corresponder de 25 a 30% do valor do número de experimentos (FERREIRA, 2015).

Souza *et al.* (2018a) utilizaram um planejamento fatorial completo 2^4 para a otimização de um procedimento de decomposição ácida de amostras de linhaça e gergelim em forno de micro-ondas. As variáveis estudadas foram concentração de ácido nítrico, temperatura, tempo e presença ou ausência de peróxido de hidrogênio.

Santana *et al.* (2020) utilizaram um planejamento fatorial completo 2^3 para a otimização de um procedimento de decomposição ácida de amostras de semente de chia em bloco digestor aberto com sistema de refluxo “dedo frio”, cujas variáveis estudadas foram volume de ácido nítrico, volume de ácido sulfúrico e volume de peróxido de hidrogênio.

Gamela, Costa e Pereira-Filho (2020) utilizaram um planejamento fatorial completo 2^3 para a otimização de um procedimento de extração assistida por ultrassom para a determinação de Ca, Fe, K, Mg, Mn, P e Zn em amostras de pimenta por ICP OES. As variáveis foram o tempo de sonicação, a temperatura de sonicação e a concentração de ácido nítrico.

Percebe-se que o planejamento fatorial completo de dois níveis é uma ferramenta muito empregada para a otimização de procedimentos de preparo de amostras visando encontrar condições que empreguem menos reagentes, demandem menos tempo, e que sejam melhores para a informação analítica desejada.

2.3.2) Análise multivariada de dados

A análise multivariada de dados é uma ferramenta interessante e muito utilizada para auxiliar na compreensão dos resultados gerados, sendo a Análise de Componentes Principais (PCA) e Análise de Agrupamentos Hierárquicos (HCA) as mais utilizadas na análise de alimentos (OLIVEIRA *et al.*, 2014; SOUZA *et al.*, 2018b). Essas técnicas permitem correlacionar e verificar a similaridade de diversas variáveis para elucidar informações relevantes para a caracterização das amostras (OLIVEIRA *et al.*, 2014).

A PCA é uma ferramenta matemática que visa representar a variação presente no conjunto de dados (respostas usadas para caracterizar as amostras) usando um pequeno número de fatores (GRANATO *et al.*, 2018). Ela emprega uma combinação linear de variáveis, gerando gráficos nos quais as amostras são representadas em coordenadas cartesianas (geralmente projeção bidimensional ou tridimensional), com os eixos representando os PCs (componentes principais) (DOS SANTOS *et al.*, 2013).

A HCA é usada para classificar amostras em grupos, considerando os valores de um conjunto de dados através do grau de similaridade entre os pontos. Essa classificação é estabelecida de acordo com cálculo da distância das amostras, e os grupos são representados em diagramas bidimensionais chamados dendrogramas (DE SOUZA *et al.*, 2016; OLIVEIRA *et al.*, 2014).

Souza *et al.* (2018b) utilizaram PCA e HCA para caracterização da composição mineral de amostras de leite (pó e líquido) e iogurte. Os autores concluíram que tais ferramentas permitiram a discriminação das amostras de leite em pó das amostras de leite líquido e iogurte, através da tendência para formar dois grupos. O primeiro grupo incluiu amostras de leites em pó (leite em pó integral de cabras e vacas e leites de vaca desnatados) e compostos de leite. Um segundo grupo foi formado por amostras de leite líquido de vaca inteiro e desnatado e iogurtes naturais e aromatizados. Uma tendência de separação entre amostras de leite em pó e líquido também foi observada.

De Souza *et al.*, (2016) utilizaram PCA e HCA para a caracterização da composição mineral de amostras de fruta-pão em função do processo de cozimento. Através da PCA, os autores observaram que os elementos de maior variabilidade nas amostras são potássio, fósforo, ferro e sódio; e que os processos de cozimento

com forno de micro-ondas ou fogão causam perda de nutrientes. Através do HCA os autores verificaram que amostras brutas são completamente separadas das amostras cozidas no fogão.

Deste modo, nota-se que a PCA e HCA são técnicas complementares que auxiliam em uma melhor compreensão e classificação dos dados químicos obtidos, como semelhanças e diferenças, reduzindo o número de dados sem perder muita informação.

2.4 Métodos de cocção de alimentos

A avaliação da concentração de elementos essenciais e potencialmente tóxicos em alimentos geralmente é feita considerando-se a forma como os mesmos são comercializados (frescos ou secos), não levando-se em consideração alguns aspectos que podem alterar as concentrações desses elementos como o processo de cozimento. O processo de cozimento pode induzir alterações nas qualidades físico-químicas e nutricionais dos alimentos, como perda de água, teor de gordura e teor de minerais (DE SANTIAGO *et al.*, 2018).

De Souza *et al.*, (2016) avaliaram a influência de dois métodos de cocção (cozimento em fogão e aquecimento por micro-ondas) na concentração de K, Ca, P, Mg, Fe, Na, Mn, Cd e Pb em amostras de fruta-pão. Os autores concluíram que os processos de cozimento causam perda de nutrientes, sendo essa perda maior utilizando o cozimento em fogão.

Lima *et al.*, (2019) avaliaram a influência dos métodos de cocção (cozidos em banho-maria, fogão e forno de micro-ondas) na concentração de Ca, Mg, K, Na, Fe, Zn, P, Ba e S em amostras de folhas de mostarda. Observou-se que as concentrações minerais em ordem decrescente são: amostras brutas, seguidas de amostras cozidas em banho-maria, amostras cozidas no fogão e as menores concentrações para amostras cozidas em forno de micro-ondas.

Sharafi *et al* (2019) avaliaram os efeitos de diferentes métodos de pré-cozimento (apenas lavagem e lavagem + imersão) e cozimento na concentração de As, Cd, Pb, Fe, Cu, Co e Zn em tipos de arroz amplamente consumidos no Irã. Os autores concluíram que os métodos de cozimento podem levar a uma remoção considerável de metais tóxicos e metais essenciais do arroz.

Com relação a estudos com a palma forrageira, encontrou-se apenas um trabalho que avaliou o impacto dos métodos de cozimento (fervura, micro-ondas, grelha e fritura em óleos de oliva e soja) na composição nutricional (proteínas, gorduras, carboidratos, fibra, perfil de ácidos graxos e energia), capacidade antioxidante e compostos (poli) fenólicos de cactos cladódios (DE SANTIAGO *et al.*, 2018). Não foram encontrados estudos sobre a influência de métodos de cocção na composição mineral de amostras de palma forrageira.

Portanto, observa-se que os métodos de cocção de alimentos afetam as concentrações desses elementos durante o processo de cozimento e, como a folha de palma está sendo utilizada para alimentação humana, tanto crua quanto cozida, avaliar essa influência é uma alternativa importante para uma melhor avaliação desse alimento sob os aspectos nutricionais.

2.5 Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado

A demanda por determinações simultâneas de vários elementos resultou no desenvolvimento do espectrômetro de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) na década de 1970 (DONATI, AMAIS e WILLIAMS, 2017). Com isso, as técnicas analíticas baseadas na emissão de energia radiante pelos átomos, que eram feitas inicialmente por chama, através da FAAS, passaram a ser feitas por fontes de plasma desenvolvidas para fins de análise por emissão espectrométrica na década de 1960 (DONATI, AMAIS e WILLIAMS, 2017; NOVAES *et al.*, 2016). O desenvolvimento da análise por plasma se deu devido a algumas desvantagens que a chama apresentava, como energia insuficiente para atomização e excitação de muitos analitos, instabilidade e ambiente rico em espécies reativas, que causam alta formação e emissão de radiação interferente (NOVAES *et al.*, 2016).

A ionização dos elementos a serem determinados, será feita pelo plasma indutivo do ICP OES que é um gás altamente energizado e eletricamente neutro composto por íons, elétrons e partículas neutras. Geralmente é produzido por uma corrente de argônio, que é energizada por um campo eletromagnético de alta frequência ou por uma corrente direta, podendo atingir temperaturas de 8.000 K e um ambiente químico menos reativo que a chama do atomizador (HOLLER, SKOOG e CROUCH, 2009; NOVAES *et al.*, 2016). Devido a essa elevada temperatura

produzida pelo plasma, consegue-se determinar de maneira sensível, elementos que geralmente são muito difíceis de serem determinados por outras técnicas analíticas, como elementos refratários e terra raras. Além disso, tem-se uma alta resolução, o que melhora a correção de *background* e minimiza interferências espectrais e, graças a inércia relativa do plasma de argônio, contribuem para menos interferências químicas (DONATI, AMAIS e WILLIAMS, 2017; NOVAES *et al.*, 2016).

O ICP OES é uma técnica amplamente utilizada em análises de rotina, principalmente devido à sua robustez e capacidade de determinação multielementar, fácil operação e alta frequência analítica (DONATI, AMAIS e WILLIAMS, 2017).

3) Objetivos

3.1) Objetivo Geral

- Avaliar estratégias analíticas, a partir de planejamento fatorial completo, para determinação do teor total de As, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Na, P, Pb, Sr e Zn por ICP OES em folhas de palma (*Opuntia ficus-indica* e *Nopalea cochenilifera*) cruas e cozidas do estado da Bahia.

3.2) Objetivos Específicos

- Investigar as melhores condições de decomposição ácida das amostras empregando um bloco digestor em sistema fechado.
- Avaliar as melhores condições de extração ácida das amostras empregando um banho ultrassônico.
- Utilizar um planejamento fatorial completo de dois níveis para a otimização dos procedimentos propostos.
- Validar os procedimentos propostos através de parâmetros de desempenho: linearidade, faixa linear de trabalho, limite de detecção, limite de quantificação, exatidão, precisão e efeito de matriz.
- Comparar o procedimento de decomposição ácida com o de extração em banho ultrassônico.
- Aplicar os procedimentos propostos em amostras de palma forrageira de diferentes regiões e espécies.
- Utilizar as ferramentas de análise PCA e HCA para interpretação dos resultados obtidos.
- Empregar um planejamento fatorial completo para avaliar a influência do cozimento em fogão e em micro-ondas na concentração dos elementos essenciais e potencialmente tóxicos presentes na folha de palma.

4) Parte Experimental

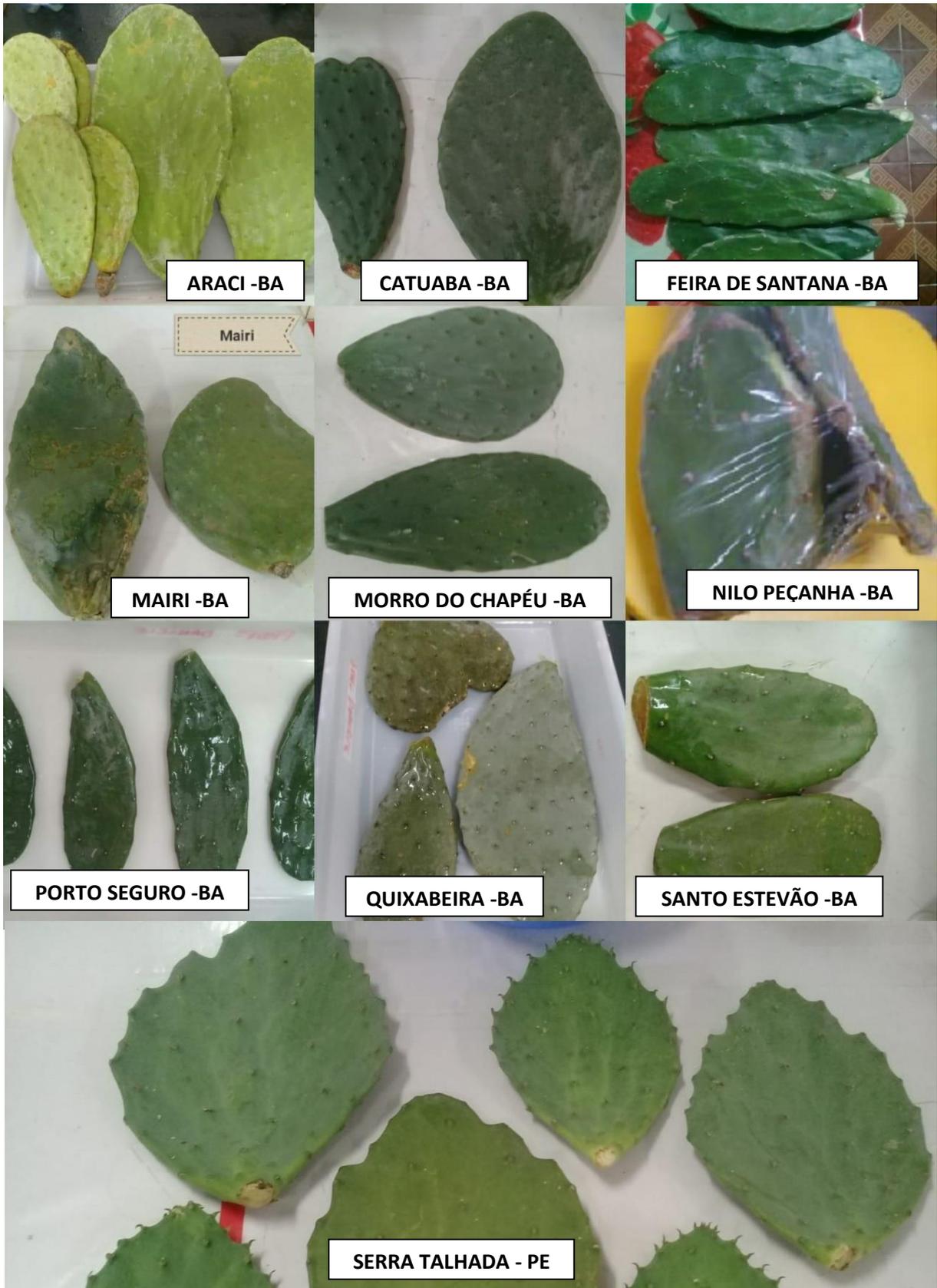
4.1) Amostras e materiais certificados de referência

As amostras de palma forrageira foram coletadas em diferentes cidades do estado da Bahia (Brasil), e uma amostra foi coletada na cidade de Serra Talhada no estado de Pernambuco (Brasil), totalizando 12 amostras. As informações referentes ao tipo de solo e clima das amostras, utilizadas para auxiliar na análise dos dados obtidos, foram consultadas no Serviço Geológico do Brasil – CPRM (BRASIL, 2005a). Selecionou-se aleatoriamente uma planta no ponto de amostragem e coletou-se seis folhas da mesma planta. As amostras foram lavadas com água destilada, cortadas em cubos com facas plásticas e mantidas sob refrigeração até o processo de secagem em estufa. A codificação das amostras, bem como sua classificação podem ser observados na Tabela 2 e as folhas (raquetes) das amostras na Figura 3. Para a otimização e validação do método de decomposição ácida foi empregado a amostra FSs e para o procedimento de extração a amostra Se.

Tabela 2. Codificação das amostras com respectiva localização geográfica.

Código	Cidade/Estado	Espécie	Tipo	Data de coleta
A	Araci/BA	<i>Opuntia ficus-indica</i>	Palma gigante	27/05/2019
CV	Catuaba/BA (Verde)	<i>Opuntia ficus-indica</i>	Palma gigante	20/05/2019
CM	Catuaba/BA (Madura)	<i>Opuntia ficus-indica</i>	Palma gigante	20/05/2019
FSs	Feira de Santana/BA (período seco)	<i>Nopalea cochenilifera</i>	Palma miúda	23/09/2018
Fsu	Feira de Santana/BA (período úmido)	<i>Nopalea cochenilifera</i>	Palma miúda	27/05/2019
Ma	Mairi/BA	<i>Opuntia ficus-indica</i>	Palma gigante	23/09/2018
Mc	Morro do Chapéu/BA	<i>Nopalea cochenilifera</i>	Palma miúda	20/05/2019
N	Nilo Peçanha/BA	<i>Nopalea cochenilifera</i>	Palma miúda	23/04/2018
Ps	Porto Seguro/BA	<i>Nopalea cochenilifera</i>	Palma miúda	10/03/2019
Q	Quixabeira/BA	<i>Opuntia ficus-indica</i>	Palma gigante	20/05/2019
Se	Santo Estevão/BA	<i>Nopalea cochenilifera</i>	Palma miúda	15/05/2018
St	Serra Talhada/PE	<i>Opuntia ficus-indica</i>	Palma gigante	30/09/2018

Figura 3. Amostras de palma forrageira adquiridas.



Devido à falta de material certificado de referência (CRM) de palma forrageira, dois CRM de folhas e com composição química similar à folha de palma foram utilizados para avaliar a exatidão do procedimento de decomposição ácida em bloco digestor fechado: de folha de tomate (Agro C1003a) e folha de maçã (NIST 1515). Para o procedimento de extração em banho ultrassônico, além do folha de tomate (Agro C1003a), foram utilizados o folha de tomate (NIST 1573a) e o folha de cana de açúcar (Agro FC_012017).

4.2) Reagentes e Soluções

Todas as soluções foram preparadas com reagentes de grau analítico e água ultrapura, com resistividade específica de $18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$ obtida de um sistema PURELAB Option-Q (ELGA Labwater, Reino Unido). Para o procedimento de decomposição ácida e extração em banho ultrassônico foram utilizados ácido nítrico (HNO_3) 65% m m^{-1} (Merck, Alemanha), ácido clorídrico (HCl) 37% m m^{-1} (Merck, Alemanha) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) 30% m m^{-1} (Merck, Alemanha).

Na construção das curvas de calibração foram utilizadas soluções padrões dos elementos contendo 1000 mg L^{-1} de As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Pb, Sr e Zn (Merck, Alemanha), 10.000 mg L^{-1} Ca, K, Mg, Na e P (Merck, Alemanha). A partir dessas soluções foi preparada uma solução multielementar na concentração de 50 mg L^{-1} para As, Ba, Cd, Co, Cu, Fe, Mn, Pb, Sr e Zn e na concentração de 500 mg L^{-1} para Ca, K, Mg, Na e P sendo diluídas de acordo com as suas respectivas faixas de trabalho.

Para a determinação do carbono orgânico dissolvido (DOC) foi preparada uma solução de referência de 5000 mg L^{-1} de carbono a partir do ácido cítrico (Merck, Alemanha). A determinação da acidez final, foi realizada empregando a titulação ácido-base dos digeridos com uma solução padronizada de hidróxido de sódio $0,1027 \text{ mol L}^{-1}$ e solução de fenolftaleína como indicador (1,0% m v^{-1} em etanol).

O gás argônio com pureza mínima de 99,999% (White Martins, São Paulo, Brasil) foi utilizado para purga do sistema óptico e para geração do plasma. Todo o material usado nos experimentos foi previamente descontaminado por imersão em solução de HNO_3 a 10% v v^{-1} por 24 horas e lavado com água deionizada antes do uso.

4.3) Instrumentação

As amostras foram secas até massa constante em estufa modelo SPCR 100 (SP LABOR, Brasil), na temperatura de 70°C totalizando aproximadamente 12 horas (ADAPTADO - INSTITUTO ADOLF LUTZ, 2008). Após secas foram moídas em um moinho analítico (modelo A11 BS 32, IKA, Alemanha) por 120 segundos e peneiradas na malha 305 µm (SEFAR, Brasil). Um liofilizador Christ (modelo ALPHA 1-2 LDPLUS) também foi utilizado.

Para a decomposição ácida das amostras, foi utilizado um bloco digestor em sistema fechado (modelo TE007A, TECNAL, Brasil), com controlador digital de temperatura e capacidade para 15 tubos de politetrafluoretileno (PTFE) de 100 mL. Na extração assistida por ondas ultrassônicas foi utilizado um banho ultrassônico (modelo Easy, Elmasonic, Alemanha), tubos para centrifuga tipo Falcon em Polipropileno de 50mL e uma centrífuga modelo MA- 1810, Marconi, Brasil).

Para a cocção das amostras foram utilizados um fogão de duas bocas (Venax Eletrodomésticos LTDA, Brasil) e um forno de micro-ondas doméstico 30 litros (LG EasyClean, modelo MS3052R, Brasil). No fogão as amostras foram cozidas em uma panela de teflon e no micro-ondas em pote de vidro.

A quantificação dos analitos foi realizada empregando um espectrômetro de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) (Vista-PRO, Agilent, Mulgrave, Austrália) com configuração axial, equipado com um detector de estado sólido com um arranjo CCD (dispositivo de carga acoplado) e que opera em comprimentos de onda na faixa de 167 a 785 nm. As linhas espectrais foram selecionadas considerando-se as intensidades dos sinais de emissão dos analitos, a sensibilidade adequada para a determinação de elementos em baixas e altas concentrações e a ausência de interferências espectrais. O sistema de introdução da amostra foi feito usando um nebulizador *One-Neb* e uma câmara de nebulização ciclônica de passo simples. Os parâmetros operacionais para o ICP OES (BARBOSA *et al.*, 2015), podem ser observados na Tabela 3.

Tabela 3. Condições operacionais do ICP OES.

Características e parâmetros	
Rádio frequência do gerador (MHz)	40
Detector	CCD
Diâmetro interno do tubo central da tocha (mm)	2,3
Policromador	Grade de difração Echelle e prisma de dispersão de CaF ₂
Faixa de comprimento de onda (nm)	165 – 785
Câmara de Nebulização	Ciclônica
Nebulizador	<i>One-Neb</i>
Potência de medida (W)	1300
Tempo de integração do sinal (s)	1,0
Vazão do gás do plasma (L min ⁻¹)	15
Vazão do gás do auxiliar (L min ⁻¹)	1,5
Vazão do gás de nebulização (L min ⁻¹)	0,70
Elementos e comprimentos de onda (nm): Linha atômica (I) e Linha iônica (II)	As (I) 197,198; Ba (II) 455,403; C (I) 193,027; Ca (I) 422,673; Cd (II) 214,439; Co (II) 228,615; Cr (II) 205,560; Cu (I) 327,395; Fe (II) 238,204; K (I) 769,897; Mg (II) 285,213; Mn (II) 257,610; Na (I) 589,592; P (I) 213,618; Pb (II) 220,353; Sr (II) 407,771 e Zn (I) 213,857

4.4) Otimização dos procedimentos de preparo de amostra

4.4.1) Decomposição em Bloco Digestor em Sistema Fechado

Para a otimização do procedimento de decomposição ácida em bloco digestor em sistema fechado, foi utilizado um planejamento fatorial completo 2⁴, com quadruplicadas do ponto central, cujas variáveis estudadas foram: concentração de HNO₃ (3,0 – 5,0 mol L⁻¹), volume de H₂O₂ 30% m m⁻¹ (0,0 – 2,0 mL), tempo de decomposição (60 - 120 minutos) e temperatura de decomposição (150 - 180°C). A

escolha das variáveis se deu com base em alguns trabalhos encontrados na literatura (Souza et al., 2018; Souza et al., 2019). A massa foi fixada em aproximadamente 0,5 g. Na Tabela 4, pode-se observar os fatores e os níveis (superior, inferior e o ponto central) escolhidos para serem avaliados em um intervalo de trabalho que corresponde ao domínio experimental das variáveis estudadas. Como resposta a este planejamento foram avaliadas três situações: (I) considerando apenas os teores de carbono orgânico dissolvido (%DOC), (II) considerando apenas o emprego da função resposta múltipla (RM), baseada no somatório das concentrações dos analitos e (III) considerando a função desejabilidade, que permite fazer uma otimização simultânea do %DOC e da RM. As análises dos dados foram realizadas por empregando o *software Statistica®* versão 8.0 (Statsoft, Tulsa, USA).

