

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE QUÍMICA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ANALÍTICA

**“DETERMINAÇÃO POR ICP OES DE ESPÉCIES METÁLICAS EM
ADOÇANTES DIETÉTICOS”**

TESE DE DOUTORADO

RAFAEL ARROMBA DE SOUSA

ORIENTADORA: PROF.^a DR.^a SOLANGE CADORE
CO-ORIENTADOR: PROF. DR. NIVALDO BACCAN

CAMPINAS, SÃO PAULO
AGOSTO DE 2007

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE
QUÍMICA DA UNICAMP

So89d	Sousa, Rafael Arromba de. Determinação por ICP OES de espécies metálicas em adoçantes dietéticos / Rafael Arrombra de Sousa. -- Campinas, SP: [s.n.], 2007. Orientadora: Solange Cadore. Co-orientador: Nivaldo Baccan. Tese - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química. 1. Espécies metálicas. 2. Adoçantes. 3. ICP OES. 4. Metais. I. Cadore, Solange. II. Baccan, Nivaldo. III. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química. IV. Título.
-------	---

Título em inglês: Determination of metallic species in dietetic sweeteners by ICP OES

Palavras-chaves em inglês: Metallic species, Sweeteners, ICP OES, Metals

Área de concentração: Química Analítica

Titulação: Doutor em Ciências

Banca examinadora: Solange Cadore (orientadora), Marcelo Antonio Morgano (ITAL), Joaquim de Araújo Nóbrega (DQ-UFSCAR), Celio Pasquini (IQ-UNICAMP), Fábio Augusto (IQ-UNICAMP)

Data de defesa: 16/08/2007

***Dedico esta tese aos meus avós,
Dirce e Antonio.***

AGRADECIMENTOS

Aos professores Solange Cadore e Nivaldo Baccan, pela orientação, apoio e ensinamentos;

Ao Paulo e à Helena, técnicos do laboratório, pelo apoio e companheirismo;

Ao Pimpim e demais funcionários do IQ-UNICAMP;

Ao Prof. Wilson F. Jardim e ao colega Juliano de Almeida Andrade, por viabilizarem as análises de carbono orgânico total, no LQA;

Ao pessoal do laboratório (Camila, Érika, Greice, Heitor, Lorena, Mário, Mírian, Patrícia, Rita, Sabrina e Thiago) e aos “ex-colegas” Antenor, Gisele, Júlio, Teresa e Vilarinho, pelo agradável ambiente de trabalho e auxílio;

Aos amigos Waldomiro, Reinaldo, Mariana e Anderson, pela amizade e colaboração nos trabalhos;

Ao Prof. Adilson Curtius, pelo uso do equipamento de ICP-MS e da estrutura do seu laboratório, na UFSC;

Aos professores Carla e Celio, à minha tia Carmem e amigos Laís e Paulo Bardaiui, por terem me ajudado na aquisição de amostras de adoçantes de outros países;

Ao Instituto de Química, pela infra-estrutura e facilidades para a realização deste trabalho;

À FAPESP e ao CNPq, pelo apoio financeiro;

Enfim, aos meus familiares e a todos que contribuíram, de alguma forma, na realização deste trabalho.

“O bom senso é o que há de mais bem distribuído no mundo, pois cada um pensa estar bem provido dele.”

(René Descartes)

SÚMULA CURRICULAR

Rafael Arromba de Sousa

FORMAÇÃO

- **Mestrado em Química (área de Química Analítica)** - UNICAMP, 2001 – 2003;
- **Licenciatura em Química** – UNICAMP, 1997 – 2003;
- **Bacharelado em Química** – UNICAMP, 1997 – 2001.

EXPERIÊNCIA

Atividades de Ensino:

- **Palestra proferida** – “Adoçantes Dietéticos e Edulcorantes” - *Colégio Técnico Bento Quirino – Campinas, SP, 18/10/2005.*
- **Estágio Docente** - Disciplina de Química Analítica Instrumental Experimental. *Instituto de Química - UNICAMP, 03/2005 – 07/2005.*
- **Correção de vestibular** – Correção da prova de química da 2ª Fase do Vestibular UNICAMP de 2005.
- **Palestra proferida** – “Uso da técnica de ICP OES na Determinação de Íons Metálicos em Alimentos” – *Faculdades Integradas Maria Imaculada, Mogi Guaçu, 16/10/2004.*
- **Estágio Docente** - Disciplina de Química Analítica Qualitativa. *Instituto de Química - UNICAMP, 03/2004 a 07/2004.*
- **Monitoria Acadêmica** - Disciplina de Laboratório de Química Geral. *Instituto de Química - UNICAMP, 03/2001 a 07/2001.*
- **Monitoria Acadêmica** - Disciplina de Laboratório de Química Geral. *Instituto de Química - UNICAMP, 08/2000 a 01/2001.*

Atividades de Pesquisa:

- **Pesquisa e desenvolvimento em Pigmentos inorgânicos à base de fosfato de alumínio.** Projeto financiado por convênio entre a empresa Bunge Fertilizantes e a UNICAMP, sob a coordenação do Prof. Dr. Fernando Galembeck. 02/2007 – atual.
- **Mestrado em Química na área de Química Analítica**, orientado pela Profa. Dra. Solange Cadore e co-orientado pelo Prof. Dr. Nivaldo Baccan. “Uso de Espectrometria de Emissão Óptica em Plasma de Argônio Indutivamente Acoplado (ICP OES) na Determinação de Constituintes Inorgânicos na Água de Coco Natural e Industrializada”. 08/2001 – 07/2003.

- **Iniciação Científica na área de Química Analítica**, orientado pelo Prof. Dr. Nivaldo Baccan. "Separação e Determinação de Níquel em Amostras de Interesse Ambiental e Alimentos, Utilizando Espectrometria de Absorção Atômica por Chama Combinada com a Pré-concentração Usando Ditiooxamida Suportada em Naftaleno Microcristalino". 09/1999 a 08/2000.

- **Iniciação Científica na área de Química Inorgânica**, orientado pelo Prof. Dr. Marco-Aurélio De Paoli. "Síntese de Polianilina em Escala Pré-Piloto e Tratamento dos Resíduos". 09/1998 a 08/1999.

PARTICIPAÇÃO EM CONGRESSOS, COM APRESENTAÇÃO DE TRABALHOS

- **"X Encontro Nacional Sobre Contaminantes Inorgânicos e V Simpósio sobre Essencialidade de Elementos na Nutrição Humana"** – Belo Horizonte, MG, Brasil, 25 – 27/10/2006.

- **"Ninth Rio Symposium on Atomic Spectrometry"** - Barquesimento, Venezuela, 05 – 10/11/2006.

- **"29ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química"** - Águas de Lindóia, SP, Brasil, 19 - 22/05/06.

- **"6º Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos"** - Campinas, SP, Brasil, 06-07/12/05.

- **"13º Encontro Nacional de Química Analítica e 1º Congresso Ibero-Americano de Química Analítica"** - Niterói, RJ, Brasil, 12 - 16/09/05.

- **"28ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química"** - Poços de Caldas, MG, 30/02 - 02/06/05.

- **"V Brazilian Meeting on Chemistry of Food and Beverages"** – São Carlos, SP, Brasil, 1 - 04/12/04.

- **"IX Encontro Nacional Sobre Contaminantes Inorgânicos e IV Symposium Sobre Essencialidade de Elementos na Nutrição Humana"** - São Paulo, SP, 22 - 23/09/04.

- **"Eighth Rio Symposium on Atomic Spectrometry"** - Paraty, RJ, Brasil, 01 - 06/08/04.

- **"XXVI Congresso Latinoamericano de Química e 27ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química"** - Salvador, BA, Brasil, 30/05/04 - 02/07/04.

- **"13º Encontro Nacional de Analistas de Alimentos"** – Rio de Janeiro, RJ, Brasil, 22 - 25/06/03.

- **"26ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química"** - Poços de Caldas, MG, 26 - 30/05/03.