Tabela 4. Fatores e níveis experimentais estabelecidos para o planejamento fatorial 2^4 para otimização do procedimento de decomposição em bloco digestor em sistema fechado.

Variáveis	Nível inferior (-1)	Ponto central (0)	Nível superior (+1)
Tempo de decomposição (min)	60	90	120
Temperatura de decomposição (°C)	150	165	180
Volume de H ₂ O ₂ (mL)	0,0	1,0	2,0
Concentração HNO ₃ (mol L ⁻¹)	3,0	4,0	5,0

4.4.2) Extração em Banho Ultrassônico

Para a otimização do procedimento de extração empregando banho ultrassônico, foi utilizado um planejamento fatorial completo 2^3 , com triplicatas do ponto central, cujas variáveis estudadas foram: tipo de ácido (HNO₃ ou HCl), concentração ácida (1,0 – 2,0 mol L⁻¹) e tempo de sonicação (5 – 10 minutos). Como a variável tipo de ácido é um fator qualitativo, no ponto central foram feitas replicatas

do nível inferior e do nível superior (FERREIRA, 2015). A matriz desse planejamento pode ser observada na Tabela 5. Foram avaliadas diferentes massas para o procedimento de extração: cerca de 0,5 e 1,0 g. As extrações foram realizadas na região de maior sonicação do banho ultrassônico. Essa região foi determinada através de estudos preliminares.

Tabela 5. Matriz do planejamento fatorial completo 2^3 para otimização do procedimento de extração em banho ultrassônico.

Experimento	Tipo de ácido	Concentração (mol L ⁻¹)	Tempo (min)
1	(+) HNO ₃	(-) 1,0	(-) 5,0
2	(-) HCl	(-) 1,0	(-) 5,0
3	(+) HNO ₃	(+) 2,0	(-) 5,0
4	(-) HCl	(+) 2,0	(-) 5,0
5	(+) HNO ₃	(-) 1,0	(+) 10,0
6	(-) HCl	(-) 1,0	(+) 10,0
7	(+) HNO ₃	(+) 2,0	(+) 10,0
8	(-) HCl	(+) 2,0	(+) 10,0
9 (PC)	(+) HNO ₃	(0) 1,5	(0) 7 min 30 s
10 (PC)	(+) HNO ₃	(0) 1,5	(0) 7 min 30 s
11 (PC)	(+) HNO ₃	(0) 1,5	(0) 7 min 30 s
12 (PC)	(-) HCl	(0) 1,5	(0) 7 min 30 s
13 (PC)	(-) HCl	(0) 1,5	(0) 7 min 30 s
14 (PC)	(-) HCl	(0) 1,5	(0) 7 min 30 s

() valores codificados // PC – ponto central

Após o procedimento de extração as amostras foram centrifugadas durante 5 minutos por 4500 rpm e, depois filtradas em papel de filtro quantitativo 28 µm, pois no final da centrifugação observou-se a formação de um sobrenadante sólido em todas as amostras, o que dificultava a retirada da fase líquida.

4.5) Procedimentos de cocção

Para a otimização do procedimento de cocção foi utilizado um planejamento fatorial completo 2^3 cujas variáveis foram: razão massa de amostra/volume de água

de cocção (1:2 – 1:1), tempo de cozimento (5 a 10 minutos) e tipo de cozimento (fogão e forno de micro-ondas). A escolha das variáveis se deu com base em experimentos preliminares nos quais aspectos como textura adequada após o cozimento, não ocorrência de carbonização e perda de água por ebulição foram avaliados. Além disso, tomou-se por base também alguns artigos disponíveis na literatura sobre cocção de alimentos (DE SANTIAGO *et al.*, 2018; DE SOUZA *et al.*, 2016; SHARAFI *et al.*, 2019). Na Tabela 6, pode ser observada a matriz de planejamento para a otimização do procedimento de cocção. A massa foi fixada em cerca de 50 g, o volume de água ultra-pura variou entre 50 e 100 mL, a temperatura utilizada para cozimento no fogão foi de 180°C e a potência nominal utilizada para o forno de micro-ondas foi de 900W.

Tabela 6. Matriz do planejamento fatorial completo 2^3 para otimização do procedimento de cocção da folha de palma.

Experimento	Razão (massa/volume)	Tempo (minutos)	Tipo de cocção
1	(+) 1:1	(+) 10	(+) Fogão
2	(+) 1:1	(+) 10	(-) Micro-ondas
3	(+) 1:1	(-) 5	(+) Fogão
4	(+) 1:1	(-) 5	(-) Micro-ondas
5	(-) 1:2	(+) 10	(+) Fogão
6	(-) 1:2	(+) 10	(-) Micro-ondas
7	(-) 1:2	(-) 5	(+) Fogão
8	(-) 1:2	(-) 5	(-) Micro-ondas
9 (PC)	(0) 2:3	(0) 7 min 30 s	(+) Fogão
10 (PC)	(0) 2:3	(0) 7 min 30 s	(+) Fogão
11 (PC)	(0) 2:3	(0) 7 min 30 s	(+) Fogão
12 (PC)	(0) 2:3	(0) 7 min 30 s	(-) Micro-ondas
13 (PC)	(0) 2:3	(0) 7 min 30 s	(-) Micro-ondas
14 (PC)	(0) 2:3	(0) 7 min 30 s	(-) Micro-ondas

() valores codificados // PC – ponto central

5) Resultados e discussão

5.1) Procedimento de decomposição em bloco digestor em sistema fechado

5.1.1) Estudos preliminares

Foram realizados quatro testes diferentes (conforme apresentado nos itens 5.1.1.1 a 5.1.1.4) para verificar se houve diferenças significativas entre algumas variáveis que poderiam influenciar no resultado encontrado após a decomposição ácida da amostra. A condição de decomposição empregada foi a que todas as variáveis do planejamento fatorial completo estavam no maior nível (5,0 mol L⁻¹ HNO₃ com a adição de 2,0 mL de H₂O₂ por 2 horas a 180°C. Para tanto, foram utilizadas nestes estudos as amostras Ma e FSs, a escolha foi feita com base na quantidade de amostra disponível.

5.1.1.1) Comparação entre procedimento de digestão para a amostra seca ou amostra úmida

Com o intuito de avaliar se há diferenças significativas entre a decomposição ácida da amostra seca em estufa e da amostra úmida, foi aplicado um teste t para comparação de duas médias experimentais, conforme Equações 2 e 3, a um nível de confiança de 99 % (MILLER e MILLER, 2010).

$$s = \frac{(n_1 - 1)s_1^2 + (n_2 - 2)s_2^2}{(n_1 + n_2 - 2)} \quad \text{Equação 2}$$

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{s \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}} \quad \text{Equação 3}$$

Pode-se observar que para a maioria dos analitos houve diferenças significativas entre as concentrações encontradas ($t_{\text{calculado}} > 4,604$), conforme Tabela 7, sendo o maior valor para a decomposição da amostra seca, demonstrando que o teor de água pode interferir na quantificação desses analitos, pois alguns íons carregados positivamente (por exemplo, Ca²⁺, Cu²⁺ e Mg²⁺) tendem formar

estruturas com moléculas de água, o que acaba por diminuir a sua concentração na amostra (FELLOWS, 2018). Além disso, a amostra seca apresentou menor desvio padrão relativo quando comparado a amostra úmida e, também não foi possível quantificar Ca e Cu quando utilizou-se a amostra úmida. Deste modo, optou-se por utilizar a amostra seca para realizar os procedimentos de decomposição. De acordo com Krug e Rocha (2016), a operação de secagem é comum para amostras sólidas que apresentem água em quantidade variável, sendo considerada um tratamento preliminar que desempenha um papel fundamental na análise química. A folha de palma apresenta, em média, cerca de 90 % de umidade. Essa umidade que corresponde à perda em peso de água sofrida pela amostra após aquecimento, foi determinada por secagem direta em estufa conforme Instituto Adolf Lutz (ADAPTADO-2008).

Tabela 7. Comparação da concentração, em $\mu\text{g g}^{-1}$, da palma inteira seca e úmida após decomposição em bloco digestor fechado (média \pm desvio, n=3).

Analitos	Amostra seca	RSD (%)	Amostra úmida	RSD (%)	t_{calculado}
Ba	31,6 \pm 1,5	4,79	3,6 \pm 0,3	8,33	28,762
Ca	7998 \pm 210	2,63	NQ ¹	NC ²	NC ²
Cu	1,4 \pm 0,1	6,65	NQ ¹	NC ²	NC ²
Fe	15,3 \pm 1,7	11	2,0 \pm 0,2	10	11,285
K	14546 \pm 273	1,88	2028 \pm 165	8,14	0,301
Mg	4561 \pm 69	1,52	102 \pm 43	42,16	1,635
Mn	132 \pm 6	4,71	21,8 \pm 1,5	6,88	6,587
Na	NQ ¹	NQ ¹	NQ ¹	NQ ¹	NC ²
P	2369 \pm 112	4,72	86 \pm 12	13,95	0,441
Sr	95 \pm 4	4,50	10,3 \pm 0,3	2,91	11,343
Zn	100 \pm 4	3,60	4,6 \pm 0,6	1,38	17,519

¹ Não quantificado

² Não calculado

5.1.1.2) Comparação entre teor na palma inteira e teor somente a casca

Para verificar se havia algum conteúdo mineral significativo na polpa da palma, foi realizada uma comparação entre os valores de concentração encontrados

para a palma inteira seca (casca + polpa) e somente na casca seca. Aplicando-se um teste t, para comparação de duas médias experimentais (a um nível de confiança de 99 %), observou-se que não há diferenças significativas ($t_{\text{calculado}} < 4,604$) para a maioria dos analitos, com exceção de Ba e Cu, ver Tabela 8. Porém, para Cu, considerando o desvio padrão, esse valor não foi diferente $3,0 \pm 0,1 \mu\text{g g}^{-1}$ inteira e $3,2 \pm 0,2 \mu\text{g g}^{-1}$ casca. Deste modo, pode-se inferir que o conteúdo mineral da palma está presente majoritariamente na casca. Assim, optou-se por realizar a secagem e decomposição ácida da palma inteira, uma vez que não há conteúdo mineral significativo na polpa, eliminando desta forma mais uma etapa de pré-tratamento da amostra que seria a separação da casca e da polpa.

Tabela 8. Comparação das concentrações na palma inteira e somente na casca secas, em $\mu\text{g g}^{-1}$, após decomposição em bloco digestor fechado (média \pm desvio, n=3).

Analito	Inteira	Casca	$t_{\text{calculado}}$
Ba	49,6 \pm 1,5	66,2 \pm 1,6	8,454
Ca	15549 \pm 483	29731 \pm 317	0,104
Cu	3,0 \pm 0,1	3,2 \pm 0,2	9,798
Fe	50,2 \pm 3,4	31,7 \pm 1,0	3,608
K	15308 \pm 135	35409 \pm 1062	0,043
Mg	7776 \pm 96	7210 \pm 79	0,0900
Mn	202 \pm 4	174 \pm 6	1,483
Na	NQ ¹	NQ ¹	NC ²
P	3181 \pm 79	2664 \pm 82	0,098
Sr	127 \pm 3	129 \pm 3,4	0,238
Zn	159 \pm 5	137 \pm 4	1,289

5.1.1.3) Comparação entre secar a amostra na estufa e no liofilizador

Para verificar se há diferenças significativas entre secar a palma inteira na estufa e no liofilizador, utilizou-se o teste t para comparação de duas médias experimentais. Observa-se, a um intervalo de confiança de 99 %, que para a maioria dos analitos não há diferenças significativas ($t_{\text{calculado}} < 4,604$), entre secar a amostra

na estufa ou no liofilizador, ver Tabela 9. Os resultados demonstraram que para todos os elementos estudados não houve diferença significativa em relação a forma de secagem da amostra. Deste modo, optou-se por secar as amostras na estufa por esta ter um menor custo, em comparação ao liofilizador, e ser um equipamento que está disponível no grupo de pesquisa.

Tabela 9. Comparação entre amostra seca em estufa e amostra seca em liofilizador, em $\mu\text{g g}^{-1}$, após decomposição em bloco digestor fechado (média \pm desvio, n=3).

Analitos	Estufa	Liofilizador	t_{calculado}
Ba	49,6 \pm 1,5	48,4 \pm 0,6	1,126
Ca	15549 \pm 483	16557 \pm 490	0,005
Cu	3,0 \pm 0,1	2,4 \pm 0,1	73,485
Fe	50,2 \pm 3,4	26,6 \pm 1,5	4,186
K	15308 \pm 135	15116 \pm 96	0,017
Mg	7776 \pm 96	8488 \pm 25	0,177
Mn	202 \pm 4	222 \pm 2	2,450
Na	NQ ¹	NQ ¹	NC ²
P	3181 \pm 79	2561 \pm 7	0,241
Sr	127 \pm 3	137 \pm 1	2,450
Zn	159 \pm 5	159 \pm 1	0

5.1.1.4) Comparação entre homogeneizar ou não a amostra

Como após a etapa de moagem, a amostra apresentou-se heterogênea, com certa quantidade de fibras e partículas de tamanhos diferentes, foram realizados teste para verificar a sua homogeneidade. Dessa forma, comparou-se os resultados encontrados nas amostras de palma inteira triturada usando ou não malha de 305 μm . Pode-se observar, na Tabela 10, que usando-se a malha o desvio padrão relativo foi menor do que quando não foi usada malha. Assim, optou-se por passar as amostras na malha, já que nesta condição, a precisão dos experimentos foi maior

o que nos leva a inferir que a amostra estava mais homogênea gerando resultados mais confiáveis.

Tabela 10. Comparação do desvio padrão relativo das amostras passadas ou não na malha, em %, após decomposição em bloco digestor fechado (n=3).

Analitos	Passada na malha	Sem passar na malha
Ba	2,6	4,2
Ca	2,7	2,2
Cu	0,06	2,6
Fe	0,1	6,0
K	1,2	0,5
Mg	1,7	2,3
Mn	2,3	5,1
P	2,5	3,7
Sr	2,3	2,5
Zn	2,1	4,1

5.1.2) Otimização do procedimento de decomposição ácida

O teor de carbono orgânico dissolvido (DOC) foi utilizado como uma das respostas de interesse, para a otimização do procedimento de decomposição em bloco digestor em sistema fechado usando um planejamento fatorial 2^k , pois a sua presença na quantificação dos elementos químicos por técnicas espectrométricas atômicas podem gerar interferências e, desta forma, quanto menor for a sua quantidade, maior será a eficiência do procedimento de decomposição da amostra avaliada (KRUG e ROCHA, 2016; RIISOM *et al.*, 2018). O carbono orgânico dissolvido (DOC) consiste na concentração do carbono presente no digerido final (sem relacionar com a massa inicial do carbono), representando uma informação importante para a etapa de determinação, uma vez que indica a quantidade de carbono que será introduzida no equipamento de medida (KRUG e ROCHA, 2016).

Após realizar a análise dos dados, considerando esta resposta de %DOC, o menor valor encontrado correspondeu a 3,54 % m m⁻¹, sendo verificado para o experimento 16 em que todas as variáveis estavam na condição de máximo: HNO₃ 5,0 mol L⁻¹, 2,0 mL de H₂O₂, tempo de 120 minutos e temperatura de 180°C, conforme a Tabela 11. Através do gráfico de Pareto, Figura 4, observa-se que todas as variáveis foram significativas, tendo efeito positivo, sendo o efeito mais significativo a concentração de ácido nítrico seguido da temperatura. Os resultados foram avaliados usando a ANOVA a 95% de confiança, demonstrando que o modelo não apresentou falta de ajuste (p>0,05), tendo valor de p igual a 0,2440.

Além de um baixo teor de carbono orgânico dissolvido, também foram avaliadas como respostas de interesse as concentrações dos analitos. Para isso, utilizou-se a função RM que permite a normalização das concentrações dos elementos para viabilizar a soma das respostas individuais, calculada conforme Equação 4, em que o valor encontrado no denominador corresponde ao maior valor da concentração encontrada para aquele analito no planejamento experimental:

$$RM = \frac{[Al]}{253,6} + \frac{[Ba]}{49,7} + \frac{[Cu]}{9,89} + \frac{[Fe]}{51,6} + \frac{[Mn]}{28,5} + \frac{[Si]}{225,2} + \frac{[Sr]}{414,9} + \frac{[Zn]}{61,4} + \frac{[Ca]}{2259} + \frac{[K]}{11075} + \frac{[Mg]}{2734} + \frac{[Na]}{2062} + \frac{[P]}{1046} \quad \text{Equação 4}$$

O experimento que obteve a maior resposta múltipla, foi o experimento 1 correspondendo ao valor de 12,55, condição essa em que todas as variáveis estavam no nível inferior, concentração de HNO₃ 3,0 mol L⁻¹, sem adição de H₂O₂, tempo de 60 minutos e temperatura de 150°C, conforme Tabela 11. Porém, essa condição foi a que apresentou maior teor de carbono orgânico dissolvido de 13,2 % m m⁻¹, além de ser um digerido com a presença de material em solução, mostrando a ineficiência da decomposição da amostra (KRUG e ROCHA, 2016). Através do gráfico de Pareto, Figura 5, observa-se que nenhuma das variáveis foi significativa. Além disso, aplicando-se a ANOVA a 95 % de confiança, tem-se que o modelo não apresentou falta de ajuste (p>0,05), tendo valor de p igual a 0,1646.

Tabela 11. Respostas ao planejamento fatorial completo 2^4 para decomposição ácida em bloco digestor fechado.

Experimento	Tempo (min)	Temperatura (°C)	Vol. H₂O₂ (mL)	[HNO₃] (mol L⁻¹)	DOC (% m m⁻¹)	RM
1	60	150	0,0	3,0	13,17	12,55
2	120	150	0,0	3,0	9,02	11,16
3	60	180	0,0	3,0	9,30	11,45
4	120	180	0,0	3,0	4,77	11,55
5	60	150	2,0	3,0	7,56	11,88
6	120	150	2,0	3,0	6,20	11,12
7	60	180	2,0	3,0	6,67	11,58
8	120	180	2,0	3,0	5,28	12,19
9	60	150	0,0	5,0	7,48	11,73
10	120	150	0,0	5,0	5,12	11,36
11	60	180	0,0	5,0	4,57	11,44
12	120	180	0,0	5,0	4,46	11,05
13	60	150	2,0	5,0	5,32	10,15
14	120	150	2,0	5,0	5,89	11,22
15	60	180	2,0	5,0	5,53	11,23
16	120	180	2,0	5,0	3,54	11,45
17 (PC)	90	165	1,0	4,0	4,29	10,09
18 (PC)	90	165	1,0	4,0	5,77	10,78
19 (PC)	90	165	1,0	4,0	4,35	10,81
20 (PC)	90	165	1,0	4,0	4,60	10,91

Figura 4. Gráfico de Pareto para o planejamento fatorial 2^4 com DOC (%).