- **"Euroanalysis 12"** - Dortmund, Alemanha, 8-13/09/02

- **"Seventh Rio Symposium on Atomic Spectrometry"** - Florianópolis, SC, 7 - 12/04/02.

- **"VIII Congresso Interno de Iniciação Científica"** – UNICAMP, 19 – 20/09/00.

- **"22ª Reunião Anual da SBQ"** - Poços de Caldas, MG, 25 – 28/05/99.

PUBLICAÇÕES

- Sousa, RA; Ribeiro, AS.; Vieira, MA; Curtius, AJ; Baccan, N; Cadore, S. **Determination of Trace Elements in Liquid Aspartame Sweeteners by ICP OES and ICP-MS Following Acid Digestion**, *Mickrochim. Acta*, 159, 241-246, 2007.

- Sousa, RA; Baccan, N; Cadore, S; “**Analysis of Liquid Stevioside and Cyclamate-saccharin Dietetic Sweeteners by Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry Without Sample Treatment**”, *J. Braz. Chem. Soc.*, 17, 1393-1397, 2006.

- Nóbrega, JA; Santos, MC; Sousa, RA; Cadore, S; Barnes, R; Tatro, M; **Sample Preparation in Alkaline Medium**”, *Spectrochim. Acta B*, 61, 465-496, 2006.

- De Sousa, RA; Neto, W. B.; Poppi, R. J.; Baccan, N; Cadore, S. **Classificação de Água de Coco Processada e Natural por meio de HCA, PCA e Teores de Íons Metálicos Determinados por ICP OES**”, *Química Nova*, 29, 654-656, 2006.

- De Sousa, RA; Baccan, N; Cadore, S; **Direct Determination of Metals in Brazilian Coconut Water Utilizing an Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometer**, *J. Braz. Chem. Soc.*, 16, 540-544, 2005.

- De Sousa, RA; Silva, JCJ; Baccan, N; Cadore, S; **Direct Determination of Metals in Bottled Brazilian Coconut Water Using a Double - View Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometer**; *J. Food. Comp. and Anal.*, 18, 399-408, 2005.

- De Sousa, RA; Araújo, AO; De Freitas, PS; De Paoli, MA. **Tratamento de Resíduos Gerados na Síntese de Polianilina em Escala Pré-piloto**”; *Química Nova*, 26, 938-942, 2003.

RESUMO

Determinação por ICP OES de Espécies Metálicas em Adoçantes Dietéticos

Autor: Rafael Arromba de Sousa
Orientadora: Prof^a Dr^a Solange Cadore
Co-orientador: Prof. Dr. Nivaldo Baccan

Métodos para a análise de adoçantes dietéticos, líquidos e sólidos, foram estudados empregando-se a técnica de ICP OES e, em alguns casos, as técnicas de ICP-MS (para adoçantes líquidos com aspartame) e GF AAS (para adoçantes líquidos em geral).

Exceto para os adoçantes líquidos à base de aspartame, que necessitaram de uma etapa de mineralização, as amostras foram introduzidas diretamente no equipamento de ICP OES, após diluição em HNO₃ 2 ou 0,3 % v/v, dependendo do tipo de adoçante.

As espécies estudadas foram As, Ca, Cd, Co, Cu, K, Fe, Mg, Mn, Na, Ni, Pb, Se e Zn e como não existe material de referência certificado para adoçantes, a exatidão dos métodos propostos foi avaliada por meio de experimentos de adição e recuperação de analitos e/ou comparando os resultados obtidos analisando a amostra antes e após uma etapa de mineralização.

Para a maioria dos analitos as recuperações obtidas foram adequadas, na faixa de 90 a 110 %, sendo os elementos As, K, Na e Se os mais difíceis de serem determinados com boa exatidão. Os limites de detecção obtidos dependeram do tipo de adoçante (líquido ou sólido) e análise (direta ou após mineralização), variando de 0,03 (Mn) a 2,3 (K) $\mu\text{g g}^{-1}$. Os desvios padrões relativos foram satisfatórios, geralmente menores que 5 %.

Os métodos estudados foram aplicados a um conjunto de 57 amostras de adoçantes de diferentes tipos e procedências (nacionais e de outros países). Espécies constituintes (Na, K e Ca) e contaminantes (Cd, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni e Se) foram determinadas e os valores encontrados foram comparados com os limites máximos estabelecidos pela ANVISA e Codex Alimentarius. Além disso, a

aplicação dos métodos mostrou que existe uma variação grande no teor dessas espécies, nos diferentes tipos e procedências, não havendo um perfil para a distribuição das mesmas. Os resultados também indicaram ser importante a monitoração de espécies que estão em concentrações maiores (e que não são declaradas, como Se) ou que poderiam apresentar algum risco à saúde dos consumidores de adoçantes, como o Na.

ABSTRACT

Determination of Metallic Species in Dietetic Sweeteners by ICP OES

Author: Rafael Arromba de Sousa
Supervisor: Prof. Dr. Solange Cadore
Co-supervisor: Prof. Dr. Nivaldo Baccan

Analytical methods for the analysis of dietetic sweeteners, liquid or solid, were studied. The techniques GF AAS, ICP-MS and mainly the ICP OES were used.

For liquid aspartame sweeteners a mineralization pre-treatment was employed, while a dilution with 2 or 0.3 % v/v HNO₃ (depending on the type of sweetener) was used before sample introduction into the plasma.

The following species were studied: As, Ca, Cd, Co, Cu, K, Fe, Mg, Mn, Na, Ni, Pb, Se and Zn. Since there is not a certified reference material for sweeteners, addition and recovery experiments were generally used in order to evaluate the accuracy of the proposed methods.

The recovery values were between 90 and 110 % for most analytes. Analytical difficulties were found for the determination of As, K, Na and Se, mainly without the use of a mineralization step. The obtained limits of detection varied from 0.03 (Mn) to 2.3 (K) $\mu\text{g g}^{-1}$ and the relative standard deviations were satisfactory, bellow 5 %.

The methods studied were applied to different kind of sweeteners (from Brazil and also other countries). The analytes concentrations were compared to the limits established for inorganic species, in foods, by ANVISA and Codex Alimentarius. Sodium, K and Ca were found as constituents of the samples, while the detection of Cd, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni and Se indicates a slightly contamination with these species. The results showed that there is a huge variation in the concentration of analytes and also suggest being important to monitor species such as Na and Se in this kind of product.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS.....	xvi
LISTA DE TABELAS.....	xviii
LISTA DE FIGURAS.....	xx
1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA.....	1
1.1. Revisão bibliográfica.....	3
1.1.1. Classificação dos edulcorantes.....	3
1.1.2. O uso de edulcorantes: histórico e recentes avanços.....	6
1.1.3. A química analítica e o controle de qualidade de edulcorantes e adoçantes.....	8
1.1.4. Espectrometria de emissão óptica em plasma de argônio com acoplamento indutivo.....	9
1.1.5. Propriedades das espécies determinadas nas amostras.....	12
2. OBJETIVOS.....	15
3. PARTE EXPERIMENTAL.....	16
3.1. Instrumentação	16
3.1.1. Análises por espectrometria de emissão óptica em plasma com acoplamento indutivo (ICP OES).....	16
3.1.2. Análises por espectrometria de massas com fonte de plasma (ICP-MS)....	18
3.1.3. Análises por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS).....	18
3.2. Limpeza de materiais e reagentes.....	19

3.3. Amostras: tipos e aquisição.....	20
3.4. Análise de adoçantes líquidos.....	20
3.4.1. Método I: otimização dos parâmetros instrumentais para a análise de adoçantes líquidos à base de ciclamato/sacarina por ICP OES.....	20
3.4.2. Método II: adaptação do Método I para a análise de adoçantes líquidos à base de esteviosídeo por ICP OES.....	21
3.4.3. Figuras de mérito e aplicação analítica: análise de um conjunto de adoçantes líquidos à base de ciclamato/sacarina e de esteviosídeo por ICP OES.....	21
3.4.4. Análise de adoçantes líquidos à base de aspartame.....	22
3.4.4.1. Análise de adoçantes à base de aspartame por ICP OES.....	22
3.4.4.2. Análise de adoçantes à base de aspartame por ICP-MS.....	23
3.4.5. Análise de adoçantes líquidos por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite.....	24
3.5. Análise de adoçantes sólidos à base de ciclamato/sacarina, esteviosídeo e aspartame por ICP OES.....	25
3.6. Tratamento dos resíduos gerados.....	26
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	27
4.1. Análise de adoçantes líquidos à base de ciclamato/sacarina e esteviosídeo.....	27
4.1.1. Método I: Otimização dos parâmetros instrumentais para a análise de adoçantes líquidos à base de ciclamato/sacarina por ICP OES.....	27
4.1.2. Método II: Adaptação do Método I para a análise de adoçantes líquidos à base de esteviosídeo por ICP OES.....	35

4.1.3. Figuras de mérito e aplicação analítica: análise de um conjunto de adoçantes líquidos à base de ciclamato/sacarina e de esteviosídeo por ICP OES.....	37
4.2. Método para a determinação de Se em adoçantes líquidos à base de ciclamato/sacarina, esteviosídeo e aspartame por GF AAS.....	40
4.3. Análise de adoçantes líquidos à base de aspartame.....	46
4.3.1. Análise de adoçantes à base de aspartame por ICP OES.....	46
4.3.2. Análise de adoçantes à base de aspartame por ICP-MS.....	49
4.3.3. Figuras de mérito (análise de adoçantes à base de aspartame por ICP OES e ICP-MS).....	52
4.4. Análise de adoçantes sólidos à base de ciclamato/sacarina, esteviosídeo e aspartame por ICP OES.....	54
5. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS.....	60
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	63
7. APÊNDICES.....	68, 74 e 76

LISTA DE ABREVIATURAS

AI: Absorbância integrada;

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária;

BEC: do inglês *Background Equivalent Concentration* (Concentração Equivalente de Fundo);

CFAC[®]: Mistura comercial que contém trietanolamina e trietilenotetramina;

CLAE: Cromatografia Líquida de Alta Eficiência;

EDL: do inglês *Electrodeless Discharge Lamp* (Lâmpada de descarga sem eletrodo);

ETV: do inglês *Electro-thermal Vaporization* (Vaporização eletrotérmica);

FRX: Fluorescência de Raios-X;

ICP: do inglês *Inductively Coupled Plasma* (plasma com acoplamento indutivo);

ICP-MS: do inglês *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry* (espectrometria de massas com fonte de plasma);

ICP OES: do inglês *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry* (Espectrometria de Emissão Óptica em Plasma com Acoplamento Indutivo);

IUPAC: do inglês *International Union of Pure and Applied Chemistry* (União Internacional de Química Pura e Aplicada);

GF AAS: do inglês *Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry* (Espectrometria de absorção atômica com forno de grafite);

LOD: do inglês *Limit of Detection* (Limite de detecção);

LOQ: do inglês *Limit of Quantification* (Limite de quantificação);

MOD: Modificador químico;

RF: Rádio-freqüência;

RNA: do inglês *Ribonucleic Acid* (ácido ribonuclêico);

RSD: do inglês *Relative Standard Deviation* (Desvio padrão relativo);

SBR: do inglês *Signal to Background Ratio* (Razão sinal/ruído);

SCD: do inglês *Segmented Array Charge-coupled Detector* (Dispositivo de Arranjo Segmentado de Carga Acoplada);

Tat: Temperatura de atomização;

THGA: do inglês *Transversely Heated Graphite Atomizer* (Atomizador de grafite aquecido transversalmente);

Tpir: Temperatura de pirólise;

tppir: Tempo de permanência na pirólise.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Nome comercial (a) e IUPAC (b) de alguns adoçantes [15].....	5
Tabela 2: Condições experimentais utilizadas no equipamento de ICP OES.....	17
Tabela 3: Comprimentos de onda e padronização interna empregados para a análise de adoçantes sólidos de diferentes tipos (à base de ciclamato/sacarina; esteviosídeo e aspartame).....	18
Tabela 4: Condições instrumentais para a análise de adoçantes líquidos à base de aspartame por ICP-MS.....	23
Tabela 5: Planejamento fatorial 2^4 para a otimização de parâmetros instrumentais para a determinação de Se em adoçantes líquidos.....	24
Tabela 6: Programa de aquecimento utilizado na determinação de Se em adoçantes líquidos.....	24
Tabela 7: Valores de concentração, em mg L^{-1} , e recuperação, em %, para espécies metálicas nos adoçantes líquidos "A" e "B", à base de ciclamato/sacarina e analisados em duplicata.....	33
Tabela 8: Valores de concentração, em mg L^{-1} , e recuperação, em %, para espécies metálicas nos adoçantes líquidos "A _e " e "B _e ", à base de esteviosídeo e analisados em duplicata.....	36
Tabela 9: Limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ), em mg L^{-1} , para a determinação de espécies metálicas em adoçantes líquidos à base de ciclamato/sacarina (cs) ou esteviosídeo (e).....	38
Tabela 10: Teores médios ($\mu\text{g g}^{-1}$), para um intervalo com 95% de confiança, de espécies metálicas determinadas em adoçantes líquidos.....	39
Tabela 11: Planejamento fatorial 2^4 para a determinação de Se em adoçantes líquidos. Parâmetros: temperatura de pirólise (T _{pir}), atomização (T _{at}), tempo de permanência na pirólise (t _{ppir}) e modificador químico (Mod).....	41
Tabela 12: Limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) instrumentais e valores de recuperação, em %, para Se nos adoçantes líquidos "A" e "B _e ", analisados em duplicata.....	43

Tabela 13: Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$) de Se em adoçantes líquidos, de marcas e tipos diferentes (à base de ciclamato/sacarina, esteviosídeo, aspartame).....	44
Tabela 14: Valores de concentração, em $\mu\text{g g}^{-1}$ e de recuperação, em %, para espécies inorgânicas em 4 adoçantes líquidos com aspartame ("A _a ", "B _a ", "C _a " e "D _a ").....	48
Tabela 15: Valores de concentração, em ng g^{-1} e de recuperação, em %, para espécies inorgânicas em 4 adoçantes líquidos com aspartame ("A _a ", "B _a ", "C _a " e "D _a ").....	51
Tabela 16: Limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ), em $\mu\text{g g}^{-1}$, para a determinação de espécies metálicas por ICP OES e ICP-MS em adoçantes líquidos à base de aspartame”.....	53
Tabela 17: Valores de recuperação médios, em %, obtidos para analitos adicionados em três diferentes tipos de amostras de adoçantes sólidos (à base de ciclamato/sacarina, esteviosídeo e aspartame).....	55
Tabela 18: Resultados para uma amostra de adoçante sólido, à base de ciclamato/sacarina, analisada diretamente e após uma etapa de mineralização.....	56
Tabela 19: Limites de quantificação (LOQ), em $\mu\text{g g}^{-1}$, para a determinação de espécies metálicas em adoçantes sólidos à base de ciclamato/sacarina, esteviosídeo ou aspartame e valores máximos permitidos pela ANVISA e Codex Alimentarius para algumas espécies.....	57
Tabela 20: Concentração, em $\mu\text{g g}^{-1}$, para espécies metálicas em adoçantes dietéticos sólidos (nacionais e de outros países).....	58