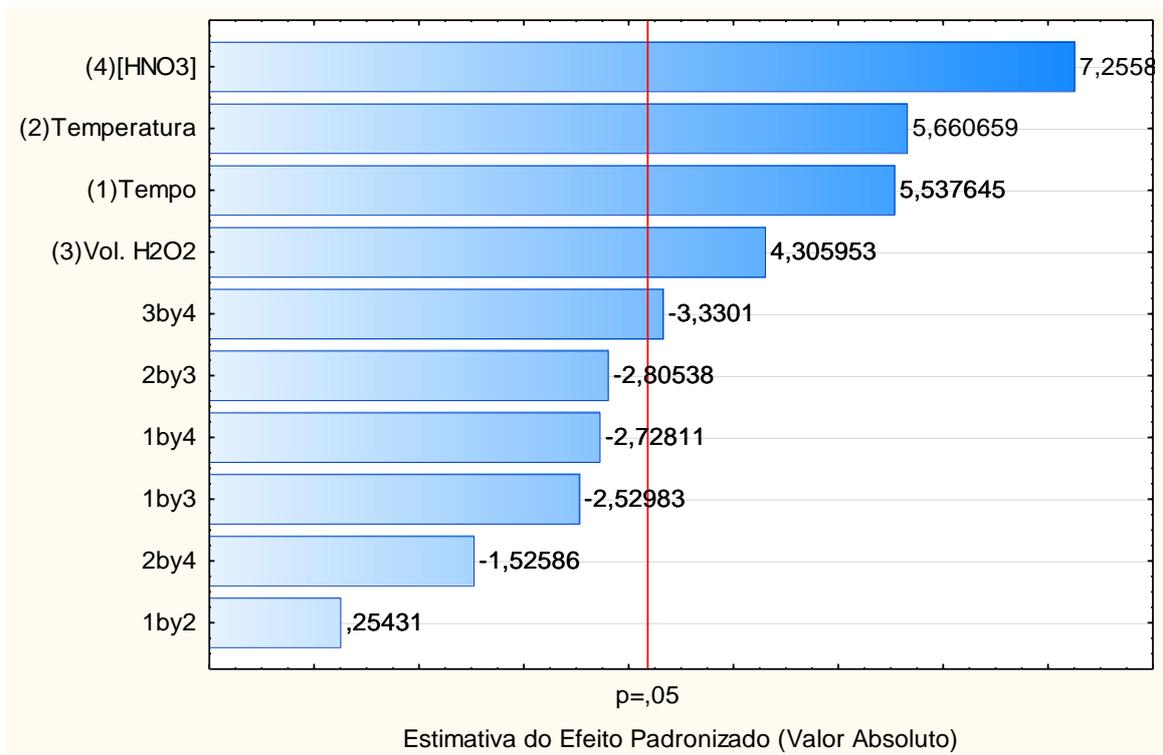
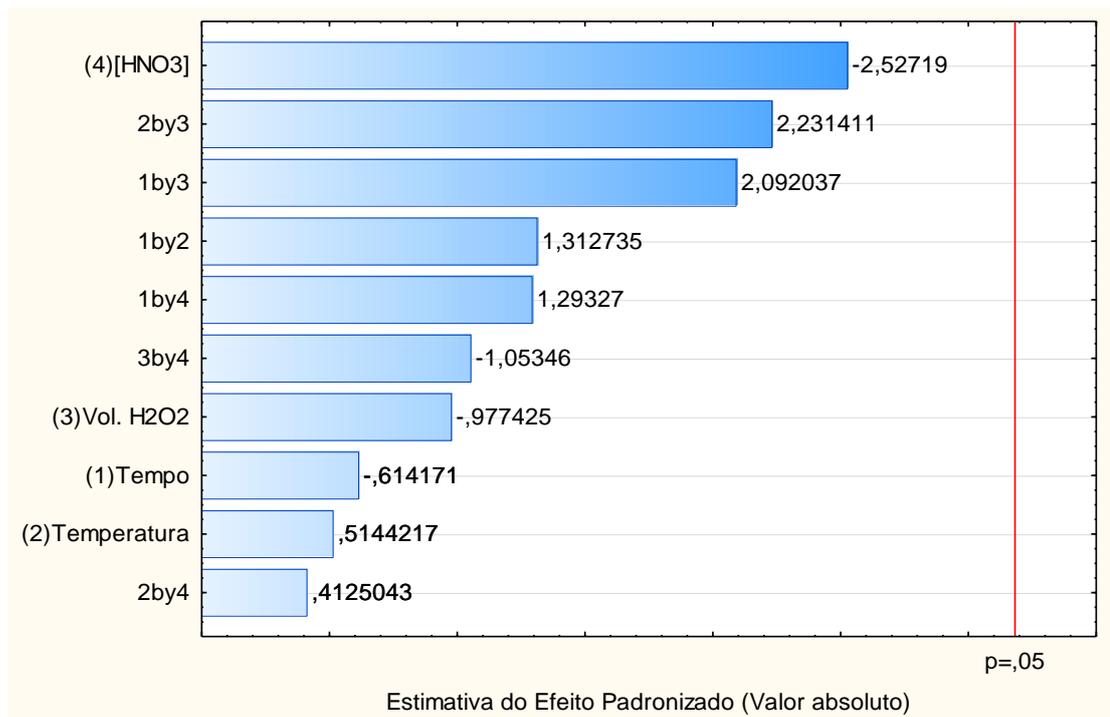


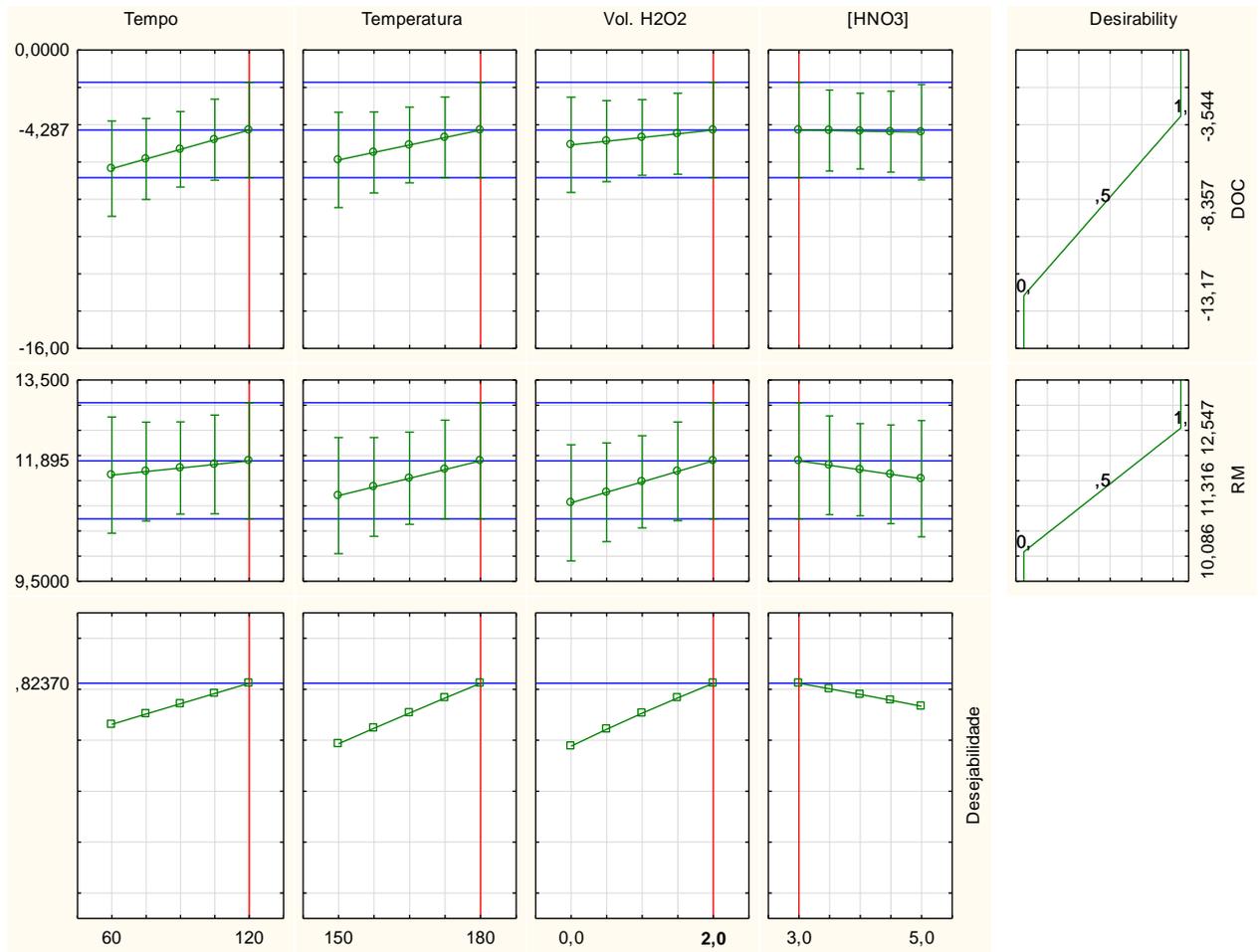
Figura 5. Gráfico de Pareto para o planejamento fatorial 2^4 com Resposta Múltipla.



Pode-se observar que, avaliando separadamente o DOC e a RM obtêm-se condições de ótimo opostas para o planejamento fatorial proposto. Deste modo, torna-se necessário encontrar uma condição que satisfaça tanto o menor DOC quanto uma maior RM. Para permitir a otimização simultânea das duas respostas obtidas utilizou-se uma abordagem matemática baseada nas funções desejáveis aplicadas na otimização de experimentos multi-resposta proposta por Derringer e Suich (1980). Esta abordagem baseia-se na definição de uma função que envolve uma desejabilidade para cada resposta, considerando um valor 0 (zero) para a condição de um valor inaceitável e o valor 1 (um) para o valor mais desejável (FERREIRA, 2015; COSTA *et al.*, 2018).

Através da Figura 6, pode-se observar que os valores desejáveis, e que satisfazem os dois parâmetros avaliados (%DOC e RM), foram os seguintes: concentração de HNO_3 $3,0 \text{ mol L}^{-1}$, volume de $2,0 \text{ mL}$ de H_2O_2 , tempo de 120 minutos, aplicados a uma temperatura de 180°C . Essa condição correspondeu ao experimento 8 que teve $5,28 \%$ de DOC e RM de $12,19$, além de apresentar material em suspensão. Nota-se, que a única diferença entre essa condição e a que leva em consideração apenas o DOC foi a concentração de HNO_3 , $3,0$ e $5,0 \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente. Devido a esse fato, optou-se pelo experimento de concentração ácida de $5,0 \text{ mol L}^{-1}$ visto que este apresentou um digerido com aspecto visual límpido e a concentração ácida final ($2,2 \pm 0,2 \text{ mol L}^{-1}$), após aferição ao volume de 15 mL , estava adequada para análise por ICP OES (MONTASER e GOLIGHTLY, 1992; KRUG e ROCHA, 2016). Portanto, o procedimento otimizado consistiu no uso do $5,0 \text{ mol HNO}_3$ 65%, com a adição de $2,0 \text{ mL}$ de H_2O_2 , durante 120 minutos a 180°C .

Figura 6. Perfis para valores previstos e deseabilidade para o planejamento fatorial 2^4 com DOC e RM.



5.1.3) Carbono Orgânico Dissolvido

O teor de carbono orgânico dissolvido (DOC) foi determinado usando uma solução de referência de 5000 mg L⁻¹ de carbono a partir de ácido cítrico, conforme descrito na parte experimental. Os resultados mostrados na Tabela 12 demonstram uma boa eficiência no procedimento de decomposição, visto que os valores de DOC variaram entre 3,8 e 7,3 % m m⁻¹, estando de acordo com outros trabalhos encontrados na literatura que utilizaram ácido diluído (AMARAL *et al.*, 2015; PARDINHO, *et al.*, 2018; SOUZA *et al.*, 2018a).

Tabela 12. Teor de carbono orgânico dissolvido nas amostras após decomposição ácida em bloco digestor com sistema fechado (média \pm desvio padrão, n=3).

Amostra	Local	Teor (% m m⁻¹)
A	Araci	3,8 \pm 0,1
CV	Catuaba (verde)	5,4 \pm 0,4
CM	Catuaba (Madura)	7,3 \pm 0,5
FSs	Feira de Santana (Período seco)	6,8 \pm 0,6
FSu	Feira de Santana (Período úmido)	6,1 \pm 0,3
Ma	Mairi	6,8 \pm 0,6
Mc	Morro do Chapéu	6,1 \pm 0,4
N	Nilo Peçanha	4,5 \pm 0,4
Os	Porto Seguro	5,8 \pm 0,3
Q	Quixabeira	4,0 \pm 0,1
Se	Santo Estevão	6,3 \pm 0,4
St	Serra Talhada	5,3 \pm 0,4

5.1.4 Validação do método de decomposição ácida

Um método deve ser validado para demonstrar que suas características de desempenho são adequadas para uso em uma finalidade específica (MAGNUSSON, 2014). No Brasil, existem duas agências credenciadoras com guias para procedimento de validação de métodos analíticos, a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) por meio da RDC nº 166, de 24 de julho de 2017 (BRASIL, 2017) e o INMETRO (Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial) por meio do documento INMETRO DOQ-CGCRE-008, de agosto/2016 (BRASIL, 2016). Dentre os parâmetros de validação recomendados por essas agências pode-se citar: linearidade, limite de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ), exatidão e precisão.

5.1.4.1) Limites de detecção e quantificação

O limite de detecção (LOD) de um método analítico pode ser definido como a menor concentração do analito que pode ser detectado pelo método, porém não necessariamente quantificado, em um nível de confiança especificado (BRASIL, 2016; BRASIL, 2017; MAGNUSSON, 2014). Enquanto que o limite de quantificação (LOQ) corresponde a menor quantidade do analito presente na amostra, que pode ser quantificada com precisão e exatidão aceitáveis, sob as condições experimentais estabelecidas (BRASIL, 2016; BRASIL, 2017; MAGNUSSON, 2014).

Os valores de LOD e LOQ foram calculados usando a concentração equivalente (BEC) e a relação sinal-fundo (SBR), de acordo com o União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC, 1978), sendo empregada a expressão $BEC = C_{\text{padrão}}/SBR$, em que $SBR = (I_{\text{padrão}} - I_{\text{branco}})/I_{\text{branco}}$; $C_{\text{padrão}}$ é a concentração do elemento de referência na solução; $I_{\text{padrão}}$ e I_{branco} são as intensidades de emissão para o elemento de referência e soluções em branco, respectivamente, no comprimento de onda selecionado.

O LOD foi então calculado pela expressão $(3 \times RSD_{\text{branco}} \times BEC / 100)$ e o LOQ como $(10 \times RSD_{\text{branco}} \times BEC / 100)$, em que, RSD_{branco} é o desvio padrão relativo das medições da intensidade de emissão em solução do branco analítico no comprimento de onda selecionado (IUPAC, 1978; MERMET e POUSSSEL, 1995). Na Tabela 13 podem ser observados os valores de LOD e LOQ, em que o LOD variou entre 0,001 (Sr) a $1,0 \mu\text{g g}^{-1}$ (P) e o LOQ variou entre 0,004 (Sr) e $3,33 \mu\text{g g}^{-1}$ (P), indicando que o método apresenta alta sensibilidade. Tal fato pode ser atribuído ao uso de HNO_3 diluído para preparação da amostra (BIZZI, NÓBREGA e BARIN, 2014), e ao uso do nebulizador *One-Neb* que produz um aerossol de gotículas menores, aumentando o transporte de eficiência da amostra para o plasma e, conseqüentemente, permitindo uma maior sensibilidade ao espectrômetro em comparação com os nebulizadores de vidro tradicionais (MOFFET, RUSSELL e LENER, 2011).

Tabela 13. Valores de LOD e LOQ para os analitos estudados após decomposição ácida e quantificação por ICP OES.

Analito	LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LOD ($\mu\text{g g}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{g g}^{-1}$)
As	13,9	46,5	0,42	1,39
Ba	0,06	0,21	0,002	0,01
Ca	7,27	24,2	0,22	0,73
Cd	0,96	3,19	0,03	0,10
Co	1,09	3,62	0,03	0,11
Cr	1,73	5,75	0,05	0,17
Cu	1,69	5,63	0,05	0,17
Fe	4,02	13,4	0,12	0,40
K	2,19	7,29	0,07	0,22
Mg	2,27	7,56	0,07	0,23
Mn	0,14	0,46	0,004	0,01
Na	18,5	61,8	0,56	1,85
Sr	0,04	0,14	0,001	0,004
P	33,3	111	1,00	3,33
Pb	7,75	25,8	0,23	0,77
Zn	0,67	2,23	0,02	0,07

5.1.4.2) Linearidade e faixa linear de trabalho

De acordo com a ANVISA (BRASIL, 2017), a linearidade de um método pode ser definida como a sua capacidade de obter respostas analíticas diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, dentro de uma dada faixa de trabalho, podendo ser avaliada pelo coeficiente de correlação (R) e coeficiente de determinação (R^2). A ANVISA (BRASIL, 2017) recomenda um coeficiente de correlação acima de 0,990 e o INMETRO (BRASIL, 2016) recomenda um valor acima de 0,90 a partir da determinação de no mínimo cinco concentrações distintas.

A faixa linear de trabalho é definida pela *Eurachem guide* (MAGNUSSON, 2014) como o intervalo durante o qual o método fornece resultados com uma incerteza aceitável, sendo a extremidade inferior dada pelo limite de quantificação

LOQ e o limite superior dado pela concentração na qual o sinal analítico desvia-se da linearidade.

Na Tabela 14, podem ser observados as curvas analíticas de calibração com os valores de determinação. Observa-se que esses valores foram superiores aos recomendados pela ANVISA e pelo INMETRO, o que indica que o método proposto é linear dentro das respectivas faixas de trabalho.

Tabela 14. Curvas analíticas de calibração das amostras após decomposição ácida e quantificação por ICP OES.

Analito	Equação da Reta	R²	Faixa linear (mg L⁻¹)
As	$Y = 393,97x + 43,41$	0,9997	0,047 a 7,0
Ba	$Y = 1322230x + 219638$	0,9988	0,0002 a 7,0
C	$Y = 314x + 30473$	0,9990	100 a 4000
Ca	$Y = 142234x + 242474$	0,9935	0,024 a 100
Cd	$Y = 22990x + 2408$	0,9991	0,003 a 7,0
Co	$Y = 8517x + 900$	0,9990	0,004 a 7,0
Cr	$Y = 5375X + 512$	0,9991	0,006 a 7,0
Cu	$Y = 6374x + 705$	0,9991	0,006 a 7,0
Fe	$Y = 19703x + 2131$	0,9991	0,013 a 7,0
K	$Y = 69380x + 388866$	0,9986	0,007 a 300
Mg	$Y = 12688x + 54755$	0,9939	0,008 a 100
Mn	$Y = 215298x + 22920$	0,9987	0,0005 a 7,0
Na	$Y = 723x - 644$	0,9995	0,062 a 100
Sr	$Y = 3262183x + 443738$	0,9990	0,0001 a 7,0
P	$Y = 927x + 1855$	0,9998	0,11 a 300
Pb	$Y = 1273x + 162$	0,9990	0,026 a 7,0
Zn	$Y = 22906x + 1229$	0,9990	0,002 a 7,0

5.1.4.3) Exatidão

A exatidão de um método analítico pode ser definida como a proximidade ou concordância entre o resultado obtido pelo método em estudo comparado ao valor de referência aceito convencionalmente como verdadeiro, sendo os ensaios mais utilizados para avaliar a exatidão de um método: uso de materiais de referência,

participação em comparações interlaboratoriais e realização de ensaios de recuperação (BRASIL, 2016; BRASIL, 2017).

Dois materiais certificados de referência foram utilizados para confirmar a exatidão do método analítico, através da análise da folha de tomate (CRM Agro C1003a) e da Folha de maçã (CRM NIST 1515). Os percentuais de concordância, em %, entre o valor encontrado e o valor certificado variaram entre 80 ± 1 (Na) e 116 ± 1 (K) para o CRM Agro C1003a e entre 88 ± 10 (K) e 106 ± 4 (Ca) para o CRM NIST 1515, indicando boa exatidão do método (BRASIL, 2016; BRASIL, 2017; MAGNUSSON, 2014), conforme Tabelas 15 e 16. Vale ressaltar que na Tabela 16 os analitos Fe, Na e P não apresentaram bons percentuais de recuperação e que os analitos As, Cd e Cu ficaram abaixo do limite de quantificação.

Tabela 15. Composição do material de referência certificado, em $\mu\text{g g}^{-1}$, CRM Agro C1003a, após digestão ácida em bloco digestor fechado (média \pm desvio padrão, n=3).

Analito	Valor certificado	Valor encontrado	REC (%)
As	19,0 \pm 2,8	17,1 \pm 0,1	90 \pm 1
Cd	26,6 \pm 2,1	22,8 \pm 0,4	86 \pm 1
Cu	1130 \pm 140	1127 \pm 17	100 \pm 2
Fe	1120 \pm 190	1116 \pm 9	100 \pm 1
K	43300 \pm 3800	50279 \pm 153	116 \pm 1
Mg	4110 \pm 360	3567 \pm 84	87 \pm 2
Mn	470 \pm 69	426 \pm 5	91 \pm 1
Na	2710 \pm 840	2163 \pm 30	80 \pm 1
P	4370 \pm 740	4774 \pm 43	109 \pm 1
Sr	154 \pm 49	150 \pm 1	97 \pm 1
Zn	37,5 \pm 5,0	33,8 \pm 1,2	90 \pm 3

Tabela 16. Composição do material de referência certificado, em $\mu\text{g g}^{-1}$, CRM NIST 1515, após digestão ácida em bloco digestor fechado (média \pm intervalo de confiança $n=3$).

Analito	Valor certificado	Valor encontrado	REC (%)
Ca	15260 \pm 150	16151 \pm 659	106 \pm 4
Fe	83 \pm 5	190 \pm 2	190 \pm 2
K	16100 \pm 200	14228 \pm 1745	88 \pm 10
Mg	2710 \pm 80	2421 \pm 54	89 \pm 2
Na	24,4 \pm 1,2	37,7 \pm 0,5	154 \pm 2
P	1590 \pm 110	1121 \pm 29	71 \pm 2
Sr	25 \pm 2	26 \pm 1	105 \pm 4
Zn	12,5 \pm 0,3	11,9 \pm 0,7	95 \pm 5

Para verificar a confiabilidade dos resultados, foi aplicado o método de regressão linear estabelecido entre os valores experimentais e os valores certificados dos CRM's. A equação linear encontrada e os valores dos coeficientes de correlação gerados para os CRM Agro C1003a e CRM NIST 1515 foram, respectivamente: $Y = 1,0178 (\pm 0,0523) \cdot x - 0,0873 (\pm 0,1529)$ com $r = 0,9990$, e $Y = 0,9736 (\pm 0,0711) \cdot x + 0,0195 (\pm 0,2083)$ com $r = 0,9992$. Nota-se que os coeficientes angular e linear admitem os valores de 1 e 0, respectivamente, confirmando um bom ajuste entre os valores experimentais encontrados e os valores certificados, comprovando que não existem diferenças significativas entre eles, uma vez que o valor de a , b e r atendem a idealidade requerida através do intervalo de confiança para o nível de 95% ($a=1$, $b=0$ e $r=1$) (MILLER e MILLER, 2010; FERREIRA, 2015).

A exatidão para os microelementos foi avaliada também por meio de testes de adição e recuperação, que consiste no enriquecimento das amostras com quantidades conhecidas dos analitos, em pelo menos três níveis diferentes de concentrações da faixa de trabalho do método (BRASIL, 2016). Neste trabalho, foram utilizados três níveis distintos de concentração (0,5, 2,5 e 5,0 mg L^{-1}), sendo o percentual de recuperação calculado conforme Equação 5.

$$\text{Recuperação (\%)} = \frac{C_1 - C_2}{C_3} \times 100 \quad \text{Equação 5}$$

em que C_1 é a concentração do analito na amostra enriquecida, C_2 é a concentração do analito na amostra não enriquecida e C_3 é a concentração do analito adicionado à amostra enriquecida. Pode-se observar, através da Tabela 17, que com exceção do Mn, todos os microelementos avaliados apresentaram bons percentuais de recuperação, nos 3 níveis, variando entre 87 ± 4 (Sr) a 109 ± 8 (Zn) (BRASIL, 2016).

Tabela 17. Valores de percentual obtidos para o teste de adição e recuperação em três níveis de concentração para as determinações por ICP OES.

Analito	Concentrações adicionadas (mg L ⁻¹)		
	Nível 1 0,5	Nível 2 2,5	Nível 3 5,0
As	108 ± 4	107 ± 2	105 ± 4
Ba	110 ± 7	93 ± 2	94 ± 3
Cd	101 ± 2	97 ± 1	96 ± 3
Co	100 ± 1	97 ± 2	97 ± 3
Cr	100 ± 1	96 ± 2	95 ± 3
Cu	100 ± 1	96 ± 2	95 ± 3
Fe	105 ± 9	95 ± 3	96 ± 4
Mn	49 ± 7	49 ± 7	63 ± 7
Pb	99 ± 2	93 ± 2	92 ± 3
Sr	95 ± 6	91 ± 3	87 ± 4
Zn	109 ± 8	102 ± 1	101 ± 4

5.1.4.4) Efeito de matriz

De acordo com a União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC) (*apud* GUILBAULT e HJELM, 1991), o efeito matriz é definido como "o efeito combinado de todos os componentes da amostra, exceto o analito, na medição da quantidade do analito". Ou seja, a matriz da amostra pode conter componentes que interferem no desempenho da medição e, esses interferentes, podem aumentar ou reduzir o sinal, comprometendo o resultado (BRASIL, 2016).

Neste trabalho, o efeito de matriz foi estimado por meio da comparação da razão entre os coeficientes angulares das curvas de calibração externa e os coeficientes das curvas de calibração obtidas por adição de analito (BRASIL, 2017; CARTER *et al.*, 2019; JUNG *et al.*, 2019). As razões encontradas, Tabela 18, variaram entre $0,82 \pm 0,1$ e $1,05 \pm 0,03$ sendo o menor valor para Fe e o maior para P. Tal efeito foi observado apenas para o Mn no qual o coeficiente angular em meio de ácido nítrico foi 470992 ± 10077 (n=3) e no meio da matriz digerida foi -41837 ± 1101 (n=3), o que indica que podem estar ocorrendo interações complexas e difíceis de caracterizar entre o analito e espécies concomitantes, que podem levar a resultados tendenciosos devido a mudanças no transporte e nebulização da amostra e propriedades do plasma (CARTER *et al.*, 2019).

Tabela 18. Coeficientes angulares das curvas analíticas de calibração para o estudo do efeito de matriz usando soluções padrão em ácido diluído e no meio da amostra empregando-se ICP OES.

Analito	Meio ácido (a)	Meio da amostra (m)	Razão (m/a)
As	396 ± 1	375 ± 6	0,95 ± 0,02
Ba	2887800 ± 50815	2534972 ± 28255	0,88 ± 0,01
Cd	71988 ± 1374	68742 ± 1145	0,95 ± 0,02
Co	17079 ± 462	17144 ± 144	1,00 ± 0,01
Cr	11204 ± 57	10182 ± 159	0,91 ± 0,01
Cu	53541 ± 575	51361 ± 968	0,96 ± 0,02
Fe	43530 ± 190	35478 ± 362	0,82 ± 0,01
Mn	470992 ± 10077	-41837 ± 1101	-0,09 ± -0,09
Na	104793 ± 2844	102782 ± 2605	0,99 ± 0,02
P	552 ± 10	573 ± 14	1,05 ± 0,03
Pb	847 ± 3	854 ± 10	1,01 ± 0,01
Zn	49223 ± 991	42407 ± 614	0,86 ± 0,1

Esses resultados corroboram com o que foi observado para os testes de adição e recuperação, em que apenas o Mn apresentou baixos percentuais de recuperação, Tabela 17. De acordo com Grygo-Szymanko, Tobiasz e Walas (2016)

a determinação do teor total de manganês em amostras biológicas, ambientais, farmacêuticas ou alimentícias é dificultada pelas possíveis interferências dos constituintes da matriz podendo, no caso de amostras de origem vegetal, ser atribuída à sua capacidade de formar complexos de citrato, malonato, malato, oxalato ou succinato. Visto que os resultados para Mn não apresentam a confiabilidade desejada, optou-se por não expressar a concentração total deste analito.

5.1.4.5) Precisão

A precisão de um método analítico reflete o quão próximos os resultados são uns dos outros, em uma série de medidas de uma amostragem múltipla da mesma amostra (MAGNUSSON, 2014). Geralmente, são expressas por meio do desvio padrão relativo (DPR) (MILLER e MILLER, 2010), segundo a Equação 6:

$$DPR (\%) = \frac{s}{M} \times 100 \quad \text{Equação 6}$$

Onde s é o desvio padrão e M é a média determinada.

Neste trabalho, a precisão foi avaliada em termos de teste de repetitividade por meio da análise de 10 réplicas da mesma amostra analisada pela metodologia proposta. Pode-se observar na Tabela 19 que os valores de DPR variaram entre 1,0 e 6,8 %, sendo o menor valor para o K e o maior para o Fe, o que indica boa precisão do método proposto.

Tabela 19. Resultados do teste de repetitividade (n=10) após aplicação do método de decomposição ácida.

Analito	Desvio padrão relativo (%)
As	<1,4 $\mu\text{g g}^{-1}$
Ba	3,4
Ca	1,1
Cd	<0,10 $\mu\text{g g}^{-1}$
Co	<0,11 $\mu\text{g g}^{-1}$
Cr	<0,17 $\mu\text{g g}^{-1}$
Cu	4,4
Fe	6,8
K	1,0
Mg	1,2
Na	<1,8 $\mu\text{g g}^{-1}$
Sr	2,5
P	2,3
Pb	<0,77 $\mu\text{g g}^{-1}$
Zn	3,0

5.1.5) Aplicação nas amostras

Após o método otimizado e validado, foram aplicados nas 12 amostras de palma coletadas em cidades do Estado da Bahia (11 amostras: Araci-A, Catuaba (Verde) - CV, Catuaba (Madura) - CM, Feira de Santana (período seco) - FSs, Feira de Santana (período úmido) - FSu, Mairi - Ma, Morro do Chapéu - Mc, Nilo Peçanha - N, Porto Seguro - Ps, Quixabeira - Q, Santo Estevão - Se) e do Estado de Pernambuco (1 amostra: Serra Talhada - St).

Na Tabela 20, podem ser observados os resultados encontrados para Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, P, Sr e Zn. As concentrações para As (<1,4 $\mu\text{g g}^{-1}$), Cd (<0,10 $\mu\text{g g}^{-1}$), Co (<0,11 $\mu\text{g g}^{-1}$), Cr (<0,17 $\mu\text{g g}^{-1}$), Na (<1,8 $\mu\text{g g}^{-1}$) e Pb (<0,77 $\mu\text{g g}^{-1}$) ficaram abaixo do LOQ do método proposto em todas as amostras. Pode-se observar que os macroelementos Ca, K, Mg e P apresentaram maiores concentrações variando entre $0,033 \pm 0,001$ (P) a $5,15 \pm 0,08$ (Ca) % m m⁻¹. As concentrações médias de Ca, Mg,

K e P foram iguais a 2,62, 1,41, 0,66 e 0,19 % m m⁻¹, respectivamente. As menores concentrações foram observadas para o microelemento Cu, seguido por Fe, Zn, Ba e Sr, com valores variaram entre <0,17 (Cu) e 348 ± 4 (Sr) µg g⁻¹. Sendo assim, as concentrações médias para Ba, Cu, Fe, Sr, e Zn foram iguais a 88,7; 2,14; 26,2; 165 e 68,5 µg g⁻¹, respectivamente.

Pode-se observar também que as amostras da cidade de Catuaba, colhidas em período de maturação diferentes (CV - Catuaba Verde e CM – Catuaba Madura) apresentaram diferenças nas concentrações dos analitos, sendo as maiores concentrações de Ba, Ca, Fe, Mg, Sr e Zn para a amostra madura e as maiores concentrações de Cu e P para a amostra verde. Esses maiores teores de Cu e P na amostra verde corroboram com o que foi observado por Adegbaju, Otunola e Afolayan (2019) em folhas de *Celosia argentea* analisadas sob diferentes estágios de maturação, em que na etapa de pré-floração obtiveram-se maiores concentrações desses analitos.

Essa maior concentração de Cu e P na palma verde pode ser justificado pelo fato desses elementos participarem de diversos processos necessários para um bom desenvolvimento das plantas, como crescimento e manutenção das células vegetais através do fornecimento de energia, no caso do fósforo, e produção da clorofila e controle do estresse abiótico, no caso do cobre (DALCORSO et al., 2014; ADEGBAJU, OTUNOLA e AFOLAYAN, 2019).

Observou-se também que as amostras de espécies diferentes A, CV, CM, Ma, Q e ST (palma gigante) e FSs, FSu, MC, N, PS e SE (palma miúda) não apresentaram tendências nas concentrações dos elementos conforme a espécie. Além disso, também foi observado que a amostra da cidade Serra Talhada (ST) no estado de Pernambuco, quando comparada as outras amostras da mesma espécie, apresentou maiores concentrações de Sr, Ba, Cu, Mg, não houve diferenças significativas nas concentrações para Fe, Ca, K e P, e menores concentrações pra Zn. Essas diferenças observadas podem ser influenciadas pelo estágio de maturação, solo, tipo de clima, condições de crescimento e pelo genótipo (NTATSI et al., 2018).

Pode-se observar também, que as amostras FSs e FSu, que foram coletadas no mesmo local, porém em períodos diferentes (FSs – período seco e FSu – período úmido) apresentaram concentrações diferentes para os elementos Cu, Fe, K, P, Sr e

Zn, levando-nos a inferir que a diferença entre elas indica a habilidade das plantas em extrair nutrientes do solo com base na água disponível.

A água constitui-se no veículo natural para o movimento dos íons no solo (fluxo de massa e difusão) (KIRKBY e RÖMHELD, 2007). Em solos com alto teor de água, as reações redox regulam vários processos biogeoquímicos, como por exemplo, um aumento no potencial de redução contribuiu para uma diminuição do pH, e isto auxilia no aumento da mobilidade de alguns elementos no solo, devido à redução direta do elemento ou da sua liberação de algum óxido (ANTONIADIS *et al.*, 2017).

A presença dos elementos avaliados na folha de palma pode ser justificada pela absorção dos mesmos através do solo, em que são sequestrados na raiz e depois carregados no xilema e transportados para as partes aéreas da planta, e finalmente distribuídos entre as células foliares (DALCORSO *et al.*, 2014; GONÇALVES, DE OLIVEIRA NETO e MACHADO, 2019). Cada etapa requer uma interação complexa de compostos quelantes e transportadores de metais que afetam a taxa de acúmulo desses elementos (DALCORSO *et al.*, 2014).

De acordo com Rocha (2012), a palma é exigente em Ca, Mg e K. O fósforo, apesar de ser pouco absorvido pela palma, apresenta teores consideráveis nos clatódicos analisados e, a sua presença pode ser justificada pela adição de fertilizantes ao solo, o que contribui para interações entre N e P, ampliando a absorção do fósforo (DA SILVA *et. al*, 2012).

A forma com que os microelementos são absorvidos pelas plantas ocorre principalmente a partir do vacúolo central das células vegetais, por meio de fluxo de massa e de difusão, sendo o último processo o que traz a maior contribuição para a maioria dos micronutrientes (DALCORSO *et al.*, 2014; KIRKBY e RÖMHELD, 2007). Os elementos Cu, Fe e Zn desempenham um importante papel na resistência a estresses abióticos e bióticos (resistência a doenças e pragas), são necessários para crescimento reprodutivo (indução ao florescimento, polinização, estabelecimento do fruto) e transporte de elétrons na fotossíntese (DALCORSO *et al.*, 2014; KIRKBY e RÖMHELD, 2007).

Os elementos Ba e o Sr, apesar de não serem elementos essenciais para as plantas, tem uma alta disponibilidade nas mesmas, sendo a sua concentração nos solos significativa. Tal fato pode ser justificado pela elevada mobilidade desses

elementos, que tendem a permanecer em solução e são, portanto, mais facilmente absorvidos pela espécie vegetal (ARAÚJO, 2007).

Oliveira *et al.*, (2014) compararam a composição mineral da caigua (um tipo de maxixe) com outros alimentos de origem vegetal (abóbora, pepino, chuchu melância e melão) e pode perceber que esses tipos de alimentos possuem concentrações relativamente elevadas de potássio e baixo teor de sódio, estando de acordo com a tendência que foi observada para a composição mineral da folha de palma, que apresenta elevados teores de K, Ca, Mg e P e baixos teores de sódio, conforme observado na Tabela 20.

Avaliando-se os resultados obtidos neste estudo, com os encontrados por Méndez *et al.* (2015) e Salehi *et al.* (2019) observa-se que nos três estudos as maiores concentrações obtidas foram para Ca, K, Mg e P, mostrando que a palma é uma boa fonte desses macroelementos. Ao comparar os dados obtidos por Salehi *et al.* (2019), em amostras de palma forrageira do Irã, nota-se que em ambos estudos, os analitos que apresentaram maiores concentrações foram Ca, K, Mg. Os resultados para Ca ($1,4 \% \text{ m m}^{-1}$) e P ($0,03 \% \text{ m m}^{-1}$) foram semelhantes ao encontrado neste estudo, diferentes para Cu ($177,53 \mu\text{g g}^{-1}$) e Na ($2807 \mu\text{g g}^{-1}$) que foram maiores que neste estudo e K ($0,22 \% \text{ m m}^{-1}$) e Mg ($0,28 \% \text{ m m}^{-1}$) que foram menores que neste estudo.

Em relação aos dados obtidos por Méndez *et al.* (2015) com folhas de palma da Espanha, observou-se que apenas o teor de Cu ($0,63 \mu\text{g g}^{-1}$) foi similar com este estudo, o teor de Na ($17,1 \mu\text{g g}^{-1}$) foi maior que neste estudo e o teor de P ($0,02 \% \text{ m m}^{-1}$), K ($0,22 \% \text{ m m}^{-1}$), Ca ($0,18 \% \text{ m m}^{-1}$), Mg ($0,09 \% \text{ m m}^{-1}$), Fe ($1,3 \mu\text{g g}^{-1}$) e Zn ($3,68 \mu\text{g g}^{-1}$) foram menores que neste estudo.

Deste modo, pode-se inferir que a diferença na concentração desses elementos nas amostras do Brasil, Espanha e Irã pode ser devido ao tipo de solo e condições climáticas dessas diferentes regiões (EL HAYEK *et al.*, 2017).

Tabela 20. Concentração dos analitos após decomposição ácida em bloco digestor fechado (média ± desvio padrão, n=3).

Analito	Microelementos ($\mu\text{g g}^{-1}$)					Macroelementos (% m m ⁻¹)			
	Ba	Cu	Fe	Sr	Zn	Ca	K	Mg	P
A	36,11 ± 0,23	1,03 ± 0,08	8,0 ± 0,2	91,7 ± 1,1	13,1 ± 0,3	2,10 ± 0,06	1,59 ± 0,01	0,60 ± 0,01	0,063 ± 0,001
CV	<0,01	4,38 ± 0,23	23,9 ± 0,5	41,2 ± 2,7	89,2 ± 4,4	1,94 ± 0,07	1,277 ± 0,004	0,40 ± 0,02	0,27 ± 0,02
CM	22,47 ± 2,24	3,09 ± 0,42	25,2 ± 1,0	185 ± 3	111 ± 9	3,80 ± 0,08	1,27 ± 0,01	0,60 ± 0,02	0,15 ± 0,01
FSs	49,64 ± 1,51	3,04 ± 0,13	50,2 ± 3,4	127 ± 3	159 ± 5	1,55 ± 0,05	1,53 ± 0,01	0,78 ± 0,01	0,32 ± 0,01
FSu	258 ± 13	0,66 ± 0,07	13,3 ± 0,8	193 ± 2	36,4 ± 2,0	2,28 ± 0,05	1,24 ± 0,01	0,71 ± 0,02	0,079 ± 0,005
Ma	43,15 ± 0,72	1,38 ± 0,05	38,3 ± 0,1	93,1 ± 2,2	45,9 ± 0,9	1,13 ± 0,03	1,50 ± 0,02	0,60 ± 0,01	0,033 ± 0,001
Mc	98,95 ± 6,40	0,98 ± 0,17	19,2 ± 0,4	136 ± 9	32,4 ± 2,2	3,99 ± 0,07	1,26 ± 0,01	0,61 ± 0,02	0,13 ± 0,01
N	47,28 ± 1,07	<0,17	44,1 ± 0,8	348 ± 4	54,3 ± 1,1	3,71 ± 0,06	0,81 ± 0,02	0,84 ± 0,01	0,091 ± 0,001
Ps	18,99 ± 0,92	3,33 ± 0,24	39,8 ± 2,8	163 ± 2	46,9 ± 1,7	5,15 ± 0,08	1,26 ± 0,01	0,52 ± 0,01	0,51 ± 0,02
Q	33,62 ± 1,61	1,54 ± 0,10	16,2 ± 1,8	101 ± 5	106 ± 4	2,36 ± 0,10	2,00 ± 0,13	0,49 ± 0,01	0,26 ± 0,01
Se	299 ± 2	0,73 ± 0,13	19,9 ± 1,6	283 ± 3	88,5 ± 0,7	2,08 ± 0,03	1,34 ± 0,01	0,98 ± 0,01	0,126 ± 0,002
St	157 ± 1	5,59 ± 0,10	16,6 ± 0,6	222 ± 2	17,30 ± 0,02	1,32 ± 0,02	1,49 ± 0,01	0,79 ± 0,01	0,188 ± 0,002
Faixa de concentração	<0,01 – 299	<0,17 – 5,6	8,0 – 50,2	41 – 348	17,30 – 159	1,32 – 3,71	0,81 – 1,59	0,40 – 0,84	0,03 – 0,32
Concentração média	88,7	2,14	26,2	165	68,5	2,62	1,41	0,66	0,19

5.1.6) Análise multivariada dos dados

Para a avaliação das tendências e similaridades entre as amostras de palma forrageira, coletadas em diferentes cidades, foi aplicada a (PCA) e a (HCA). Para análise dos dados foi empregado valores individuais de cada réplica, construindo-se uma matriz de dados (36 x 8), na qual as amostras foram dispostas em linhas e as concentrações dos analitos Ca, Cu, Fe, K, Mg, P, Sr e Zn (variáveis) em colunas. Os dados foram pré-processados através do autoescalamento, no qual os resultados obtidos para uma mesma variável foram subtraídos do valor médio e divididos pelo desvio-padrão do conjunto de resultados obtidos para essa variável (CORREIA e FERREIRA, 2007).

Para aplicação da PCA, os dados foram modelados considerando as três primeiras componentes (PC), sendo descritas através de 71,65% da variância total. As Figuras 7a e 8a mostram os gráficos de escores que podem ser interpretados a partir dos gráficos de pesos (Figura 7b e 8b). O posicionamento dos agrupamentos de amostras foi determinado pela PC1 (sentido horizontal) e pela PC2 ou PC3 (sentido vertical).

As variáveis que apresentaram maiores pesos para o PC1 foram para as concentrações de P (0,757), K (0,739), Cu (0,697), Zn (0,507), Sr (-0,561) e Mg (-0,784), que contribuíram com 38,90% da variância total. Isso significa que as amostras mais à direita da Figura 8a (CV, Ps e FSs), tendem a apresentar maiores concentrações de P, K, Cu e Zn e menores de Sr e Mg. Essas tendências podem ser justificadas por essas amostras apresentarem o mesmo tipo de solo no caso das amostras CV e Ps (latossolos) e da mesma espécie (*Nopalea cochenilifera*) para as amostras Ps e FSs. Enquanto, que as amostras mais à esquerda (A, FSu, Se e N) tendem a apresentar maiores concentrações de Sr e Mg e menores de P, K, Cu e Zn, podendo tal fato ser justificado pela proximidade geográfica das amostras e por apresentarem o mesmo tipo de solo (planossolos e latossolos). As demais amostras estão enquadradas em situações intermediárias.

A PC2, que contribuiu com 19,55% da variabilidade total dos dados, apresentou como variáveis com maiores pesos: Ca (0,597), Fe (-0,745), Sr (-0,524) e Zn (-0,592). Com isso, foi observado que as amostras A e Mc, que tem

localização geográfica próxima e mesmo tipo de clima (semiárido a seco e subúmido), apresentaram as maiores concentrações de Ca, e tendendo as menores concentrações de Fe, Sr e Zn. Enquanto que nas amostras identificadas como Se, N e FSs, que são de localização geográficas próximas e da mesma espécie (*Nopalea cochenilifera*), apresentaram as maiores concentrações de Fe, Sr e Zn, tendo as menores concentrações de Ca, conforme mostrado nas Figuras 7a e 7b.

Para o PC3, as variáveis referentes as concentrações de Ca (0,623) e P (0,544) contribuíram com 13,20% para a variância total, indicando que os valores para desses elementos são maiores nas amostras N e Ps (que são da mesma espécie (*Nopalea cochenilifera*) e apresentam o mesmo tipo de clima (tropical), quando comparados a amostra Ma, como ilustrado na Figura 8a e 8b.

Assim, através da aplicação da PCA foi possível pode-se observar que diversos fatores acabam influenciando na concentração dos elementos nas folhas de palma. De acordo com Dala-Paula *et al.*, (2018) a absorção dos elementos no solo pelos vegetais, depende de fatores como: pH do solo, potencial redox, composição do solo, teor de matéria orgânica, capacidade de troca catiônica, natureza e quantidade de elementos, envelhecimento de elementos adicionados, interface solo-planta, atividade microbiana na rizosfera, balanço de nutrientes, clima, deposições atmosféricas, permissibilidade do metal, seletividade e capacidade de absorção das espécies, bem como fontes de fertilizantes.

Figura 7. Gráfico das três componentes principais obtidas para as amostras: (a) escore de PC1 X PC2; (b) peso de PC1 x PC2.