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Tocha de quartzo e o gradiente de temperatura do plasma [14].....	10
Figura 2: Sistema de detecção para a leitura do sinal analítico nos modos de observação axial e radial em um instrumento de visão dual [14].....	11
Figura 3: Razões Mg II/Mg I obtidas para as amostras “A” e “B” de adoçantes líquidos à base de ciclamato/sacarina. Condições operacionais: potência do plasma: 1300 W, vazão de nebulização: 0,3 – 0,8 L min ⁻¹ e vazão do gás auxiliar: 0,5 L min ⁻¹	28
Figura 4: Razões Mg II/Mg I obtidas para as amostra “A” e “B”. (a) Condições operacionais: potência do plasma: 1200 - 1500 W, vazão de nebulização: 0,5 L min ⁻¹ e vazão do gás auxiliar: 0,5 L min ⁻¹ . (b) Condições operacionais: vazão de nebulização: 0,5 L min ⁻¹ , potência do plasma: 1400 W e vazão do gás auxiliar: 0,3 - 1,0 L min ⁻¹	29
Figura 5: Razão sinal/fundo (SBR) para o Mn, em amostras de adoçantes líquidos à base de ciclamato/sacarina. Condições operacionais: potência do plasma (de 1200 a 1500 W), vazão de nebulização (0,5 L min ⁻¹) e vazão do gás auxiliar (0,3 L min ⁻¹).....	31
Figura 6: Gráfico de Pareto obtido no planejamento fatorial para determinação de Se em amostra de adoçante dietético líquido. Parâmetros: temperatura de pirólise (Tpir), atomização (Tat), tempo de permanência na pirólise (tppir) e modificador químico (Mod).....	42
Figura 7: Gráfico dos efeitos principais, obtido no planejamento fatorial para a determinação de Se em adoçantes líquidos. Parâmetros: temperatura de pirólise (Tpir), atomização (Tat), tempo de permanência na pirólise (tppir) e modificador químico (Mod).....	42

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

Adoçantes dietéticos são **produtos** formulados à base de edulcorantes naturais e/ou artificiais e têm a função de conferir o sabor doce a alimentos e bebidas [1].

Os edulcorantes são substâncias químicas que apresentam um sabor doce, e fornecem, em pequenas quantidades, a doçura que necessitaria de uma grande quantidade de sacarose (açúcar comum) [2].

A substituição dos açúcares por edulcorantes permite produzir alimentos de baixa caloria, com “doçura normal” [2]. Alguns dos edulcorantes mais utilizados no Brasil são: ciclamato, sacarina, aspartame e esteviosídeo [3,4].

Os adoçantes são usados em dietas que atendem às necessidades de pessoas que têm restrição à ingestão de sacarose, frutose e glicose, como os obesos e, principalmente, os diabéticos [1-5].

O excessivo volume de açúcar consumido atualmente vem provocando vários problemas de saúde, entre os quais se destacam as cáries dentárias e a obesidade e, desta forma, os adoçantes vêm ganhando **importância social e econômica** [5-7].

Em função desses aspectos, muitos estudos vêm sendo realizados, nos últimos 50 anos, para encontrar substitutos para os açúcares [6]. Nesse contexto, métodos analíticos têm sido empregados para avaliar a qualidade de produtos com adoçantes. Como exemplo, pode-se citar a monitoração da degradação do aspartame em sucos e refrigerantes [8], a determinação de contaminantes como metanol [9] e anilina [10], em bebidas com aspartame e ciclamato, respectivamente, entre outros. Por outro lado, são raros os trabalhos que reportam a presença de espécies metálicas nesta matriz, seja como constituintes ou contaminantes.

É possível que espécies metálicas façam parte da constituição dos edulcorantes naturais, pois estes são extraídos de plantas [11,12] e, além disso, o processamento industrial dos mesmos, assim como o dos sintéticos, pode contaminar o produto final devido a fontes inerentes ao processo. Algumas rotas

sintéticas empregam reagentes inorgânicos e, além disso, as partes dos equipamentos, as quais entram em contato com produtos alimentícios são, geralmente, de aço inoxidável e, dependendo das propriedades do produto, como composição e pH, pode ocorrer migração de elementos como As, Cd, Fe, Ni, Pb e Se do aço para o adoçante [12]. Por esse motivo, a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) torna obrigatória a monitoração de contaminantes inorgânicos em todos os produtos alimentícios embalados e/ou processados [13].

Embora os adoçantes não sejam consumidos como alimentos, isto é, como fonte de nutrientes, o seu uso contínuo na dieta pode constituir uma fonte de espécies metálicas indesejadas, e este aspecto é mais relevante para os “tipos sólidos”, que são consumidos em quantidades mais elevadas. Nesse sentido, atenção especial deve ser dada aos elementos que não são essenciais e que tendem a se acumular no organismo, como As, Cd e Pb [12].

Considerando-se esses aspectos, estudou-se, no presente trabalho, a determinação de espécies metálicas em adoçantes dietéticos (líquidos e sólidos) empregando a técnica de ICP OES (espectrometria de emissão óptica em plasma com acoplamento indutivo) e realizou-se uma caracterização inorgânica deste tipo de amostra.

A técnica de ICP OES se mostrou adequada para esta proposta por constituir uma técnica multielementar, que permite determinar em uma mesma alíquota de amostra espécies em altas e baixas concentrações e, em alguns casos, empregar a amostra na forma de suspensão e/ou sem realizar uma etapa de mineralização [14]. Essas características facilitam o trabalho analítico, de uma maneira geral e tornam o método estudado adequado para estudos de aplicação.

1.1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1.1. *Classificação dos edulcorantes*

Os edulcorantes, ou substâncias adoçantes, podem ser sintéticos ou naturais, sendo estes últimos obtidos de extratos vegetais. Em geral, apresentam doçura superior à da sacarose (dissacarídeo extraído da cana de açúcar, composto por uma unidade de glucose e uma de frutose [15]) e, por isso, quando empregados como aditivos em alimentos, são utilizados em quantidades pequenas. Conseqüentemente, os adoçantes não contribuem significativamente para o valor calórico dos alimentos que os levam em sua composição.

Os adoçantes são considerados sob dois aspectos: (i) o poder de doçura, que é um parâmetro que compara o sabor do adoçante com o da sacarose, e (ii) a qualidade do sabor, como tempo de duração e surgimento de sabores secundários (em geral, amargos) [11,15].

De acordo com esses aspectos e propriedades fisiológicas, os adoçantes são classificados em dois grupos principais, o dos **polióis** e o dos **adoçantes intensos** [16].

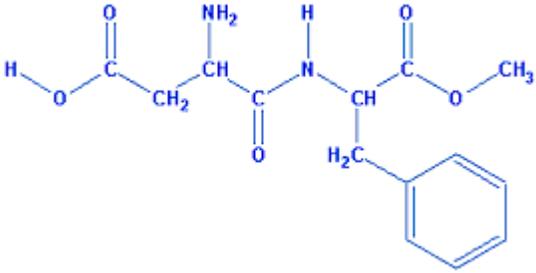
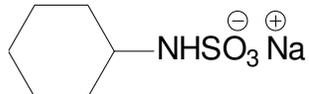
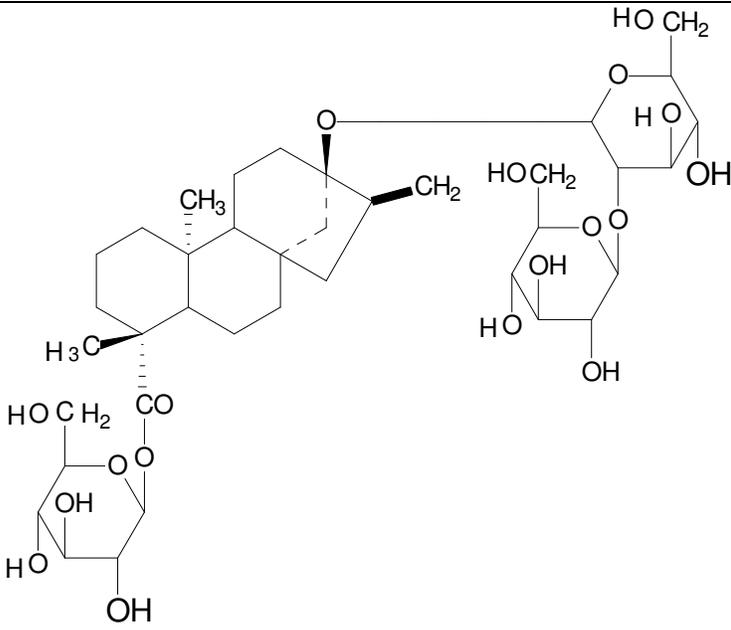
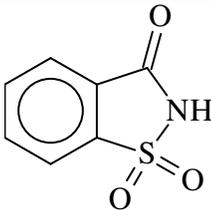
Os polióis, ou adoçantes nutritivos, são obtidos pela hidrogenação catalítica dos sacarídeos correspondentes. O lactitol é um exemplo, sendo produzido a partir da lactose. Embora possam ser metabolizados, os polióis são menos suscetíveis à fermentação microbológica, são de difícil digestão e absorção pelos mamíferos. Por esta razão, o valor calórico desses adoçantes não é significativo [11,16].

Os adoçantes nutritivos são usados como substitutos para a sacarose ou glucose, em alimentos para diabéticos, e se destacam por terem o efeito de diminuir a incidência de cáries, não só por não sofrerem fermentação, mas devido a outras propriedades fisiológicas, como a de favorecer a regeneração do tecido dos dentes [5,6,11,16]. Os adoçantes nutritivos mais relevantes são a frutose, o sorbitol, o xilitol e o manitol [11].

Com relação ao grupo dos adoçantes intensos, este é composto pelos edulcorantes que têm doçura dezenas de vezes maior que a sacarose, e que são utilizados em concentrações muito baixas nos alimentos que os levam em sua formulação. Os principais adoçantes intensos são: sacarina e seus sais, ciclamato e seus sais, aspartame, acessulfame-K e neoesperidina-dihidrochalcona. Além destes, também fazem parte desta classe os adoçantes naturais *thaumatin*, *glycyrrhizin*, *monellin* e o esteviosídeo [16].

As estruturas moleculares dos edulcorantes abordados neste trabalho são mostradas na Tabela 1.

Tabela 1: Nomenclatura usual (a) e oficial (b), IUPAC, de alguns adoçantes [15].

Nome	Estrutura
(a) aspartame (b) éster 1-metila N-L- α -aspartil-L-fenilalanina	 <p>The structure shows the chemical structure of aspartame, which is a dipeptide derivative. It consists of an aspartic acid residue (left) and a phenylalanine residue (right) linked by a peptide bond. The aspartic acid part has a methyl ester group at the end of its side chain. The phenylalanine part has a benzene ring attached to its side chain.</p>
(a) ciclamato de sódio (b) ciclohexanossulfamato de sódio	 <p>The structure shows a cyclohexane ring attached to a sulfamate group, represented as $\text{NHSO}_3^- \text{Na}^+$.</p>
(a) esteviosídeo (b) β -D-glucopiranosila de (4 α)-13-[(2-O- β -D-glucopiranosyl- β -D-glucopiranosil)oxi]kauer-16-en-18-oato	 <p>The structure shows a complex glycoside molecule. It features a central diterpene core (steviol) with multiple methyl groups and a lactone ring. It is linked via an ester bond to a chain of three glucose units (glucopyranosyl groups) in their cyclic forms.</p>
(a) sacarina (b) 1,1-dióxido de 1,2-benzisotiazol-3(2H)-ona	 <p>The structure shows a benzene ring fused to a five-membered heterocyclic ring containing a nitrogen atom and a sulfur atom. The sulfur atom is double-bonded to two oxygen atoms, forming a sulfonamide-like structure.</p>

1.1.2. O uso de adoçantes: histórico e recentes avanços

Historicamente, dentre os adoçantes de maior importância, a sacarina e o ciclamato foram os primeiros a serem descobertos, em 1879 e em 1937, respectivamente [16].

A sacarina passou a ser usada como “adoçante de mesa” a partir de 1917, na América e Europa. Normalmente é empregada na forma de sais de sódio ou cálcio, que são mais solúveis que a forma ácida. Sua doçura é aproximadamente 300 vezes a da sacarose; entretanto, apresenta também um caráter amargo. Além disso, esta substância não é metabolizada e, por isso, não apresenta valor nutricional [15,16].

Com relação ao ciclamato, este veio a ser comercializado apenas em 1949, na forma de ciclamato de sódio. Porém, somente após o seu uso em conjunto com a sacarina, em bebidas refrigerantes, é que a sua comercialização se tornou mais significativa, em especial nos Estados Unidos [15,16]. Normalmente empregado na forma de sal de sódio, o ciclamato é solúvel em água, é 30 vezes mais doce que a sacarose e também apresenta um caráter amargo. Sua utilização em conjunto com a sacarina deve-se ao fato de que, em concentrações adequadas, ocorre uma supressão do caráter amargo de ambos os adoçantes [13]. Entretanto, o uso da sacarina e do ciclamato têm sido objeto de controvérsias, pois existem suspeitas de que podem aumentar a incidência de câncer, embora ainda não haja uma comprovação definitiva [15,17].

Ao mesmo tempo em que surgiram esses adoçantes, ocorreu a descoberta do esteviosídeo pela comunidade científica, embora o extrato de folhas de “estévia” remonte ao tempo dos indígenas guaranis [18].

O extrato de folhas da espécie botânica *Stévia rebaudiana* Bertoni, conhecida por estévia, é composto por glicosídeos terpênicos denominados genericamente de esteviosídeo [2].

A *Stévia rebaudiana* é cultivada com êxito no Japão, Coreia, Taiwan, China e também no Brasil [2,18] e, por isso, o esteviosídeo merece destaque entre os edulcorantes naturais.

Posteriormente, surgiram os adoçantes aspartame, descoberto em 1965, o acessulfame-K, descoberto em 1967, e a sucralose, descoberta na década de 70 [11]. Dentre estes, **o aspartame é um dos edulcorantes mais empregados**. É usado em bebidas, gelatinas, gomas de mascar e diretamente como adoçante para café, chá e sucos [2,19].

O aspartame é um dipeptídeo, derivado dos aminoácidos fenilalanina e ácido aspártico, e seu uso é tido como seguro embora um de seus produtos metabólicos seja o metanol. A quantidade de metanol produzida pela ingestão até mesmo de doses elevadas de aspartame é considerada atóxica e não apresenta riscos à saúde. Por outro lado, o aspartame tem um efeito tóxico para pessoas portadoras de uma deficiência genética denominada fenilcetonúria, que impossibilita o metabolismo da fenilalanina [2]. O aspartame tem um sabor similar ao da sacarose, sendo de 150 a 300 vezes mais doce. É solúvel em água e, embora possa ser utilizado em diversas formulações, não é adequado para usos que envolvem altas temperaturas, como em alimentos que são aquecidos [15].

Além do uso de adoçantes como substitutos para os açúcares, outras utilidades estão sendo descobertas, também no campo da saúde. Pesquisas recentes estão mostrando que alguns adoçantes apresentam propriedades terapêuticas muito vantajosas, como a de reduzir a incidência de cáries (caso do xilitol [5,6] e da sucralose [20]) e efeito anticarcinogênico (como a sucralose [20] e o esteviosídeo [21]). Logo, é previsível que muitos estudos sejam ainda realizados no sentido de investigar as propriedades químicas e fisiológicas de substâncias adoçantes e, se houver comprovação efetiva de outros benefícios, **o consumo de adoçantes pode aumentar**. Neste contexto, métodos analíticos que possibilitem avaliar a qualidade dessas substâncias e/ou de produtos que utilizem essas substâncias tornam-se bastante importantes.

1.1.3. A química analítica e o controle de qualidade de edulcorantes e adoçantes

Na literatura, são reportados vários métodos para determinar edulcorantes em produtos *light* ou *diet*. Em geral, são utilizadas técnicas espectrofotométricas, eletroanalíticas e, principalmente, cromatográficas [22-32].

Métodos cromatográficos são usados na determinação isolada ou simultânea de edulcorantes em: refrigerantes, sucos de frutas, adoçantes dietéticos e extratos naturais [22-26,32].

Os métodos eletroquímicos também podem ser empregados para essas análises [31,32], principalmente quando o interesse é a determinação de ciclamato [31] ou de esteviosídeo [32].