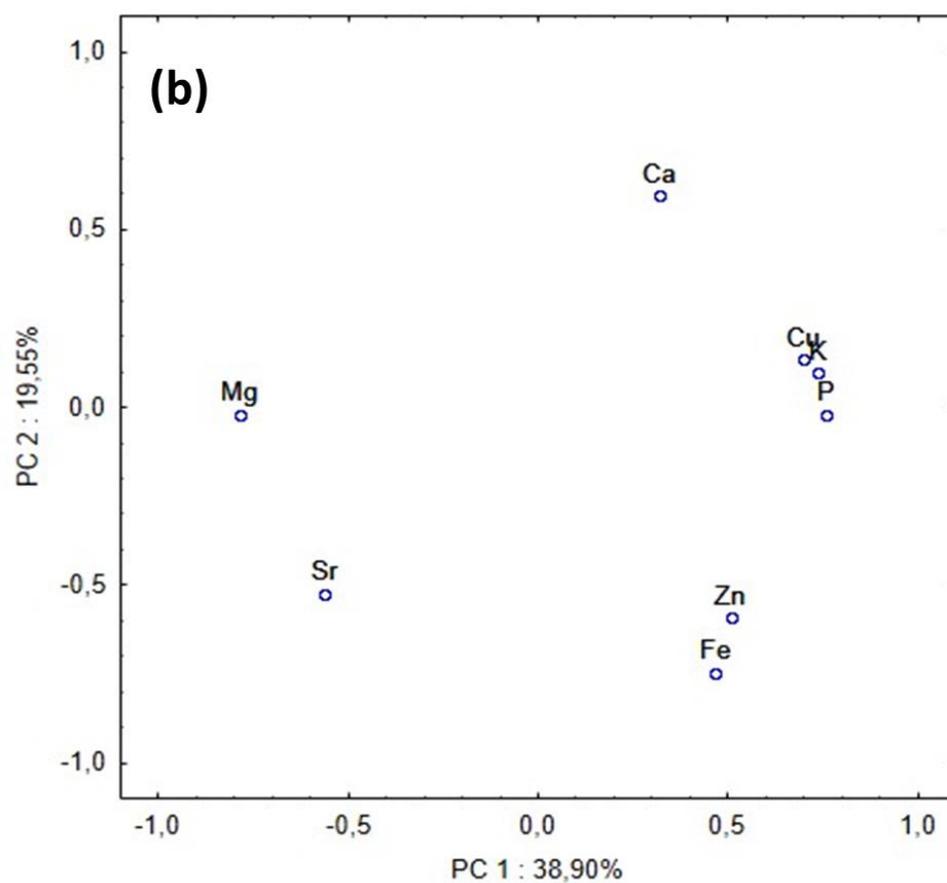
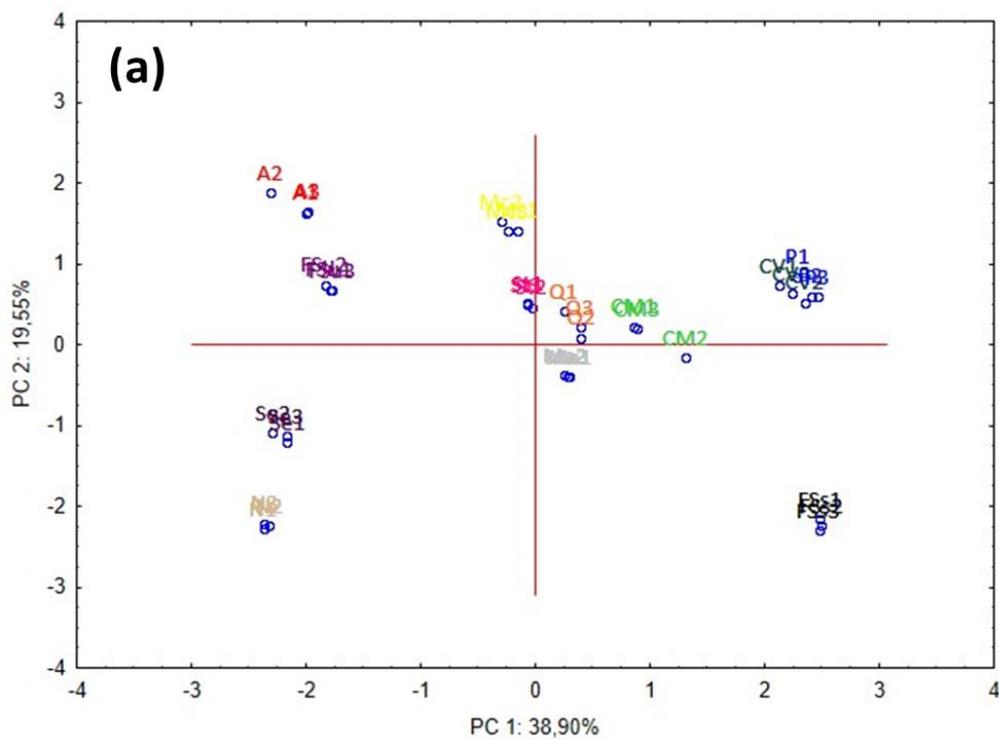
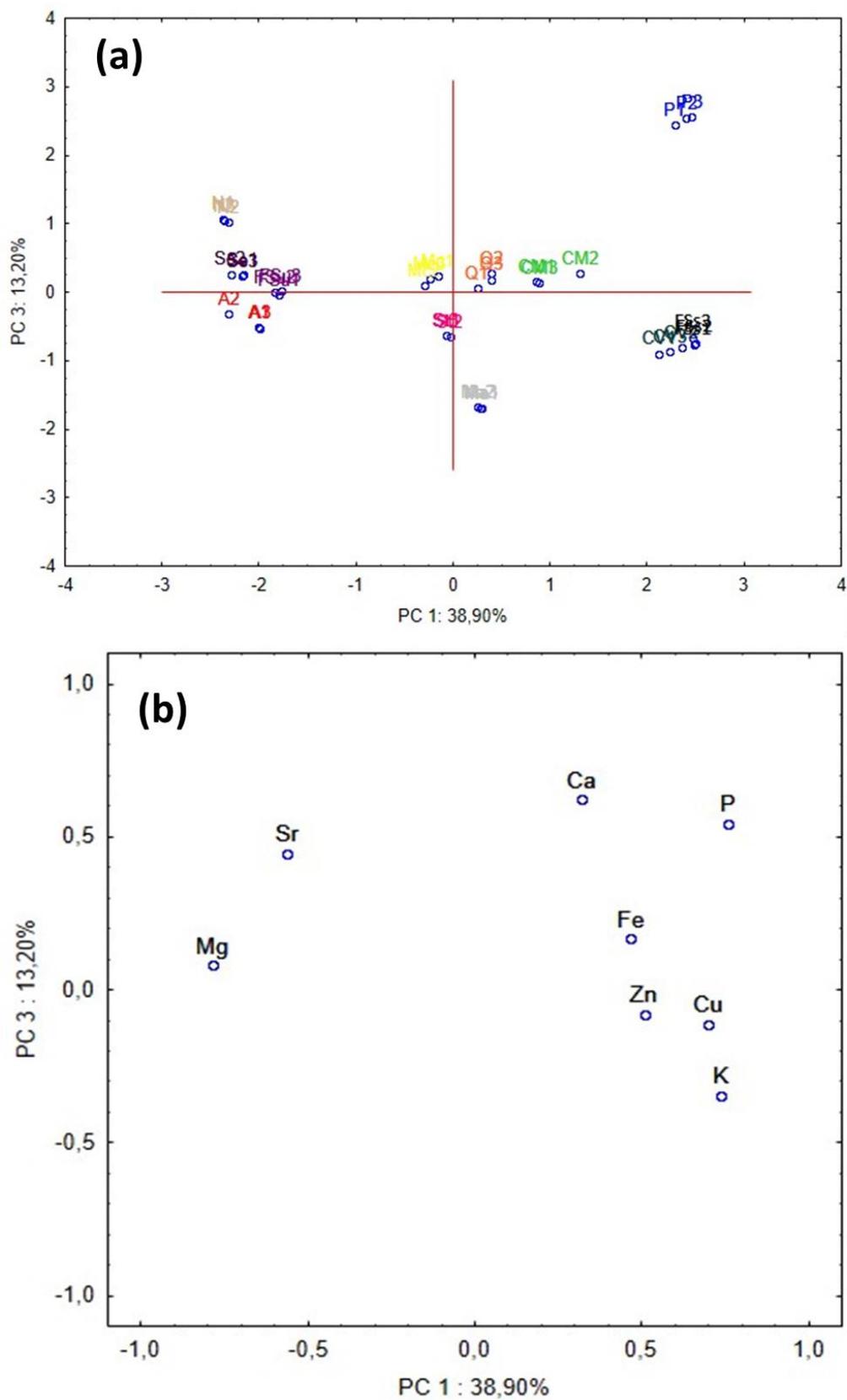


Figura 8. Gráfico das três componentes principais obtidas para as amostras: (a) escore de PC1 X PC3; (b) peso de PC1 x PC3.

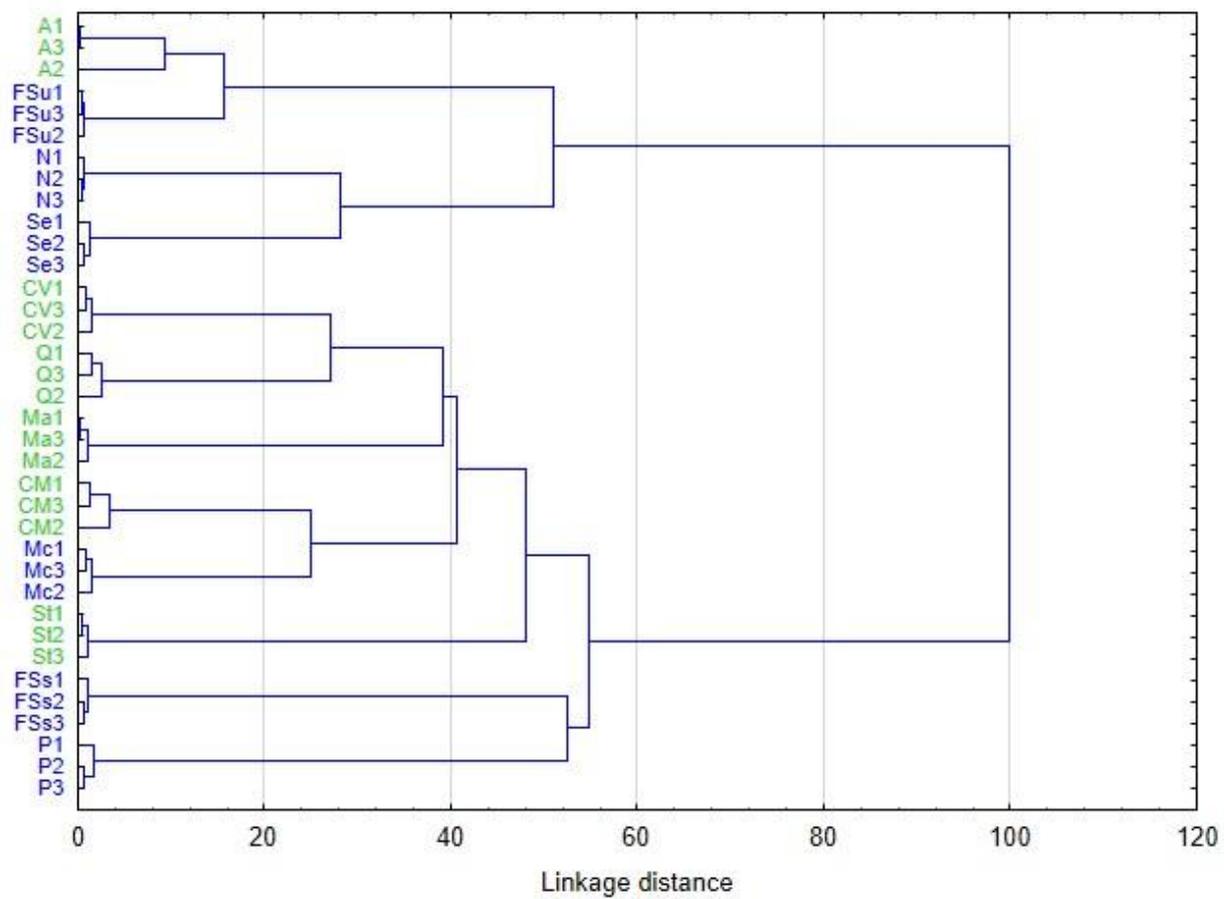


Aplicando a HCA a matriz de dados pré processados, foi possível obter o dendrograma, apresentado na Figura 9, podendo-se observar o agrupamento entre as amostras em duas classes distintas. As amostras A, FSu, N, Se foram enquadradas em um grupo, sendo a maioria delas da tipo palma miúda (*Nopalea cochenilifera*), com exceção da amostra A, que apesar de ser do tipo palma gigante (*Opuntia ficus-indica* Mill) pode ter sido enquadrada nesse por ter localização geográfica próxima dessas outras cidades. O outro grupo enquadrou as amostras CV, Q, Ma, CM, Mc, St, FSs e P que em sua maioria são do tipo palma gigante, com exceção das amostras Mc, FSs e P, que podem ter sido enquadradas nessa situação devido ao tipo de clima e solo que essas cidades apresentam em similaridade as outras do mesmo grupo.

Observa-se também, que os resultados se correlacionaram bem com outros resultados do PCA, visto que, pode ser comprovado entre as amostras FSs e FSu que apesar de serem do mesmo local, mas coletadas em períodos diferentes, foram classificadas em grupos distintos de acordo com a HCA, bem como as amostras de diferentes tipos (palma gigante e palma miúda) que não apresentaram uma tendência de concentração a depender do tipo.

Portanto, pode-se inferir, de um modo geral, que a concentração desses elementos presentes nas amostras de palma forrageira são influenciados pelo tipo de solo, fatores sazonais e climáticos das regiões onde as amostras são cultivadas, que acabam por interferir na interação solo-planta e sua capacidade de absorção de espécies. Essas espécies que são principalmente absorvidas pelas plantas são: (a) espécies iônicas livres hidratadas ou ionizadas, (b) espécies de pares de íons inorgânicos solúveis, incluindo espécies metálicas de hidroxila e (c) quelatos organometálicos principalmente de baixo peso molecular (ANTONIADIS *et al.*, 2017).

Figura 9. Dendrograma correspondente à classificação de 36 amostras de palma forrageira por HCA, com distâncias Euclidianas.



5.2) Alternativa a decomposição ácida: extração em banho ultrassônico

5.2.1) Estudo da massa e otimização do procedimento de extração

Com o intuito de avaliar qual a melhor massa para o procedimento de extração, testou-se cerca de 0,5 e 1,0 g aplicadas ao planejamento fatorial completo 2^3 . Para esta otimização, utilizou-se a amostra A. Os percentuais de extração foram calculados pelo quociente entre o teor obtido na extração em banho ultrassônico sobre o teor obtido no procedimento de decomposição ácida em bloco digestor com sistema fechado, validado anteriormente, conforme Equação 7.

$$\text{Percentual de extração}(\%) = \frac{\text{Teor obtido na extração}}{\text{Teor obtido na decomposição ácida}} \times 100 \quad \text{Equação 7}$$

Observou-se que os percentuais de extração foram maiores para a massa de 0,5 g, Tabela 21, quando comparados à massa de 1,0 g, Tabela 22. Tal fato pode ser justificado pela maior relação solvente/sólido no experimento com massa de 0,5 g, o que contribui para um aumento da área superficial do sólido com o solvente extrator, resultando em maior transferência de massa e maior taxa de extração e rendimento (CHEMAT *et al.*, 2017). Devido a esse fato, utilizou-se o planejamento de massa 0,5 g para o cálculo da resposta múltipla, baseado no somatório da concentração dos analitos em estudo, conforme Equação 8 e mostrados na Tabela 21.

$$RM = \frac{[Ba]}{93,76} + \frac{[Cu]}{131,22} + \frac{[Fe]}{86,18} + \frac{[Si]}{93,07} + \frac{[Sr]}{94,68} + \frac{[Zn]}{95,25} + \frac{[Ca]}{75,74} + \frac{[K]}{86,21} + \frac{[Mg]}{104,26} + \frac{[P]}{107,67} \quad \text{Equação 8.}$$

Avaliando-se os resultados da resposta múltipla, observa-se que o experimento que obteve maior somatório das concentrações dos analitos foi o ponto central (condição 9), conforme Tabela 23, com ácido nítrico a $1,5 \text{ mol L}^{-1}$ e tempo de sonicação de 7 minutos e 30 segundos. Ao gerar o gráfico de Pareto, Figura 10, pode-se observar que nenhuma variável apresentou efeito

significativo, a um nível de confiança de 95 %. Ou seja, as variáveis estudadas (tempo de sonicação, tipo de ácido e a concentração ácida), dentro do domínio experimental avaliado, não afetam a extração desses analitos presentes nas amostras de folhas de palma. Aplicando-se a ANOVA a 95 % de confiança, tem-se que o modelo não apresentou falta de ajuste ($p > 0,05$), tendo valor de p igual a 0,8835. Portanto, como nenhuma variável apresentou efeito significativo na extração dos analitos, utilizou-se o experimento com maior RM para extração das amostras em banho ultrassônico, que consistiu na adição de 10 mL de ácido nítrico $1,5 \text{ mol L}^{-1}$ e um tempo de sonicação de 7 minutos e 30 segundos. Vale ressaltar que a cada rodada a água do banho era trocada para garantir que a temperatura do banho se mantivesse constante.

Tabela 21. Percentuais de extração (%) dos analitos, após aplicação do planejamento fatorial 2^3 , para de massa 0,5g.

Experimento	Ba	Ca	Cu	Fe	K	Mg	P	Si	Sr	Zn
1	84,26	61,19	56,58	56,77	79,79	98,14	88,64	80,62	78,71	80,88
2	73,25	69,33	49,43	52,19	83,85	93,85	78,48	68,49	78,76	69,64
3	84,51	64,19	97,17	63,57	83,76	103,68	88,44	80,33	78,86	79,96
4	50,34	52,65	55,07	42,84	59,48	64,66	55,03	51,01	56,81	57,53
5	93,76	64,98	116,38	77,65	84,13	104,26	107,67	93,07	87,28	94,50
6	86,96	73,91	111,26	78,56	81,72	94,76	95,31	81,19	94,68	87,89
7	90,52	62,18	121,27	83,25	78,84	97,71	102,67	90,97	85,14	89,18
8	68,31	67,35	63,32	60,41	70,88	80,30	72,94	64,25	75,12	69,27
9 (PC)	92,60	62,01	131,22	86,18	80,21	99,07	107,30	91,28	86,90	95,25
10 (PC)	84,38	61,96	90,73	79,56	80,27	98,26	93,01	82,55	79,88	83,59
11 (PC)	75,90	51,61	69,80	64,52	68,02	82,31	87,80	76,55	70,92	78,93
12 (PC)	34,55	40,71	50,96	44,11	46,03	42,19	38,13	36,17	42,04	40,95
13 (PC)	59,77	59,03	51,99	50,94	68,75	78,38	63,63	58,17	63,66	64,37
14 (PC)	81,60	75,74	73,73	63,90	86,21	98,70	86,54	76,17	87,03	81,11

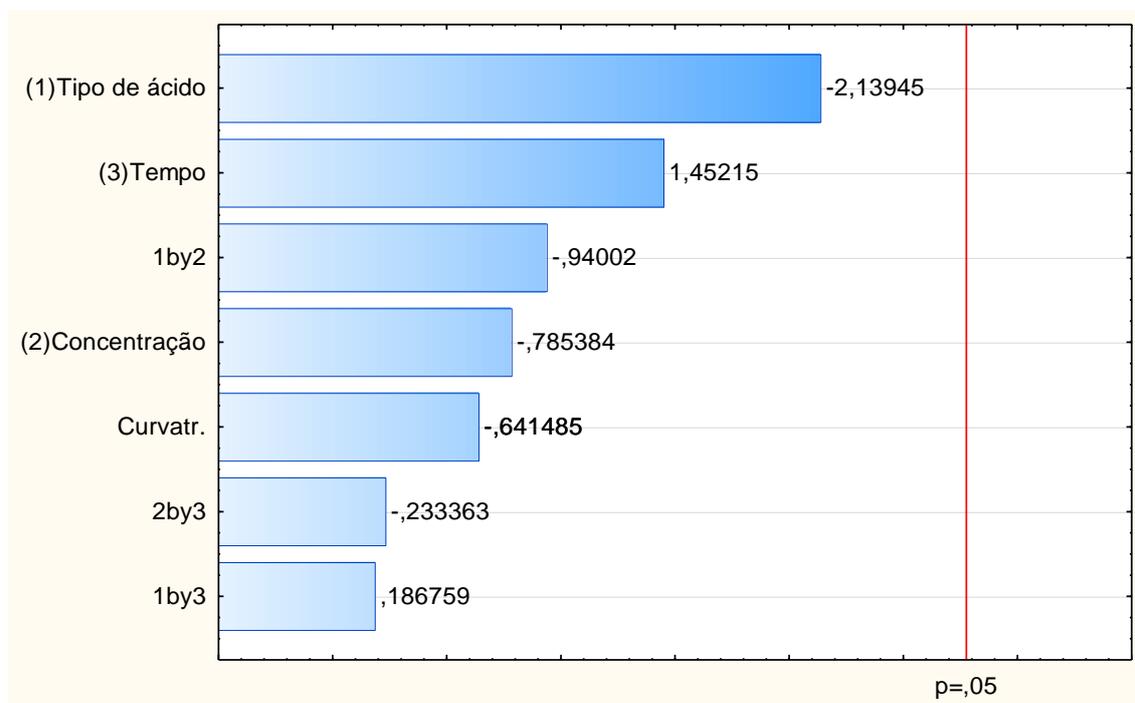
Tabela 22. Percentuais de extração (%) dos analitos, após aplicação do planejamento fatorial 2³, para de massa 1,0 g.