A determinação de ciclamato por cromatografia com detecção por absorção no ultravioleta apresenta baixa sensibilidade [22,31], pois o mesmo não apresenta grupos químicos que absorvem nessa região. Desta forma, quando se necessita determinar ciclamato juntamente com outro edulcorante é necessário utilizar dois detectores (um de absorção e um de condutividade iônica [22]), ou, realizar a derivatização desse analito [22,31].

Em relação à determinação de esteviosídeo, Liu e col. [32] propuseram um método com eletroforese capilar, alternativamente à cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Com a eletroforese capilar foi necessária uma menor quantidade de amostra e o fato de não se empregar uma coluna de separação, necessária para a análise por CLAE, minimizou interferências causadas pela contaminação da coluna por impurezas presentes no extrato da estévia.

Além disso, os métodos cromatográficos de análise também têm sido utilizados para determinar e quantificar espécies contaminantes em adoçantes [33] e em produtos nos quais os contaminantes são decorrentes dos edulcorantes empregados em sua formulação [8,9].

Por outro lado, **são raros os trabalhos que consideram a presença de espécies metálicas em adoçantes dietéticos** [34], seja como constituintes ou contaminantes.

1.1.4. Espectrometria de emissão óptica em plasma de argônio com acoplamento indutivo

A espectrometria de emissão em plasma é uma técnica de análise multielementar sequencial/simultânea que se baseia nas observações de emissões de radiação dos elementos constituintes da amostra, em um plasma, geralmente de argônio. O equipamento correspondente é um espectrômetro de emissão óptica em plasma com acoplamento indutivo e constitui-se, basicamente, de um gerador de rádio frequência, um sistema para introdução da amostra, uma tocha, um sistema de gás argônio, um sistema óptico para o processamento do sinal analítico e um sistema computacional para o controle do equipamento [14,35].

O gerador de rádio-freqüência (RF) é um dispositivo elétrico empregado como fonte de potência e tem a função de sustentar o plasma [14,35].

O sistema de nebulização é composto, em geral, por um nebulizador e uma câmara de nebulização. O nebulizador produz um aerossol da amostra, que é conduzido ao plasma pela câmara, a qual favorece a introdução apenas das gotas de menor volume [14,35].

A tocha é um dispositivo de quartzo onde se forma o plasma. Conforme ilustrado na Figura 1, é constituída por três tubos concêntricos por onde passam os fluxos do argônio principal, auxiliar e nebulizador. O fluxo do argônio principal é responsável pela manutenção do plasma e proteção das paredes da tocha contra a fusão; o fluxo nebulizador introduz a amostra no plasma e o fluxo auxiliar tem a função de direcionar o aerossol da amostra para dentro do plasma [14,35].

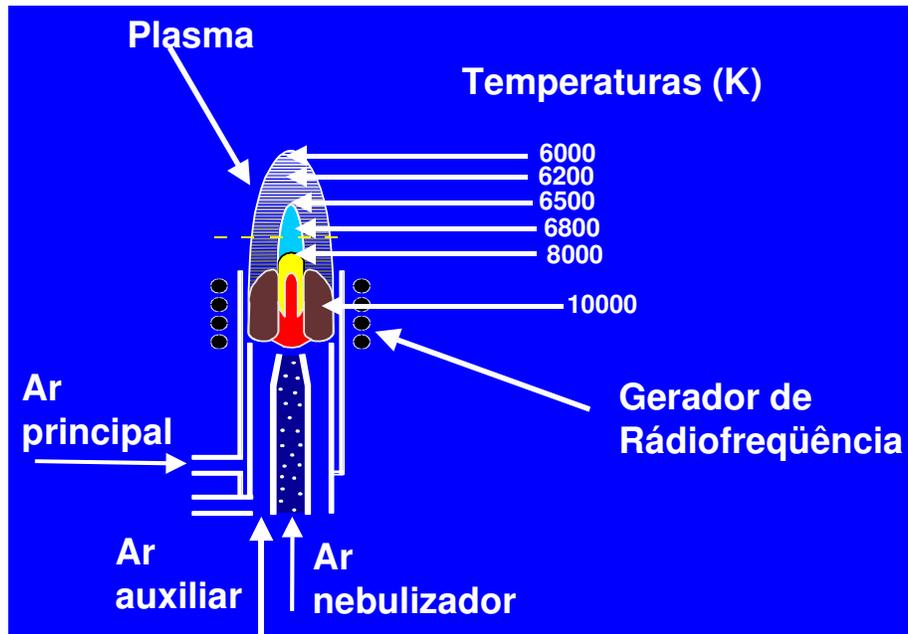


Figura 1: Tocha de quartzo e o gradiente de temperatura no plasma [14].

Entre as partes constituintes do espectrômetro, a mais complexa é o sistema óptico. Existem dois tipos de sistemas: um para medidas seqüenciais do sinal e outro para medidas simultâneas, e a obtenção do sinal pode ser realizada de duas formas: na configuração radial ou axial da tocha [14].

Quanto aos modos de observação da radiação emitida pelo plasma, existem instrumentos que fazem a leitura do sinal apenas em uma das configurações, e instrumentos com “visão dual”, que realizam medidas em ambas as configurações. Na configuração radial são captadas as emissões que ocorrem no raio da tocha, em uma dada altura de observação, enquanto as emissões que ocorrem no eixo da tocha são captadas na configuração axial. Os instrumentos que fazem a leitura do sinal apenas em uma das configurações operam de maneira seqüencial ou simultânea, enquanto os instrumentos de visão dual operam de maneira seqüencial e simultânea, em relação ao modo de observação do sinal e à realização da leitura [14]. A Figura 2 apresenta uma ilustração para o sistema de visão dual referente ao equipamento utilizado nesse trabalho.

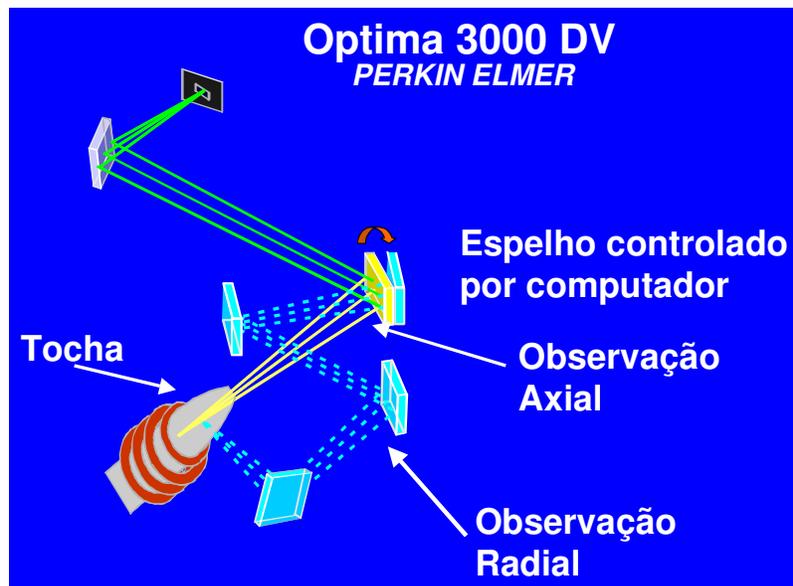


Figura 2: Sistema de detecção para a leitura do sinal analítico nos modos de observação axial e radial em um instrumento de visão dual [14].

As diferenças entre as configurações radial e axial, além da posição de observação do sinal, em relação à tocha, são: o comprimento da região do plasma que é observada e o desempenho analítico [13,14].

Na configuração axial toda a região ao longo do eixo do plasma é observada; obtém-se, em geral, maior sensibilidade e limites de detecção melhores [14,36]. Entretanto, o uso dessa configuração é mais suscetível a interferências, devidas aos processos de auto-absorção e recombinação que ocorrem na extremidade do plasma [36]. Nos instrumentos comercialmente disponíveis existe um recurso para eliminar a região mais fria do plasma. Trata-se de uma interface gasosa, de N_2 ou Ar, que pode ser posicionada a 90° (chamada de *shear-gas*) ou 180° (chamada *end-on-gas*) em relação à tocha. Mas, essas interfaces possibilitam minimizar e não eliminar as interferências [36,37].

Atualmente, existem aplicações para a técnica de ICP OES em praticamente todas as áreas de análise química (amostras geológicas, agronômicas, biológicas, águas, cosméticos, polímeros, aço, entre outros) [36,37]. Seu sucesso deve-se à capacidade multielementar, rapidez analítica e

simplicidade de operação, razões pelas quais muitos laboratórios de análise estão equipados com um instrumento de emissão óptica [14,36].

1.1.5. Propriedades das espécies determinadas nas amostras

Foi selecionado um conjunto de 14 espécies (As, Cd, Ca, Co, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, Pb, Se e Zn) para serem determinadas nas amostras de adoçantes dietéticos.

Dentre elas algumas são possíveis constituintes, como K, Na e Ca [11,15,16], enquanto as demais seriam aditivos ou contaminantes.

As principais propriedades dessas espécies estão resumidas a seguir:

- Arsênio: Considerado tóxico, seu efeito depende da forma e do estado de oxidação. As formas inorgânicas são as mais tóxicas e, entre estas, o As(III) é a mais relevante. No organismo humano o As pode se acumular no cabelo, fígado, rins, ossos e pele. A contaminação por esse elemento causa distúrbios enzimáticos, hepáticos e alguns tipos de câncer [12,38].

- Cádmio: É uma espécie não essencial, tóxica e que tende a se acumular nos rins e fígado. Seu efeito tóxico está ligado a uma possível competição com o Zn, em processos enzimáticos, e à inibição da absorção de Cu [12,38].

- Cálcio: É um elemento essencial, necessário para o crescimento e desenvolvimento do esqueleto e dentes. Está envolvido em vários processos metabólicos como a coagulação sanguínea e a contração muscular. Entretanto, a ingestão elevada de Ca pode levar à calcificação excessiva dos ossos e de tecidos moles como os rins [38].

- Chumbo: Potencialmente tóxico, é um elemento bioacumulativo e que causa problemas de saúde de vários tipos. Provoca disfunções metabólicas principalmente no sistema nervoso e nos rins [12,38].

- Cobre: É um elemento essencial ao nível de traços (micronutriente). Participa da síntese da hemoglobina, elastina e colágeno. No organismo humano tende a se acumular no fígado, causando náuseas e vômitos (doença de Wilson) e, dependendo do caso, problemas cardíaco-respiratórios [12,38].

- Cobalto: Assim como o Cu, o Co é um micronutriente e, na natureza, pode estar associado ao próprio Cu, Ni ou Pb. É um constituinte da vitamina B₁₂. O seu excesso favorece o aparecimento de lesões cardíacas e doenças na tireóide [38].

- Ferro: É um micronutriente que atua principalmente na formação da hemoglobina, de enzimas como as citocromo oxidases, envolvidas na produção de energia (ATP). É metabolizado na presença de cobre. O Fe e seus compostos não são considerados tóxicos, mas o seu excesso pode levar a distúrbios gastro-intestinais e causar fraqueza [38].

- Magnésio: É um elemento essencial e participa de vários processos bioquímicos e fisiológicos, como o metabolismo da glicose, síntese de proteínas, atividade e transmissão neuromuscular [38].

- Manganês: Também é considerado um micronutriente, atua como cofator de várias enzimas, sendo necessário para a síntese de mucopolissacarídeos (relacionados com a produção de polissacarídeos e glicoproteínas). A deficiência de manganês inibe a síntese do colesterol e pode causar infertilidade. Além disso, tanto o excesso quanto a sua carência pode afetar o cérebro [38].

- Níquel: É um elemento que está sendo considerado essencial, como um micronutriente. O Ni circula na corrente sanguínea ligado à proteína

niqueloplasmina, embora ainda não se saiba a função desta. A intoxicação por Ni, entretanto, pode causar câncer de pulmão e nos seios da face [38].

- Potássio: É um elemento essencial e constitui o principal cátion do líquido intracelular. Regula a pressão osmótica e a transmissão de impulsos nervosos [38].

- Selênio: É considerado um micronutriente desde 1957. Está associado às funções antioxidantes naturais do organismo humano, combatendo os radicais livres, embora de uma maneira ainda não esclarecida [38].

- Sódio: Assim como o Ca, Mg e K, o sódio é um elemento essencial na dieta humana. O íon Na^+ é o principal cátion do líquido extracelular e juntamente com o potássio participa da transmissão dos estímulos nervosos. É considerado um macronutriente da dieta, mas o seu excesso provoca aumento da pressão arterial, retenção de líquidos e favorece o hipertiroidismo [38].

- Zinco: É um micronutriente que compõe várias enzimas, como a anidrase carbônica, fosfatase-alcalina, desidrogenases e peptidases; é necessário para a síntese de RNA e para o desenvolvimento do esqueleto [38].

2. OBJETIVOS

O objetivo geral deste trabalho é o desenvolvimento de métodos para determinar, por ICP OES, espécies metálicas, As e Se em adoçantes dietéticos líquidos e sólidos.

Para isto, os seguintes aspectos são considerados:

a- Avaliação da possibilidade de introduzir no plasma amostras de adoçantes dietéticos sem empregar uma etapa de mineralização (análise direta);

b- Estudar os parâmetros instrumentais mais importantes (potência do plasma, vazão de nebulização, vazão do gás auxiliar e comprimentos de onda) para a obtenção de condições experimentais otimizadas;

c- Comparar o desempenho da técnica de ICP OES com o de outras técnicas para a análise de adoçantes dietéticos;

d- Realizar uma caracterização inorgânica de alguns adoçantes comerciais utilizando os métodos estudados.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1. Instrumentação

3.1.1. Análises por espectrometria de emissão óptica em plasma com acoplamento indutivo (ICP OES)

As análises por ICP OES foram realizadas em um equipamento Perkin-Elmer, modelo Optima 3000 DV, com visão dual (configurações de tocha axial e radial), equipado com uma fonte de rádio frequência (RF) de 40 MHz, um detector multielementar simultâneo de estado sólido do tipo SCD (Segmented Array Charge-coupled Detector), uma bomba peristáltica, câmara de nebulização duplo-passo do tipo “Scott”, um nebulizador de fluxo cruzado (*cross-flow*) e tubo injetor de cerâmica com 2,0 mm de diâmetro interno. No modo de observação axial o gás de purga (N₂) foi usado perpendicularmente ao plasma (shear-gas), de modo a remover a região de menor temperatura. O sistema é totalmente controlado por computador, com o software “PE Winlab”. Como gás do plasma foi utilizado o argônio, com pureza de 99,996 % (White Martins, SP, Brasil), mas também pode ser utilizado o argônio comercial sem diferença nos resultados obtidos. As condições experimentais de operação do equipamento de ICP OES estão descritas nas Tabelas 2 e 3.

Tabela 2: Condições experimentais utilizadas no equipamento de ICP OES.

Potência de RF (W)	1000 - 1500 (1300: valor ótimo)
Vazão de nebulização (L min ⁻¹)	0,4 - 1,0 (valores ótimos: 0,8 para adoçantes líquidos com aspartame e 0,6 para os demais adoçantes)
Vazão do argônio auxiliar (L min ⁻¹)	0,3 - 1,0 (valores ótimos: 0,5 para adoçantes líquidos com aspartame e 0,6 para os demais adoçantes)
Vazão do argônio principal (L min ⁻¹)	15
Vazão de bombeamento (mL min ⁻¹)	1,0
Correção de fundo	2 pontos
Tempo de integração (s) e de leitura (s)	1-5; 30
Número de replicatas	3
Padrões Internos	Y* (II 371,030) e Sc** (II 361,383)
Configuração da tocha	Axial
Elementos (λ /nm)	As (I 193,696 ^{a, cs, e}), Ca (II 317,933 ^{a, cs, e}), Cd (II 214,438 ^{a, cs}), Cd (I 228,802 ^e), Co (II 228,616 ^{a, cs, e}), Cu (I 327,396 ^{a, cs}), Cu (II 224,700 ^e), Fe (II 238,204 ^{a, cs, e}), K (I 766,431 ^a), Mg (I 285,208), Mg (II 279,553 ^{cs}), Mg (II 280,270 ^{a, e}), Mn (II 257,610 ^{a, cs, e}), Na (I 589,539 ^a), Ni (I 232,003 ^{a, cs, e}), Pb (II 220,353 ^{a, cs, e}), Se (I 196,026 ^{a, cs, e}), Zn (I 213,856 ^{a, cs, e})

(*) Elemento utilizado como padrão interno a 1 mg L⁻¹ nas análises dos adoçantes líquidos à base de aspartame (para As, Ca, Co, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, Pb, Se e Zn), esteviosídeo e ciclamato/sacarina (para As, Ca, Cd, Co, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, Pb, Zn).