Experimento	Ba	Ca	Cu	Fe	K	Mg	P	Si	Sr	Zn
1	39,13	13,40	48,01	33,99	21,37	22,26	32,15	31,71	38,14	34,99
2	65,88	17,65	110,48	63,62	22,74	28,90	77,56	65,92	64,61	68,90
3	56,41	14,16	88,95	48,19	21,65	27,25	59,83	53,42	51,85	54,07
4	33,17	15,00	59,81	38,64	22,45	22,78	42,17	38,88	38,36	48,80
5	73,27	15,40	113,25	59,89	21,55	30,99	95,13	77,96	60,52	78,62
6	39,87	15,18	67,27	41,25	22,47	25,42	56,66	51,94	40,59	49,72
7	61,59	14,38	93,83	49,83	21,27	28,54	74,92	62,43	55,23	63,50
8	40,44	15,67	60,38	41,28	22,49	24,80	52,59	47,14	43,38	56,99
9 (PC)	67,87	15,49	95,40	54,92	21,72	30,96	85,72	70,05	59,20	71,75
10 (PC)	67,97	15,50	91,40	58,67	21,74	30,36	76,46	65,89	56,91	66,99
11 (PC)	67,08	15,42	96,02	55,18	21,44	30,61	84,31	68,17	57,44	71,02
12 (PC)	34,37	14,93	54,69	42,01	22,15	23,17	40,23	36,43	38,16	39,52
13 (PC)	36,18	15,48	59,83	38,56	22,53	24,08	42,06	37,83	40,70	42,12
14 (PC)	41,44	15,83	79,62	48,73	22,50	25,54	50,05	44,29	44,94	46,98

Tabela 23. Respostas ao planejamento fatorial 2^3 para a extração em banho ultrassônico.

Experimento	Tipo de Ácido	Concentração (mol L ⁻¹)	Tempo (minutos)	Resposta Múltipla
1	HNO ₃	1,0	5	8,021
2	HCl	1,0	5	7,552
3	HNO ₃	2,0	5	8,439
4	HCl	2,0	5	6,073
5	HNO ₃	1,0	10	9,507
6	HCl	1,0	10	9,307
7	HNO ₃	2,0	10	9,386
8	HCl	2,0	10	7,469
9 (C)	HNO ₃	1,5	7min 30s	9,681
10 (C)	HNO ₃	1,5	7min 30s	8,705
11 (C)	HNO ₃	1,5	7min 30s	7,825
12 (C)	HCl	1,5	7min 30s	5,119
13 (C)	HCl	1,5	7min 30s	6,679
14 (C)	HCl	1,5	7min 30s	8,482

Figura 10. Gráfico de Pareto para a Resposta múltipla, após aplicação do planejamento fatorial 2^3 para a extração.



5.2.2) Validação do método de extração

5.2.2.1) Limites de detecção e quantificação

O LOD e o LOQ foram calculados de acordo com a IUPAC (1978), conforme descrito no item 4.1.4.1. Os menores valores de LOD e LOQ foram observados para Sr (0,0005 e 0,002 $\mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente) e os maiores valores foram observados para P (0,78 e 2,61 $\mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente), Tabela 24. De um modo geral, observa-se que os valores de LOD e LOQ foram menores para o procedimento de extração em banho ultrassônico quando comparados ao bloco digestor em sistema fechado, tal fato pode ser atribuído a menor concentração ácida utilizada no procedimento de extração que foi de 1,5 mol L⁻¹, o que gera baixos valores de branco e baixos desvios-padrão relativos (Bizzi, Nóbrega e Barin, 2014).

Tabela 24. Limites de detecção e quantificação para os analitos, após aplicação do procedimento de extração em banho ultrassônico por ICP OES.

Analito	LOD (mg L⁻¹)	LOQ (mg L⁻¹)	LOD ($\mu\text{g g}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{g g}^{-1}$)
As	0,002	0,007	0,04	0,15
Ba	0,0001	0,0003	0,002	0,006
Ca	0,01	0,03	0,17	0,57
Cd	0,001	0,002	0,01	0,03
Cu	0,002	0,006	0,03	0,11
Fe	0,002	0,005	0,03	0,11
K	0,03	0,10	0,61	2,05
Mg	0,001	0,003	0,02	0,07
Na	0,02	0,07	0,40	1,33
Sr	0,00002	0,0001	0,0005	0,002
P	0,04	0,13	0,78	2,61
Pb	0,02	0,08	0,48	1,60
Zn	0,002	0,006	0,03	0,12

5.2.2.2) Linearidade e faixa linear de trabalho

Na Tabela 25, podem ser observados as curvas analíticas de calibração com os valores de R^2 . Observa-se que esses valores foram superiores aos recomendados pela ANVISA e pelo INMETRO, o que indica que o método proposto é linear dentro das respectivas faixas de trabalho.

Tabela 25. Curvas analíticas de calibração das amostras após extração em banho ultrassônico e quantificação por ICP OES.

Analito	Equação da Reta	R^2	Faixa linear (mg L ⁻¹)
As	$Y = 695,9x + 46,1$	0,9990	0,007 a 7,0
Ba	$Y = 1484830x + 159749$	0,9990	0,0003 a 7,0
Ca	$Y = 55584x + 737059$	0,9930	0,03 a 300
Cd	$Y = 48417x + 1909$	0,9998	0,002 a 7,0
Cu	$Y = 24238x + 818,3$	0,9994	0,006 a 7,0
Fe	$Y = 271162x + 10116$	0,9994	0,005 a 7,0
K	$Y = 61957x + 263689$	0,9990	0,10 a 300
Mg	$Y = 14462x + 74721$	0,9985	0,003 a 300
Na	$Y = 411x + 644$	0,9987	0,07 a 200
Sr	$Y = 3481766x + 423640$	0,9991	0,0001 a 7,0
P	$Y = 1340,5x + 84,8$	0,9997	0,13 a 300
Pb	$Y = 150,8x + 26,8$	0,9990	0,08 a 7,0
Zn	$Y = 30836x + 242,8$	0,9989	0,006 a 7,0

5.2.2.3) Exatidão

Três materiais certificados de referência foram utilizados para confirmar a exatidão do método de extração, através da análise do CRM Agro C1003a (folha de tomate), CRM NIST 1573a (folha de tomate) e CRM Agro FC_012017 (folha de cana de açúcar). Os percentuais de concordância, em %, entre o valor encontrado e o valor certificado variaram entre 88 ± 6 (Mg) e 103 ± 4 (Zn) para o CRM NIST 1573a, Tabela 26, entre 81 ± 3 (Na) e 109 ± 4 (Mg) para o CRM Agro C1003a, Tabela 27 e entre 90 ± 7 (Sr) e 111 ± 2 (K e Mg) para o

CRM Agro FC_012017, Tabela 28, indicando boa exatidão do método proposto (BRASIL, 2016; BRASIL, 2017; MAGNUSSON, 2014).

Para verificar a confiabilidade dos resultados, foi aplicado o teste de regressão linear. A equação linear encontrada e os valores dos coeficientes de correlação gerados para os CRM NIST 1573a, CRM Agro C1003a e CRM Agro FC_012017 foram, respectivamente: $Y = 0,9795(\pm 0,0234) - 0,0264(\pm 0,0658)$ com $r = 0,9998$; $Y = 1,0114(\pm 0,0343) - 0,0725(\pm 0,0916)$ com $r = 0,9986$, e $Y = 1,0154(\pm 0,0286) - 0,0359(\pm 0,0745)$ com $r = 0,9994$. Nota-se que os coeficientes angular e linear admitem os valores de 1 e 0, respectivamente, confirmando um bom ajuste entre os valores experimentais encontrados e os valores certificados, comprovando que não existem diferenças significativas entre eles, uma vez que o valor de a, b e r atendem a idealidade requerida através do intervalo de confiança para o nível de 95% ($a=1$, $b=0$ e $r=1$) (MILLER e MILLER, 2010; FERREIRA, 2015).

Tabela 26. Composição do material de referência certificado, em $\mu\text{g g}^{-1}$, CRM NIST 1573a (média \pm IC, n=4) após procedimento de extração.

Analito	Valor certificado	Valor encontrado	REC (%)
Ba	63*	59,0 \pm 3,6	94 \pm 4
Ca	50450 \pm 550	22664 \pm 2129	45 \pm 4
Fe	367,5 \pm 4,3	54,8 \pm 5,2	15 \pm 2
Mg	12000*	10515 \pm 1077	88 \pm 6
Mn	246,3 \pm 7,1	233,6 \pm 15,7	95 \pm 4
P	2161 \pm 28	1987 \pm 173	92 \pm 5
Sr	85*	78,6 \pm 5,5	93 \pm 4
Zn	30,94 \pm 0,55	31,80 \pm 2,1	103 \pm 4

*Incerteza não fornecida pelo NIST

Tabela 27. Composição do material de referência certificado, em $\mu\text{g g}^{-1}$, CRM Agro C1003a (média \pm desvio padrão, n=4) após procedimento de extração.

Analito	Valor certificado	Valor encontrado	REC (%)
As	19,0 \pm 2,8	20,4 \pm 1,8	107 \pm 9
Ca	27400 \pm 4400	17091 \pm 358	62 \pm 1
Cd	26,6 \pm 2,1	26,4 \pm 1,1	99 \pm 4
Cu	1130 \pm 140	1031 \pm 48	91 \pm 4
Fe	1120 \pm 190	93 \pm 10	8 \pm 1
Mg	4110 \pm 360	4472 \pm 149	109 \pm 4
Mn	470 \pm 69	384 \pm 16	82 \pm 3
Na	2710 \pm 840	2184 \pm 77	81 \pm 3
P	4370 \pm 740	4252 \pm 198	97 \pm 5
Pb	3,67 \pm 0,55	3,09 \pm 0,03	84 \pm 1
Sr	154 \pm 49	131 \pm 4	85 \pm 3
Zn	37,5 \pm 5,0	33,0 \pm 1,4	88 \pm 4

Tabela 28. Composição do material de referência certificado, em $\mu\text{g g}^{-1}$, CRM Agro FC_012017 após procedimento de extração (média \pm IC, n=4).

Analito	Valor certificado	Valor encontrado	REC (%)
Ba	14,8 \pm 4,0	13,4 \pm 1,2	93 \pm 8
Ca	4378 \pm 150	5849 \pm 373	132 \pm 8
Cu	7,79 \pm 1,02	8,17 \pm 0,67	108 \pm 5
Fe	220 \pm 9	38,1 \pm 4,2	17 \pm 2
K	16190 \pm 720	17956 \pm 342	111 \pm 2
Mg	1517 \pm 75	1691 \pm 35	111 \pm 2
Mn	126 \pm 6	120 \pm 9	96 \pm 7
P	2220 \pm 98	2113 \pm 1	95,16 \pm 0,01
Sr	25,7 \pm 1,6	23,1 \pm 1,7	90 \pm 7
Zn	13,30 \pm 0,87	12,58 \pm 1,13	95 \pm 8

A exatidão do método proposto também foi verificada por comparação com os resultados obtidos por decomposição da amostra CM em bloco digestor com sistema fechado. Os resultados estão mostrados na Tabela 29. Observa-

se bons percentuais de recuperação para as amostras sendo o menor valor para Mg 80,9 % e o maior valor para Cu 104 %. Aplicando-se o teste t para comparação de médias, observa-se que não houve diferença significativa a 99% de confiança para os elementos avaliados pois os valores de $t_{\text{calculados}}$ foram menores que o valor de t_{tabelado} ($t_{\text{calculado}} < 4,604$).

Foi observado que apenas para Ca e Fe não foram obtidos bons percentuais de extração, nem com os CRM's nem com a comparação com o procedimento de decomposição ácida. A extração ultrassônica pode ser afetada por diversos fatores, e dentre eles, a temperatura de exposição pode ter sido um fator que interferiu no processo de extração dos elementos Ca e Fe pois, o banho foi mantido à temperatura ambiente. Além disso, talvez fosse necessário um maior tempo de sonicação ou uma maior concentração ácida para a extração desses analitos. De acordo com Al-Merey, Al-Masri e Bozou (2002) a fusão de amostras sólidas antes da extração ultrassônica aumentará a taxa de dissolução de vários elementos, como Ca e Fe, o que demonstra que a extração desses analitos necessitam de uma maior atenção.

Tabela 29. Comparação da concentração média para a amostra CM, em $\mu\text{g g}^{-1}$, obtida pela extração com um método de decomposição total em bloco digestor com sistema fechado.

Analito	Bloco digestor fechado	Banho ultrassônico	Percentual de extração (%)	$t_{\text{calculado}}$
Ba	22,5 ± 2,2	23,1 ± 0,4	103 ± 2	0,294
Ca	13230 ± 44	6412 ± 17	48,5 ± 0,1	7,506
Cu	3,1 ± 0,4	3,2 ± 0,1	104 ± 4	1,441
Fe	25,2 ± 1,0	15 ± 0,2	60 ± 1	24,024
K	12659 ± 69	12643 ± 113	100 ± 1	0,002
Mg	5963 ± 220	4822 ± 25	81 ± 1	0,057
P	1522 ± 150	1356 ± 13	89 ± 1	0,018
Sr	185 ± 3	169 ± 2	91 ± 1	3,015
Zn	111 ± 9	104 ± 1	94 ± 1	0,209

5.2.2.4) Precisão

A precisão foi expressa em termos de repetitividade dos procedimentos nas condições otimizadas, sendo avaliada considerando dez ensaios da amostra Se. Pode-se observar na Tabela 30, que o desvio padrão relativo, em %, variou entre 1,1 (Sr) e 6,0 (Fe), indicando boa precisão do método. Os valores de desvio padrão relativo obtidos para o procedimento de extração em banho ultrassônico, foram similares aos encontrados para o procedimento de decomposição ácida.

Tabela 30. Resultados do teste de repetitividade (n=10) após aplicação do método de extração em banho ultrassônico.

Analito	Desvio padrão relativo (%)
Ba	5,7
Cu	4,3
K	1,6
Mg	3,5
Sr	1,1
P	5,1
Zn	4,2

5.2.3) Aplicação nas amostras

O método proposto foi aplicado nas 12 amostras de folha de palma oriundas de diferentes cidades de cultivo e, os resultados encontrados podem ser observados na Tabela 31. Foi possível quantificar Ba ($<0,006 - 226 \mu\text{g g}^{-1}$), Cu ($1,6 - 6,6 \mu\text{g g}^{-1}$), K ($0,77 - 2,13 \text{ m m}^{-1}$), Mg ($0,327 - 0,66 \text{ m m}^{-1}$), P ($0,039 - 0,484 \text{ m m}^{-1}$), Sr ($32,0 - 252 \mu\text{g g}^{-1}$) e Zn ($12,9 - 136 \mu\text{g g}^{-1}$), sendo as maiores concentrações para K e as menores concentrações para Cu. Os elementos As ($0,15 \mu\text{g g}^{-1}$), Cd ($0,03 \mu\text{g g}^{-1}$), Na ($1,33 \mu\text{g g}^{-1}$) e Pb ($1,60 \mu\text{g g}^{-1}$) ficaram abaixo do limite de quantificação do procedimento proposto da mesma forma que no procedimento de decomposição ácida. Apenas para Ca e Fe não foram obtidos bons percentuais de extração, indicando que o procedimento de extração em

banho ultrassônico proposto para as amostras folhas de palma não é adequado para a quantificação desses elementos.

O perfil das amostras, em termos de composição mineral, se repete como observado no procedimento de decomposição ácida em bloco digestor com sistema fechado, ou seja, houve diferenças nas concentrações das amostras de Catuaba (CV e CM) que foram colhidas em período de maturação diferente (verde e madura), para as amostras de Feira de Santana (FSs e FSu) que foram colhidas em período seco e período úmido e para as amostras de diferentes localidades, ressaltando mais uma vez que fatores como estágio de maturação, condições climáticas e tipo de solo acabam por influenciar na concentração desses elementos nas amostras de folha de palma.

Vale ressaltar que foi necessária uma etapa de filtração, pois no final da centrifugação observou-se a formação de um sobrenadante sólido em todas as amostras, o que dificultava a retirada da fase líquida. Nesta etapa adicional tem-se a retenção da parte sólida da matriz, o que evita um possível entupimento do nebulizador e depósito de matéria orgânica na tocha durante a análise dessas amostras por ICP OES.

O procedimento de extração por ultrassom para a quantificação de elementos essenciais e potencialmente tóxicos em amostras de folha de palma torna-se uma alternativa viável a decomposição ácida da amostra, uma vez que emprega ácidos mais diluídos, requer menor tempo no preparo da amostra, não emprega temperaturas elevadas, podendo ser considerado simples e de fácil operação quando comparados aos procedimentos de decomposição ácida convencionais.

Tabela 31. Concentração dos analitos nas amostras de folha de palma após aplicação do procedimento de extração.

Analito	Microelementos ($\mu\text{g g}^{-1}$)				Macroelementos (% m m ⁻¹)		
	Ba	Cu	Sr	Zn	K	Mg	P
A	30,1 ± 0,9	1,6 ± 0,1	78,8 ± 2,0	12,9 ± 0,6	1,11 ± 0,01	0,50 ± 0,01	0,039 ± 0,001
CV	<LOQ	3,47 ± 0,02	32,0 ± 1,3	78,6 ± 0,1	2,13 ± 0,10	0,3270 ± 0,0001	0,214 ± 0,002
CM	23,1 ± 0,4	3,2 ± 0,1	169 ± 2	104 ± 1	1,26 ± 0,01	0,482 ± 0,003	0,136 ± 0,001
FSs	45,8 ± 1,5	4,5 ± 0,1	104 ± 4	136 ± 4	1,29 ± 0,01	0,49 ± 0,01	0,25 ± 0,01
FSu	220 ± 18	1,16 ± 0,01	252 ± 22	33,8 ± 0,6	0,99 ± 0,04	0,34 ± 0,03	0,020 ± 0,002
Ma	24,03 ± 0,04	2,5 ± 0,2	125 ± 2	37,8 ± 0,8	1,26 ± 0,02	0,49 ± 0,01	0,228 ± 0,002
Mc	95,4 ± 3,6	1,49 ± 0,1	98,3 ± 3,9	31,8 ± 1,4	1,26 ± 0,01	0,49 ± 0,01	0,105 ± 0,003
N	43,7 ± 0,2	1,3 ± 0,5	245 ± 62	52,1 ± 1,0	0,77 ± 0,05	0,66 ± 0,06	0,08 ± 0,01
P	19,7 ± 0,5	2,5 ± 0,5	142 ± 14	48,2 ± 6,6	1,50 ± 0,28	0,44 ± 0,04	0,484 ± 0,004
Q	48,5 ± 1,3	2,7 ± 0,3	102 ± 4	71,0 ± 3,7	1,27 ± 0,01	0,39 ± 0,01	0,27 ± 0,01
Se	226 ± 13	1,6 ± 0,1	171 ± 2	64,4 ± 2,3	1,02 ± 0,02	0,57 ± 0,01	0,083 ± 0,003
St	149 ± 3	6,6 ± 0,3	170 ± 1	18,2 ± 0,6	1,24 ± 0,01	0,54 ± 0,01	0,156 ± 0,004
Faixa de concentração	<LOQ - 226	1,6 – 6,6	32,0 – 252	12,9 – 136	0,77 – 2,13	0,327 – 0,66	0,039 – 0,484
Concentração média	77,11	2,72	140,8	57,4	1,26	0,48	0,17

5.3) Avaliação da influência da cocção na concentração dos minerais na folha de palma

5.3.1) Otimização do procedimento de cocção

Para avaliar quais variáveis afetam a concentração dos elementos na folha de palma e qual seria a condição que tem menor variação nos valores dos elementos durante o procedimento de cocção empregando fogão e forno de micro-ondas caseiro, utilizou-se um planejamento fatorial completo 2^3 para avaliar tal situação. Após a aplicação de cada condição de cozimento, as amostras foram secas em estufa a 70°C até peso constante e digeridas com o procedimento de decomposição em bloco digestor fechado desenvolvido e validado neste trabalho. Vale ressaltar que a água de cozimento também foi digerida, com intuito de verificar possíveis perdas. A resposta utilizada neste planejamento foi o percentual de extração em que comparou-se o teor dos analitos presentes nas amostras após a aplicação do procedimento de cocção com o teor total obtido após decomposição total em bloco digestor fechado. Os analitos avaliados foram Ba, Cu, Fe, Sr, Zn, Ca, K, Mg e P. Como muitas repostas seriam geradas, utilizou-se a função resposta múltipla para tratamento dos dados, conforme Equação 9:

$$RM = \frac{[Ba]}{105,9} + \frac{[Cu]}{127,5} + \frac{[Fe]}{248,3} + \frac{[Sr]}{122,6} + \frac{[Zn]}{84,4} + \frac{[Ca]}{76,9} + \frac{[K]}{141,8} + \frac{[Mg]}{97,45} + \frac{[P]}{101,6}$$

Equação 9

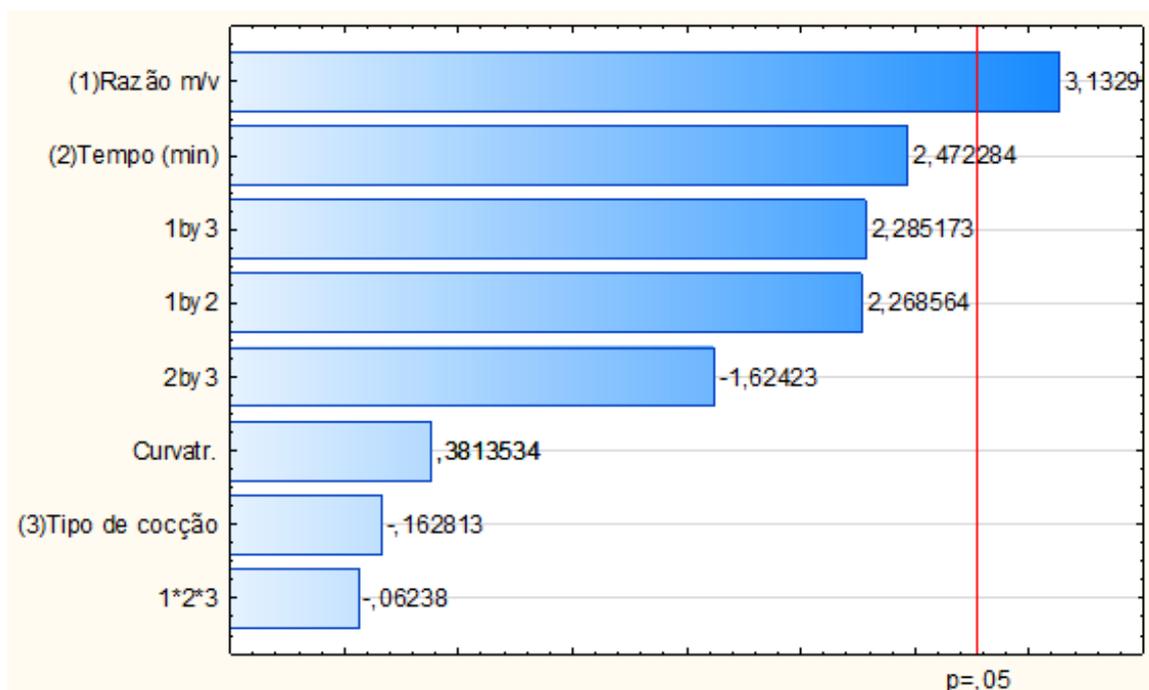
Na Tabela 32, podem ser observados os resultados da resposta múltipla obtidos para o planejamento fatorial completo 2^3 . A partir desses dados, gerou-se o gráfico de Pareto (Figura 11), em que pode-se observar que a única variável significativa foi a razão massa de amostra/volume de água de cocção (m/v) no maior nível. Aplicando-se a ANOVA a 95 % de confiança, tem-se que o modelo não apresentou falta de ajuste ($p > 0,05$), tendo valor de p igual a 0,3731. Pode-se observar que as maiores repostas foram obtidas para o experimento 1 e o experimento 2, respectivamente. Porém, no experimento 1 houve secura da água de cocção, levando-nos a interromper o processo de

cozimento antes de atingir os 10 minutos. Deste modo, optou-se pelo experimento com a segunda maior resposta múltipla, que foi o experimento 2.

Tabela 32. Resposta múltipla para o planejamento fatorial 2^3 para o procedimento de cocção.

Experimento	Razão (m/v)	Tempo (min)	Tipo de cocção	Resposta
1	+ (1:1)	+ (10)	+ (Fogão)	8,26
2	+ (1:1)	+ (10)	- (Micro-ondas)	8,08
3	+ (1:1)	- (5)	+ (Fogão)	7,78
4	+ (1:1)	- (5)	- (Micro-ondas)	7,07
5	- (1:2)	+ (10)	+ (Fogão)	7,06
6	- (1:2)	+ (10)	- (Micro-ondas)	7,58
7	- (1:2)	- (5)	+ (Fogão)	7,28
8	- (1:2)	- (5)	- (Micro-ondas)	7,31
9 (PC)	0 (2:3)	0 (7 min 30 s)	Fogão	7,77
10 (PC)	0 (2:3)	0 (7 min 30 s)	Fogão	7,43
11 (PC)	0 (2:3)	0 (7 min 30 s)	Fogão	7,36
12 (PC)	0 (2:3)	0 (7 min 30 s)	Micro-ondas	7,56
13 (PC)	0 (2:3)	0 (7 min 30 s)	Micro-ondas	7,53
14 (PC)	0 (2:3)	0 (7 min 30 s)	Micro-ondas	7,94

Figura 11. Gráfico de Pareto para a resposta múltipla, após aplicação do planejamento fatorial 2^3 para a cocção.



5.3.2) Aplicação do procedimento de cocção

Após a avaliação de qual condição de cocção seria mais adequada para minimizar a alteração de nutrientes, aplicou-se o procedimento de cocção empregando forno de micro-ondas caseiro em 6 amostras de folha de palma oriundas de diferentes cidades do estado da Bahia: Araci (A), Catuaba (CM), Feira de Santana (Fsu), Morro do Chapéu (Mc), Porto Seguro (Ps) e Quixabeira (Q). Os resultados obtidos para os micros e macroelementos podem ser observados nas Tabelas 33 e 34, respectivamente.

Nota-se, de um modo geral, que as concentrações dos elementos variaram com o processo de cozimento em forno de micro-ondas. De acordo com Santos *et al.* (2018) o tratamento térmico induzido pelo cozimento é capaz de causar separação, fracionamento mineral, destruição de inibidores, formação de complexos com íons metálicos, desnaturação de enzimas que degradam inibidores ou geração de compostos insolúveis por oxidação e precipitação.

Para os microelementos foi possível observar que o bário aumentou nas amostras A e Q, diminuiu nas amostras CM e Mc e se manteve constante nas amostras Fsu e Ps. O cobre aumentou nas amostras Fsu, Mc e Q e diminuiu nas amostras A, CM e Ps. O ferro, em geral, aumentou na maioria das amostras (A, Fsu, Mc e Q) e manteve constante nas amostras CM e Ps. Estrôncio aumentou apenas na amostra A, diminuiu nas amostras CM, Mc e Ps e se manteve constante na amostra Fsu e Q. Para o zinco, na maioria das amostras, houve diminuição da concentração dos analitos (CM, Fsu, Ps e Q) e aumentou nas amostras A e Mc.

Para os macroelementos, a concentração do cálcio diminuiu em todas as amostras, a de magnésio aumentou em todas as amostras, a de potássio aumentou na maioria das amostras (CM, Fsu, Mc e Ps) e diminuiu nas amostras A e Q, a concentração de fósforo permaneceu constante na maioria das amostras (CM, Fsu, Mc e Q) e diminuiu nas amostras A e Ps.

A diminuição na concentração desses elementos nas amostras de folhas de palma, podem ser justificadas pela lixiviação ou geração de compostos insolúveis por oxidação dos mesmos através do aquecimento em água. Isso ocorre porque durante o cozimento, usando radiação de micro-ondas, as

células das folhas são mais afetadas, liberando assim um maior conteúdo mineral, diminuindo conseqüentemente a concentração desses minerais (LIMA *et al.*, 2019). Essa parcela do conteúdo mineral que é liberado pode ser encontrada na água de cozimento, conforme os resultados demonstrados nas Tabelas 33 e 34.

O aumento na concentração desses elementos com o processo de cozimento pode ser atribuído a dois fatores: i) o tratamento por micro-ondas, causa a hidrólise térmica das paredes celulares e dos compartimentos subcelulares das folhas vegetais, o que promove a destruição de ligantes, hidrólise de fitatos, desnaturaçãõ de proteínas e destruição de inibidores, contribuindo assim para um aumento na concentração desses elementos (DE SANTIAGO *et al.*, 2018); ii) a perda de umidade durante a cocção, pode contribuir para aumentar a concentração de alguns elementos, como se fosse uma “pré-concentração” (FELLOWS, 2018).

O processo de hidrólise térmica das paredes celulares, também pode promover a liberação de polifenóis ligados às fibras da dieta na fração de compostos fenólicos livres (DE SANTIAGO *et al.*, 2018) e esses compostos podem formar complexos com os íons metálicos presentes na folha de palma, permitindo assim que para alguns elementos não fosse observada alterações significativas nas concentrações com o processo de cozimento, como foi observado nesse estudo.

Em síntese, observa-se que o processo de cocção em forno de micro-ondas causa alterações nas concentrações dos elementos presentes nas amostras de folha de palma, tanto para mais quanto para menos. Deste modo, a cocção pode alterar a mobilidade e a solubilidade dos elementos nas condições do trato gastrointestinal, interferindo, portanto, na sua bioacessibilidade (SANTOS *et al.*, 2018).

Tabela 33. Teor de microelementos na palma e na água de cocção após aplicação do procedimento de cocção em forno de micro-ondas caseiro em comparação com os teores de microelementos na palma crua.

		Palma cozida	Água de cocção	Palma crua
	Analito	($\mu\text{g g}^{-1}$)	(mg L^{-1})	($\mu\text{g g}^{-1}$)
A	Ba	76,0 \pm 0,3	2,77 \pm 0,60	36,1 \pm 0,2
	Cu	0,68 \pm 0,05	<0,17	1,03 \pm 0,08
	Fe	13,8 \pm 0,6	0,72 \pm 0,03	8,0 \pm 0,2
	Sr	151 \pm 2	3,30 \pm 0,27	91,7 \pm 1,1
	Zn	16,71 \pm 0,04	0,81 \pm 0,09	13,1 \pm 0,3
CM	Ba	17,07 \pm 0,12	<0,01	22,47 \pm 2,24
	Cu	2,64 \pm 0,03	<0,17	3,09 \pm 0,42
	Fe	25,4 \pm 0,6	0,72 \pm 0,06	25,2 \pm 1,0
	Sr	175 \pm 2	3,65 \pm 0,26	185 \pm 3
	Zn	96,3 \pm 0,6	4,92 \pm 0,26	111 \pm 9
FSu	Ba	259 \pm 2	10,56 \pm 0,06	258 \pm 13
	Cu	1,12 \pm 0,06	<0,17	0,66 \pm 0,07
	Fe	18,4 \pm 0,5	0,82 \pm 0,02	13,3 \pm 0,8
	Sr	196 \pm 0,5	9,36 \pm 0,56	193 \pm 2
	Zn	26,9 \pm 0,3	1,66 \pm 0,05	36,4 \pm 2,0
Mc	Ba	82,8 \pm 2,3	2,47 \pm 0,17	98,9 \pm 6,4
	Cu	1,42 \pm 0,04	<0,17	0,98 \pm 0,17
	Fe	24,92 \pm 2,06	0,94 \pm 0,06	19,2 \pm 0,4
	Sr	105 \pm 2	3,12 \pm 0,30	136 \pm 9
	Zn	44,0 \pm 0,93	2,99 \pm 0,18	32,4 \pm 2,2
Ps	Ba	19,27 \pm 0,55	<0,01	18,99 \pm 0,92
	Cu	3,08 \pm 0,07	<0,17	3,33 \pm 0,24
	Fe	39,6 \pm 3,1	1,13 \pm 0,12	39,8 \pm 2,8
	Sr	147 \pm 4	2,04 \pm 0,24	163 \pm 2
	Zn	39,7 \pm 1,1	1,32 \pm 0,15	46,9 \pm 1,7
Q	Ba	51,5 \pm 0,4	0,79 \pm 0,05	33,6 \pm 1,6
	Cu	4,81 \pm 0,09	<0,17	1,54 \pm 0,10
	Fe	28,7 \pm 2,0	0,68 \pm 0,06	16,2 \pm 1,8
	Sr	103 \pm 1	1,12 \pm 0,06	101 \pm 5
	Zn	73 \pm 1	3,34 \pm 0,10	106 \pm 4

Tabela 34. Teor de macroelementos na palma e na água de cocção após aplicação do procedimento de cocção em forno de micro-ondas caseiro em comparação com os teores de macroelementos na palma crua.

		Palma cozida	Água de cocção	Palma crua
	Analito	(%m m⁻¹)	(%m v⁻¹)	(%m m⁻¹)
A	Ca	1,26 ± 0,01	0,054 ± 0,002	2,10 ± 0,06
	K	1,01 ± 0,01	0,084 ± 0,013	1,59 ± 0,01
	Mg	1,306 ± 0,005	0,110 ± 0,007	0,60 ± 0,01
	P	0,03 ± 7,48 x10 ⁻⁵	0,001 ± 8,526 x10 ⁻⁵	0,063 ± 0,001
CM	Ca	1,259 ± 0,004	0,072 ± 0,005	3,80 ± 0,08
	K	1,549 ± 0,003	0,215 ± 0,005	1,27 ± 0,01
	Mg	0,901 ± 0,001	0,069 ± 0,004	0,60 ± 0,02
	P	0,144 ± 0,001	0,009 ± 4,012 x10 ⁻⁵	0,15 ± 0,01
FSu	Ca	0,94 ± 0,01	0,052 ± 0,002	2,28 ± 0,05
	K	1,37 ± 0,01	0,160 ± 0,007	1,24 ± 0,01
	Mg	1,08 ± 0,01	0,101 ± 0,006	0,71 ± 0,02
	P	0,073 ± 0,001	0,003 ± 1,726 x10 ⁻⁵	0,079 ± 0,005
Mc	Ca	1,27 ± 0,01	0,10 ± 0,01	3,99 ± 0,07
	K	1,47 ± 0,01	0,203 ± 0,009	1,26 ± 0,01
	Mg	0,84 ± 0,01	0,074 ± 0,005	0,61 ± 0,02
	P	0,138 ± 0,003	0,01 ± 5,59 x10 ⁻⁴	0,13 ± 0,01
Ps	Ca	1,279 ± 0,004	0,083 ± 0,006	5,15 ± 0,08
	K	1,52 ± 0,01	0,130 ± 0,010	1,26 ± 0,01
	Mg	0,76 ± 0,01	0,036 ± 0,004	0,52 ± 0,01
	P	0,40 ± 0,01	0,017 ± 1,368 x10 ⁻³	0,51 ± 0,02
Q	Ca	1,140 ± 0,003	0,0274 ± 0,0003	2,36 ± 0,10
	K	1,52 ± 0,01	0,201 ± 0,006	2,00 ± 0,13
	Mg	0,68 ± 0,01	0,042 ± 0,01	0,49 ± 0,01
	P	0,254 ± 0,004	0,016 ± 4,227 x10 ⁻⁴	0,26 ± 0,01

5.4) Avaliação da contribuição desses minerais para a Ingestão diária recomendada (IDR)

Como a folha de palma também é utilizada para a alimentação humana (MEDINA, RODRÍGUEZ e ROMERO, 2007; SALEHI, EMAM-DJOMEH, ASKARI e FATHI, 2019), avaliou-se a contribuição desses analitos para a ingestão diária recomendada (IDR). De acordo com a ANVISA, o IDR pode ser definido como a quantidade de proteínas, 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, 2005b).

Na Tabela 35, são apresentados os valores de IDR para Ca, Cu, Fe, Mg, P e Zn e suas contribuições considerando um consumo regular de 50 gramas de folha de palma por dia por um indivíduo adulto. Os valores de IDR foram calculados após conversão dos valores de concentração de peso seco para peso úmido, uma vez que a folha de palma apresenta cerca de 90 % de umidade.

Pode-se observar que para as amostras cruas as maiores contribuições foram para Ca (99 – 240%), seguido do Mg (89 – 128%) e Zn (8,8 – 75%), enquanto que para as amostras cozidas as maiores contribuições foram para Mg (123 – 236%), Ca (44 – 60%) e Zn (11 – 65%). Porém, de um modo geral tanto a amostra crua, quanto a amostra cozida, apresentam boas contribuições para a ingestão diária recomendada, o que pode variar é o aumento ou a diminuição da concentração do analito com o processo de cozimento, conforme descrito anteriormente.

Como para Ca e Mg alguns valores de IDR foram acima de 100 %, calculou-se esse valor levando em consideração o limite máximo de ingestão desses analitos para um indivíduo adulto (BRASIL, 2018). Apenas para Ca (64 – 156%) na palma crua e Mg (91 – 175%) na palma cozida foram superiores a 100 %. Embora essa contribuição de Ca e Mg ultrapasse o limite máximo em algumas amostras, isso não significa que o corpo absorverá toda essa quantidade, sendo necessário avaliar a bioacessibilidade desses nutrientes no organismo (SANTANA *et al.*, 2020; SOUZA *et al.*, 2018) e, assim, identificar se a quantidade absorvida é benéfica ou prejudicial à saúde.

Tabela 35. IDR dos minerais e sua contribuição para a ingestão regular de 50 g de folha de palma.

Analito	IDR para adultos	Limite máximo	Contribuição Palma crua (%)	Contribuição Palma cozida (%)
Ca (mg)	1000	1534,67	99 – 240	44 – 60
Cu (µg)	900	8975,52	3,7 – 13	3,6 – 25
Fe (mg)	14	34,31	2,7 – 13	4,6 – 13
Mg (mg)	260	350	89 – 128	123 – 236
P (mg)	700	2083,89	4,2 – 34	2,0 – 27
Zn (mg)	7	29,59	8,8 – 75	11 – 65

Na saúde humana, o cálcio ajuda a prevenir e tratar uma variedade de doenças relacionadas aos ossos, como a osteoporose (STIPANUK e CAUDILL, 2013). O magnésio ajuda a regular o relaxamento e a contração dos músculos, a produção de proteínas e até a produção e o transporte de energia por todo o corpo (SANTOS *et al.*, 2018). O zinco é considerado essencial para a divisão celular e na síntese de DNA e proteínas, além de ser essencial para a realização de muitas reações, como as relacionadas ao metabolismo do dióxido de carbono (SANTOS *et al.*, 2018).

Observa-se, portanto, que as folhas de palma possuem elementos essenciais como Ca, Cu, Fe, K, Mg, P e Zn, muito importantes para o correto funcionamento do corpo humano, devido às suas interações nos processos genéticos e fisiológicos (SANTANA *et al.*, 2020). Embora o estrôncio não seja um elemento essencial, ele possui um conteúdo considerável nas folhas de palma. A função do estrôncio e seu efeito na saúde humana são pouco conhecidas, mas alguns estudos relatam que a maioria do estrôncio no corpo humano é depositada no osso, assim como no cálcio, sendo rapidamente trocada entre sangue e osso (CHEN *et al.*, 2020).

6) CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste trabalho foram desenvolvidos dois procedimentos de preparo de amostras para determinar a composição mineral de 12 amostras de palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill e *Nopalea cochenilifera*) cultivadas no estado da Bahia (11 amostras) e de Pernambuco (1 amostra). O uso do planejamento fatorial completo de dois níveis possibilitou a obtenção condição ótima para a determinação dos minerais por ICP OES, em ambos os métodos.

Um dos procedimentos propostos foi a decomposição ácida empregando um bloco digestor com sistema fechado. Foi possível quantificar Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, P, Sr e Zn. O método foi validado apresentando boa exatidão e precisão, além de baixos limites de detecção e quantificação. Os analitos As, Cd, Co, Cr, Na e Pb ficaram abaixo do LOQ do método proposto em todas as amostras.

O outro procedimento proposto foi a extração ácida, empregando um banho ultrassônico, em que foram quantificados, Ba, Cu, K, Mg, P, Sr e Zn. O método foi validado apresentando boa precisão, exatidão e baixos limites de detecção e quantificação. Os analitos As, Cd, Na e Pb ficaram abaixo do LOQ do método proposto em todas as amostras.

Comparando-se ambos os procedimentos, pode-se observar que a extração em banho ultrassônico torna-se uma alternativa viável a decomposição ácida da amostra, uma vez que emprega ácidos mais diluídos contribuindo para a química verde, requer menor tempo no preparo da amostra, não emprega temperaturas elevadas, podendo ser considerado simples e de fácil operação quando comparados aos procedimentos de decomposição ácida convencionais. Porém, se os analitos de interesse forem Ca e Fe é mais adequado o uso do procedimento de decomposição ácida.

O uso das ferramentas PCA e HCA contribuíram para uma maior consistência na interpretação das tendências e semelhanças entre as amostras, uma vez que a compreensão do conjunto de dados e as inter-relações entre as variáveis se tornaram mais evidentes.

O uso do planejamento fatorial completo permitiu verificar que as alterações causadas com o processo de cozimento são menores para o forno

de micro-ondas quando comparados ao fogão. Ao avaliar-se a contribuição desses analitos para a ingestão diária recomendada, observa-se que tanto as amostras cruas quanto as amostras cozidas apresentaram boas contribuições para a ingestão desses analitos.

Deste modo, pode-se inferir que a folha de palma pode ser usada como suplemento alimentar, principalmente em regiões com períodos de seca mais altos, onde a palma tem maior resistência pois, ela apresenta bons teores dos elementos essenciais (Ca, Cu, Fe, K, Mg, P e Zn), além de um baixo teor de sódio. Elementos potencialmente tóxicos como As, Cd e Pb ficaram abaixo do limite de quantificação do método proposto.

Como o teor total não é um parâmetro para adequado para avaliar a ingestão real desses elementos pelo organismo, tem-se como perspectivas futuras avaliar a bioacessibilidade *in vitro* desses elementos na folha de palma.

REFERÊNCIAS

ADEGBAJU, O. D.; OTUNOLA, G. A.; AFOLAYAN, A. J. Proximate, mineral, vitamin and anti-nutrient content of *Celosia argentea* at three stages of maturity. **South African Journal of Botany**, v. 124, p. 372-379, 2019.

AL-MEREY, R.; AL-MASRI, M. S.; BOZOU, R. Cold ultrasonic acid extraction of copper, lead and zinc from soil samples. **Analytica Chimica Acta**, v. 452, n. 1, p. 143-148, 2002.

AMARAL C.D, AMAIS R.S, FIALHO L.L, SCHIAVO D, NOGUEIRA A.R.A, NÓBREGA J.A Determination of carbon in digested samples and amino acids by inductively coupled plasma tandem mass spectrometry. **Microchemical Journal**, v. 122, p. 29-32, 2015.

AMORIM, F. A. C., COSTA, V. C., DA SILVA, E. G. P., DE CASTRO, D. L., DE JESUS, R. M., BEZERRA, M. A. Multivariate optimization of simple procedure for determination of Fe and Mg in cassava starch employing slurry sampling and FAAS. **Food Chemistry**, v. 227, p. 41-47, 2017.

ANTONIADIS, V., LEVIZOU, E., SHAHEEN, S. M., OK, Y. S., SEBASTIAN, A., BAUM, C., RINKLEBE, J. Trace elements in the soil-plant interface: Phytoavailability, translocation, and phytoremediation—A review. **Earth-Science Reviews**, v. 171, p. 621-645, 2017.

ARAUJO, R. G. O. **Otimização de métodos analíticos e caracterização da farinha de trigo refinada: uma contribuição à Tabela Brasileira de Composição de Alimentos**. Tese (Doutorado em Química) – Programa de Pós Graduação em Química, Universidade Federal da Bahia, 2007.

ÁVILA, D. V. L., SOUZA, S. O., KORN, M. G. A., PESSOA, A. G., ARAUJO, R. G. O. Analysis of children modelling clay (toy) using inductively coupled plasma-based methods. **Talanta**, v. 188, p. 273-281, 2018.

AYNEKULU, E., AERTS, R., DENICH, M., NEGUSSIE, A., FRIIS, I., DEMISSEW, S., BOEHMER, H. J. Plant diversity and regeneration in a disturbed isolated dry Afromontane forest in northern Ethiopia. **Folia Geobotanica**, v. 51, n. 2, p. 115-127, 2016.

BARBA, FJ; GARCIA, C ; FESSARD, A ; MUNEKATA, PES LORENZO, JM; ABOUDIA, A ; OUADIA, A; REMIZE, F. *Opuntia Ficus Indica* Edible Parts: A Food and Nutritional Security Perspective. **Food Reviews International**, p. 1-23, 2020.

BARBOSA, J. T. P., SANTOS, C. M., PERALVA, V. N., FLORES, E. 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.

BARKA, N., ABDENNOURI, M., EL MAKHFOUK, M., QOURZAL, S. Biosorption characteristics of cadmium and lead onto eco-friendly dried cactus (*Opuntia*

ficus indica) cladodes. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 1, n. 3, p. 144-149, 2013.

BAYAR, N., KRIAA, M., KAMMOUN, R. Extraction and characterization of three polysaccharides extracted from *Opuntia ficus indica* cladodes. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 92, p. 441-450, 2016.

BRASIL (2005a). CPRM – Serviço Geológico do Brasil. Atlas Digital dos Recursos Hídricos Subterrâneos. Disponível em: <http://www.cprm.gov.br/publique/Hidrologia/Mapas-e-Publicacoes-173> <Acessado em 19/03/2019>.

BRASIL (2005b). Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Resolução nº 269/2005. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/RDC_269_2005.pdf/36ef25bc-80d4-465a-ac85-340587a7b850 <Accessed 15/01/2020>

BRASIL (2013). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Informativo sobre a Estiagem no Nordeste** - nº 40, 30/07/2013. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/politica-agricola/combate-a-seca-1/arquivos-combate-a-seca/40.pdf> < Acessado em 09/04/2019>.

BRASIL (2015). Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Alimentos regionais** – 2. ed. – Brasília: Ministério da Saúde, 2015. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/alimentos_regionais_brasileiros_2ed.pdf <Acessado: em 23/03/2020>.

BRASIL (2016). Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial - INMETRO; **Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaios Químicos**, DOQ-CGCRE-008, 2016. Disponível em: http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/CGCRE/DOQ/DOQ-CGCRE-8_05.pdf < Acessado em 21/09/2019>.

BRASIL (2017). Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC no 166, de 24 de julho de 2017. **Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências**. Publicada no DOU no141. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2721567/RDC_166_2017_COMP.pdf/d5fb92b3-6c6b-4130-8670-4e3263763401 <Acessado em 21/09/2019>.

BRASIL (2018). Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Gerência-Geral de Alimentos. **Justificativas para os limites mínimos e máximos de nutrientes, substâncias bioativas e enzimas da proposta regulatória de suplementos alimentares**. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/documents/3845226/0/Justificativa_Limites_Suplementos.pdf/e265ccd0-8361-4d8e-a33f-ce8b2ca69424 <Acessado em 30/06/2020>

BRASIL (2019). MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO - SECRETARIA DE POLÍTICA AGRÍCOLA - Portaria Nº 5, de 13 de fevereiro de 2019. Disponível em:

<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/riscosseguro/riscoagropecuario/portarias/safravigente/alagoas/word/PORTN05PALMAFORRAGEIRAAL.pdf> < Acessado em 09/04/2019>.

CAMPOS, F. S., GOIS, G. C., VICENTE, S. L. A., MACEDO, A., MATIAS, A. G. S. Alternativa de forragem para caprinos e ovinos criados no semiárido. **Nutri Time**, v. 14, n. 2, p. 5004-5013, 2017.

CARDOSO, D. B., DE CARVALHO, F. F. R., DE MEDEIROS, G. R., GUIM, A., CABRAL, A. M. D., VÉRAS, R. M. L., DOS SANTOS, K. C., DANTAS, L. C. N., NASCIMENTO, A. G. O. Levels of inclusion of spineless cactus (*Nopalea cochenillifera* Salm Dyck) in the diet of lambs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 247, p. 23-31, 2019.

CARTER, J. A., SLOOP, J. T., MCSWEENEY, T., JONES, B. T., DONATI, G. L. Identifying and assessing matrix effect severity in inductively coupled plasma optical emission spectrometry using non-analyte signals and unsupervised learning. **Analytica Chimica Acta**, v. 1062, p. 37-46, 2019.

CASSANO, A.; CONIDI, C.; DRIOLI, E. Physico-chemical parameters of cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) juice clarified by microfiltration and ultrafiltration processes. **Desalination**, v. 250, n. 3, p. 1101-1104, 2010.

CHEMAT, F., ROMBAUT, N., SICAIRE, A. G., MEULLEMIESTRE, A., FABIANO-TIXIER, A. S., ABERT-VIAN, M. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 34, p. 540-560, 2017.

CHEN, L., GUO, Q., WANG, Q., LUO, C., CHEN, S., WEN, S., LIU, L. Association between plasma strontium, a bone-seeking element, and type 2 diabetes mellitus. **Clinical Nutrition**, v. 39, n. 7, p. 2151-2157, 2020.

CORREIA, P.R.M; FERREIRA, M. Reconhecimento de padrões por métodos não supervisionados: explorando procedimentos quimiométricos para tratamento de dados analíticos. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 481-487, 2007.

COSTA, V. C., BABOS, D. V., 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.

COSTA, V. C., GUEDES, W. N., DE SANTANA, A. S., NASCIMENTO, M. M. Multivariate optimization for the development of a fast and simple ultrasound-assisted extraction procedure for multielemental determination in tea leaves by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES). **Food Analytical Methods**, v. 11, n. 7, p. 2004-2012, 2018.

DA SILVA, J. A., BONOMO, P., DONATO, S. L., PIRES, A. J., ROSA, R. C., DONATO, P. E. Composição mineral em cladódios de palma forrageira sob diferentes espaçamentos e adubações química. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 7, p. 866-875, 2012.

DALA-PAULA, B. M., CUSTÓDIO, F. B., KNUPP, E. A., PALMIERI, H. E., SILVA, J. B. B., GLÓRIA, M. B. A. Cadmium, copper and lead levels in different cultivars of lettuce and soil from urban agriculture. **Environmental Pollution**, v. 242, p. 383-389, 2018.

DAMASCENO, G. A. D. B., SILVA, R. M. A. D. C., FERNANDES, J. M., OSTROSKY, E. A., LANGASSNER, S. M. Z., FERRARI, M. Use of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill extracts from Brazilian Caatinga as an alternative of natural moisturizer in cosmetic formulations. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 52, n. 3, p. 459-470, 2016.

DALCORSO, G., MANARA, A., PIASENTIN, S., E FURINI, A. Nutrient metal elements in plants. **Metallomics**, v. 6, n. 10, p. 1770-1788, 2014.

DE SANTIAGO, E., DOMÍNGUEZ-FERNÁNDEZ, M., CID, C., DE PEÑA, M. P. Impact of cooking process on nutritional composition and antioxidants of cactus cladodes (*Opuntia ficus-indica*). **Food Chemistry**, v. 240, p. 1055-1062, 2018.

DE SOUZA, C. T., SOARES, S. A., QUEIROZ, A. F., DOS SANTOS, A. M., FERREIRA, S. L. Determination and evaluation of the mineral composition of breadfruit (*Artocarpus altilis*) using multivariate analysis technique. **Microchemical Journal**, v. 128, p. 84-88, 2016.

DE SOUZA, M. T. F., AMBROSIO, E., DE ALMEIDA, C. A., DE SOUZA FREITAS, T. K. F., SANTOS, L. B., ALMEIDA, V. C., GARCIA, J. C. The use of a natural coagulant (*Opuntia ficus-indica*) in the removal for organic materials of textile effluents. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 186, n. 8, p. 5261-5271, 2014.

DERRINGER, G., SUICH, R. J. Simultaneous optimization of several response variables. **Journal of Quality Technology**, v. 12, n. 4, p. 214-219, 1980.

DŁUGASZEK, M. Studies on relationships between essential and toxic elements in selected body fluids, cells and tissues. **Chemico-Biological Interactions**, v. 297, p. 57-66, 2019.

DONATI, G. L.; AMAIS, R. S.; WILLIAMS, C. B. Recent advances in inductively coupled plasma optical emission spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 32, n. 7, p. 1283-1296, 2017.

DOS SANTOS, I. F., DOS SANTOS, A. M., BARBOSA, U. A., LIMA, J. S., DOS SANTOS, D. C., MATOS, G. D. Multivariate analysis of the mineral content of raw and cooked okra (*Abelmoschus esculentus* L.). **Microchemical Journal**, v. 110, p. 439-443, 2013.

EL HAYEK, E., EL SAMRANI, A., LARTIGES, B., KAZPARD, V., AIGOUY, T. Lead bioaccumulation in *Opuntia ficus-indica* following foliar or root exposure to lead-bearing apatite. **Environmental Pollution**, v. 220, p. 779-787, 2017.

FELLOWS, P.J. **Tecnologia do Processamento de Alimentos-: Princípios e Prática**. Artmed Editora, 2018.

FERREIRA, H. S., OLIVEIRA, S. S., SANTOS, D. C. M. B., FONTANA, K. B., MARANHÃO, T. A., ALMEIDA, T. S., ARAUJO, R. G. O. Characterisation of the mineral composition of tobacco products (cigar, shredded and rope). **Microchemical Journal**, v. 151, p. 104196, 2019a.

FERREIRA, S. L. C. **Introdução às técnicas de planejamento de experimentos**. Editora Vento Leste, Salvador, 2015.

FERREIRA, S. L. C., JUNIOR, M. M. S., FELIX, C. S. A., DA SILVA, D. L. F., SANTOS, A. S., NETO, J. H. S., DE SOUZA, C. T., JUNIOR, R. A. C., SOUZA, A. S. Multivariate optimization techniques in food analysis—A review. **Food Chemistry**, v. 273, p. 3-8, 2019b.

FOX, D. I., PICHLER, T., YEH, D. H., ALCANTAR, N. A. Removing heavy metals in water: the interaction of cactus mucilage and arsenate (As (V)). **Environmental Science & Technology**, v. 46, n. 8, p. 4553-4559, 2012.

FREITAS, P. C. D., CARVALHO, R. M. D., SILVA, J. S. A., PRADO, T., DUARTE, E. R., FRESCURA, V. L., CHAVES, E. S. Extração assistida por ultrassom para determinação colorimétrica de ferro em solo: uma comparação com espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado. **Química Nova**, v. 38, n. 4, p. 570-574, 2015.

GAMELA, R. R.; COSTA, V. C.; PEREIRA-FILHO, E. R. Multivariate Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction Procedure for the Determination of Ca, Fe, K, Mg, Mn, P, and Zn in Pepper Samples by ICP OES. **Food Analytical Methods**, v. 13, n. 1, p. 69-77, 2020.

GODARD, M. P., EWING, B. A., PISCHEL, I., ZIEGLER, A., BENEDEK, B., FEISTEL, B. Acute blood glucose lowering effects and long-term safety of OpunDia™ supplementation in pre-diabetic males and females. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 130, n. 3, p. 631-634, 2010.

GONÇALVES, A.S. F.; DE OLIVEIRA NETO, S. S.; MACHADO, G. G. Uso de micronutrientes na agricultura: efeitos e aplicações. **Revista Agronomia Brasileira**, Volume 3, 2019.

GONZALEZ, M. H., SOUZA, G. B., OLIVEIRA, R. V., FORATO, L. A., NÓBREGA, J. A., NOGUEIRA, A. R. A. Microwave-assisted digestion procedures for biological samples with diluted nitric acid: Identification of reaction products. **Talanta**, v. 79, n. 2, p. 396-401, 2009.

GRYGO-SZYMANKO, E., TOBIASZ, A., WALAS, S. Speciation analysis and fractionation of manganese: A review. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 80, p. 112-124, 2016.

GUILBAULT, G. G.; HJELM, M. International Union of Pure and Applied Chemistry, Commission on Analytical Nomenclature and Clinical Chemistry Division. Nomenclature for automated and mechanised analysis,(recommendations 1989). In: **European journal of clinical chemistry and clinical biochemistry: journal of the Forum of European Clinical Chemistry Societies**.v. 29, n. 9, p. 577 – 585, 1991.

HOLLER, F. J.; SKOOG, D. A.; CROUCH, S. R. **Princípios de Análise Instrumental**. 6ª ed. Porto Alegre: Bookman, 2009.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos** /coordenadores Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea - São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

IUPAC, Internation Union of Pure and Applied Chemistry. Nomenclature, symbols, units and their usage in spectrochemical analysis-III. Analytical flame spectroscopy and associated non-flame procedures. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 33, p. 247–249, 1978.

JUNG, M. Y., KANG, J. H., CHOI, Y. S., LEE, J. Y., LEE, J. Y., PARK, J. S. Analytical features of microwave plasma-atomic emission spectrometry (MP-AES) for the quantitation of manganese (Mn) in wild grape (*Vitis coignetiae*) red wines: Comparison with inductively coupled plasma-optical emission spectrometry (ICP-OES). **Food Chemistry**, v. 274, p 20-25, 2019.

KAUR, M.; KAUR, A.; SHARMA, R. Pharmacological actions of *Opuntia ficus indica*: A Review. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 2, n. 7, p. 15-18, 2012.

KELEN, M. E. B., NOUHUYS, I. S., KEHL, L. C., BRACK, P., SILVA, D. B. D. Plantas alimentícias não convencionais (PANCs): hortaliças espontâneas e nativas. **UFRGS: Porto Alegre**, 2015.

KIRKBY, E. A.; RÖMHELD, V. Micronutrientes na fisiologia de plantas: funções, absorção e mobilidade. **Informações agrônômicas**, v. 118, n. 2, p. 1-24, 2007.

KRUG, F. J., ROCHA, F. R. P. **Métodos de preparo de amostras para análise elementar**. São Paulo: EditSBQ – Sociedade Brasileira de Química, 2016.

LIMA, A. F., LIMA, F. F., RICHTER, E. M., MUNOZ, R. A. Combination of sonication and heating for metal extraction from inorganic fertilizers prior to microwave-induced plasma spectrometry determinations. **Applied Acoustics**, v. 103, p. 124-128, 2016.

LIMA, A. M. S., DOS SANTOS, L. O., DAVID, J. M., FERREIRA, S. L. C. Mineral content in mustard leaves according to the cooking method. **Food Chemistry**, v. 273, p. 172-177, 2019.

MAGNUSSON, B. **The fitness for purpose of analytical methods: a laboratory guide to method validation and related topics**, 2014.

MARQUES, O. F. C., GOMES, L. S. P., MOURTHÉ, M. H. F., BRAZ, T. G. S., NETO, O. D. S. P. Palma forrageira: cultivo e utilização na alimentação de bovinos. **Caderno de Ciências Agrárias**, v. 9, n. 1, p. 75-93, 2017.

MEDINA, E. M. D.; RODRÍGUEZ, E. M. R.; ROMERO, C. D. Chemical characterization of *Opuntia dillenii* and *Opuntia ficus indica* fruits. **Food Chemistry**, v. 103, n. 1, p. 38-45, 2007.

MÉNDEZ, L. P., FLORES, F. T., MARTÍN, J. D., RODRÍGUEZ, E. M. R., ROMERO, C. D. Physicochemical characterization of cactus pads from *Opuntia dillenii* and *Opuntia ficus indica*. **Food Chemistry**, v. 188, p. 393-398, 2015.

MERMET J.M, POUSSEL E. ICP emission spectrometers: analytical figures of merit, **Applied Spectroscopy**, v. 49, n. 10, p. 12A-18A, 1995.

MILLER, J., MILLER, J. C. **Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry**. Pearson education, Sixth Edition, 2010.

MOFFETT, J.; RUSSELL, G.; LENER, J. P. **Evaluation of a novel nebulizer using an inductively coupled plasma optical emission spectrometer**. *Agilent Technologies Application Note.*, p. 1–5, 2011.

MÖHWALD, M. **Aspherical, Nanostructured Microparticles for Pulmonary Gene Delivery to Alveolar Macrophages**, 2017.

MONTASER, A., GOLIGHTLY, D. W. **Inductively Coupled Plasmas in Analytical Atomic Spectrometry**. 2 ed. New Jersey: John Wiley & Sons, 1992.

MULLER, A. L., MULLER, E. I., BARIN, J. S., e FLORES, E. M. Microwave-assisted digestion using diluted acids for toxic element determination in medicinal plants by ICP-MS in compliance with United States pharmacopeia requirements. **Analytical Methods**, v.7, n. 12, p. 5218-5225, 2015.

NHARINGO, T.; MOYO, M. Application of *Opuntia ficus-indica* in bioremediation of wastewaters. A critical review. **Journal of Environmental Management**, v. 166, p. 55-72, 2016.

NHARINGO, T.; ZIVURAWA, M. T.; GUYO, U. Exploring the use of cactus *Opuntia ficus indica* in the biocoagulation–flocculation of Pb (II) ions from wastewaters. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 12, n. 12, p. 3791-3802, 2015.

NOVAES, C. G., BEZERRA, M. A., DA SILVA, E. G. P., DOS SANTOS, A. M. P., ROMAO, I. L. S., NETO, J. H. S. A review of multivariate designs applied to the optimization of methods based on inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES). **Microchemical Journal**, v. 128, p. 331-346, 2016.

NTATSI, G.; CORTINES, M. E. G.; KARAPANOS, I.; BARROS, A.; BALLIU, J. W. A.; ROSA, E. A. S.; SAVVAS, D. The quality of leguminous vegetables as influenced by preharvest factors. **Scientia Horticulturae**, v. 232, p. 191-205, 2018.

OLIVEIRA, A. C., DOS SANTOS, V. S., DOS SANTOS, D. C., CARVALHO, R. D. S., SOUZA, A. S., FERREIRA, S. L. C. Determination of the mineral composition of *Caigua* (*Cyclanthera pedata*) and evaluation using multivariate analysis. **Food Chemistry**, v. 152, p. 619-623, 2014.

PARDINHO, R. B., DALLA VECCHIA, P., MENDES, A. L., BIZZI, C. A., MELLO, P. A., DUARTE, F. A., FLORES, E. M. Determination of toxic elements

in yerba mate by ICP-MS after diluted acid digestion under O₂ pressure. **Food Chemistry**, v. 263, p. 37-41, 2018.

PEIXOTO, R. R. A., CODO, C. R. B., SANCHES, V. L., GUIRALDELO, T. C., DA SILVA, F. F., RIBESSI, R. L., CADORE, S. Trace mineral composition of human breast milk from Brazilian mothers. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 54, p. 199-205, 2019.

PINHEIRO, F. C.; BARROS, A. I.; NÓBREGA, J.A. Microwave-assisted sample preparation of medicines for determination of elemental impurities in compliance with United States Pharmacopeia: How simple can it be?. **Analytica Chimica Acta**, v. 1065, p. 1-11, 2019.

PRIEGO-CAPOTE, F.; DE CASTRO, Luque. Ultrasound-assisted digestion: A useful alternative in sample preparation. **Journal of Biochemical and Biophysical Methods**, v. 70, n. 2, p. 299-310, 2007.

RIISOM, M., GAMMELGAARD, B., LAMBERT, I. H., STÜRUP, S. Development and validation of an ICP-MS method for quantification of total carbon and platinum in cell samples and comparison of open-vessel and microwave-assisted acid digestion methods. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 158, p. 144-150, 2018.

ROCHA, J.E da S. Palma forrageira no Nordeste do Brasil: estado da arte. **Embrapa Caprinos e Ovinos-Documentos (INFOTECA-E)**, 2012.

SALEHI, E., EMAM-DJOMEH, Z., ASKARI, G., FATHI, M. Opuntia ficus indica fruit gum: Extraction, characterization, antioxidant activity and functional properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 206, p. 565-572, 2019.

SANTANA, F. B., SOUZA, L. A., CARVALHO, W. C., KORN, M. G. A., SANTOS, D. C. M. Determination and In Vitro Bioaccessibility Evaluation of Cu, Fe, Mn, and Zn in Chia (*Salvia hispanica* L.) Seeds by ICP OES. **Food Analytical Methods**, v. 13, n. 1, p. 176-185, 2020.

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.

SEMENYA, S. S.; POTGIETER, M. J.; ERASMUS, L. J. C. Exotic and indigenous problem plants species used, by the Bapedi, to treat sexually transmitted infections in Limpopo Province, South Africa. **African Health Sciences**, v. 13, n. 2, p. 320-326, 2013.

SERRA, A. T., POEJO, J., MATIAS, A. A., BRONZE, M. R., e DUARTE, C. M. Evaluation of Opuntia spp. derived products as antiproliferative agents in human colon cancer cell line (HT29). **Food Research International**, v. 54, n. 1, p. 892-901, 2013.

SOUZA L.A., SOUZA T.L., SANTANA F.B., ARAUJO R.G.O., TEIXEIRA L.S., SANTOS D.C.M.B., KORN M.G.A. Determination and in vitro bioaccessibility

evaluation of Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na, P and Zn in linseed and sesame. **Microchemical Journal**, v. 137, p. 8-14, 2018a.

SOUZA, L. A. **Determinação e avaliação da bioacessibilidade de minerais em amostras de linhaça e gergelim por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado**. Dissertação de mestrado, Universidade Federal da Bahia, 2015.

SOUZA, S. O., SANTOS, V. S., SANTOS, E. S., ÁVILA, D. V. L., NASCIMENTO, C. C., COSTA, S. S. L., GARCIA, C. A. B., ARAUJO, R. G. O. Evaluation of the mineral content in milk and yogurt types using chemometric tools. **Microchemical Journal**, v. 143, p. 1-8, 2018b.

STIPANUK, Martha H.; CAUDILL, Marie A. **Biochemical, Physiological, and Molecular Aspects of Human Nutrition-E-Book**. Elsevier health sciences, 2013.

THOUNAOJAM, M.C.; NAMMI, S.; JADEJA, R. Natural products for the treatment of obesity, metabolic syndrome, and type 2 diabetes 2014. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2015, 2 páginas, 2015.

TULER, A. C.; PEIXOTO, A. L.; SILVA, N. C. B. Plantas alimentícias não convencionais (PANC) na comunidade rural de São José da Figueira, Durandé, Minas Gerais, Brasil. **Rodriguésia**, v. 70, 2019.

VERÓN, H. E., DI RISIO, H. D., ISLA, M. I., TORRES, S. Isolation and selection of potential probiotic lactic acid bacteria from *Opuntia ficus-indica* fruits that grow in Northwest Argentina. **LWT**, v. 84, p. 231-240, 2017.

VILA NOVA, S. R. M. **Palma forrageira (*Opuntia ficus-indica*): prospecção das tecnologias e potencialidades de inovação**. Dissertação (Mestrado em Propriedade Intelectual) – Instituto de Química e Biotecnologia, Programa de Pós-Graduação em Propriedade Intelectual e Transferência de Tecnologia para Inovação, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2018.

VOLTOLINI, T., DE MIRANDA, J. E. C., DOS SANTOS, R. D., MUNIZ, E., FERNANDES, E., DE MAGALHAES, V. M. A. **Plantio e manejo da palma forrageira no Semiárido: cartilhas elaboradas conforme a metodologia e-Rural**. Embrapa Semiárido-Fôlder/Folheto/Cartilha (INFOTECA-E), 2016.