(**) Elemento utilizado como padrão interno a 1 mg L⁻¹ nas análises dos adoçantes líquidos à base de ciclamato/sacarina (para Se) e aspartame (para Cd).

(a) Comprimento de onda empregado nas análises dos adoçantes líquidos à base de aspartame.

(cs) Comprimento de onda empregado nas análises dos adoçantes líquidos à base de ciclamato/sacarina.

(e) Comprimento de onda empregado nas análises dos adoçantes líquidos à base de esteviosídeo.

(I) Linha de emissão atômica.

(II) Linha de emissão iônica.

Tabela 3: Comprimentos de onda e padronização interna empregados para a análise de adoçantes sólidos de diferentes tipos (à base de ciclamato/sacarina; esteviosídeo e aspartame).

Comprimentos de onda (nm)	As I: 193,696, Ca II: 317,933; Cd I: 228,802, Co II: 228,616, Cu I: 327,390; Fe II: 238,204; Mg II: 280,270; Mn II: 257,610; Na I: 330,237, Ni II: 232,000; Pb II: 220,353; Se I: 196,026; Zn I: 213,856
Padrão interno (1 mg L ⁻¹)	Y* II: 371,03

(*) Elemento utilizado como padrão interno a 1 mg L⁻¹ nas análises dos adoçantes sólidos (para Ca, Co, Fe, Mg, Mn, Ni e Zn).

(I) Linha de emissão atômica.

(II) Linha de emissão iônica.

3.1.2. Análises por espectrometria de massas com fonte de plasma (ICP-MS)

Adoçantes líquidos à base de aspartame também foram analisados por ICP-MS. Neste caso empregou-se um equipamento da Perkin-Elmer Sciex, modelo ELAN 6000. Para a introdução da amostra, na forma de solução aquosa, foram utilizados dois sistemas: um de nebulização pneumática (nebulizador *cross-flow* acoplado em uma câmara de nebulização de duplo passo do tipo “Scott”) e um ultrassônico (nebulizador U-5000 AT+ (CETAC Technologies Inc., Omaha, NE, USA)); para ambos os sistemas foi utilizado um mesmo tubo injetor, de cerâmica e com 2,0 mm de diâmetro interno.

3.1.3. Análises por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS)

Algumas medidas analíticas foram realizadas empregando-se a técnica de Espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS), visando a determinação de Se em amostras de adoçantes líquidos. Para isto utilizou-se um

espectrômetro de absorção atômica com forno de grafite da Perkin-Elmer (modelo AAnalyst 600), equipado com corretor de fundo Zeeman longitudinal, amostrador automático (modelo AS-800), tubo de grafite padrão com plataforma de L'vov integrada e aquecimento transversal (THGA). Como fonte de radiação foi utilizada uma lâmpada de descarga sem eletrodo (EDL) para a determinação de Se ($\lambda=196,0$ nm; $i= 290$ mA). As medidas foram realizadas em unidades de absorbância integrada (integração do sinal transiente de absorbância em função do tempo).

3.2. Limpeza de materiais e reagentes

Os materiais (balões volumétricos, béqueres, pipetas, frascos de plástico, etc.) foram limpos antes de sua utilização, deixados em banho de HNO_3 10 % (v/v) por 12 h, no mínimo, e, em seguida, enxaguados com água desionizada pelo sistema Milli-Q (Milipore, Bedford, MA, EUA), apresentando condutividade inferior a $18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}$.

Soluções-estoque dos analitos, na concentração de 1000 mg L^{-1} em HNO_3 2 % v/v, foram preparadas usando-se HNO_3 concentrado (Carlo Erba, PA) e água desionizada. A partir dessas soluções foram preparados padrões multielementares a 0,3 % (v/v) de HNO_3 para construir as curvas analíticas.

Para os procedimentos de mineralização foram usados o ácido nítrico concentrado (em alguns casos, após destilação) e peróxido de hidrogênio 30 % (m/m), Carlo Erba e de grau analítico.

Para as análises por absorção atômica com forno de grafite soluções de modificadores químicos a 1000 mg L^{-1} de Pd e $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ foram preparadas, respectivamente, a partir de uma solução estoque de 10000 mg L^{-1} de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ em HNO_3 15 % v/v (Merck) e de $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ da ACros.

3.3. Amostras: tipos, aquisição e preparo

Foram utilizadas amostras de adoçantes dietéticos líquidos e sólidos, de tipos diferentes: à base de ciclamato/sacarina, esteviosídeo e aspartame. As amostras foram adquiridas no mercado varejista, em Campinas, sendo obtidas amostras de marcas diferentes e designadas, neste trabalho, por letras (como “A”, “B”, “C”, ...). De acordo a viabilidade de se conseguir amostras de outros países, obteve-se também algumas amostras trazidas do exterior.

As amostras de adoçantes líquidos à base de ciclamato, sacarina e esteviosídeo foram diluídas na proporção de 9:1 em ácido nítrico 2 % (v/v). Os adoçantes líquidos à base de aspartame foram mineralizados, conforme descrito no *ítem 3.4.4*. E, para os adoçantes sólidos foi preparada uma suspensão aquosa, misturando-se 1 g de amostra com 25 mL de ácido nítrico 0,3 % (v/v).

3.4. Análise de adoçantes líquidos

3.4.1. Método I: otimização dos parâmetros instrumentais para a análise de adoçantes líquidos à base de ciclamato/sacarina por ICP OES

Prepararam-se duas soluções de estudo, de amostras à base de ciclamato/sacarina e de marcas diferentes, designadas “A” e “B”. Para isto, adicionou-se 0,25 mg de Mg e de Mn em 25 mL de amostra e as soluções enriquecidas foram analisadas em diferentes condições instrumentais. Os parâmetros otimizados foram: potência do plasma, vazão do gás de nebulização da amostra, vazão do gás auxiliar, comprimentos de onda e padrões internos. Nesta etapa, dois parâmetros analíticos foram monitorados: a robustez do plasma e a razão sinal/fundo para o elemento Mn.

A robustez do plasma foi determinada pela razão das intensidades de emissão para as linhas iônica (280,270 nm) e atômica (285,213 nm) do Mg [39].

A razão sinal/fundo para o Mn foi calculada dividindo-se a intensidade de emissão do Mn, na amostra, pelo sinal do branco (HNO_3 0,3 % v/v).

A condição selecionada como ótima foi aquela que se apresentou robusta, com a maior razão sinal/fundo e que conferiu uma boa exatidão, avaliada empregando-se experimentos de adição e recuperação de analitos, em dois níveis de concentração.

3.4.2. Método II: Adaptação do Método I para a análise de adoçantes líquidos à base de esteviosídeo por ICP OES

O desempenho do método I foi avaliado para a análise de adoçantes líquidos à base de esteviosídeo. Em princípio, empregaram-se as mesmas condições instrumentais otimizadas para as amostras com ciclamato e sacarina e, nestas condições, duas marcas de adoçantes à base de esteviosídeo (“A_e” e “B_e”) foram analisadas. Neste caso, a exatidão do método também foi avaliada por meio de experimentos de adição e recuperação de analitos, em dois níveis de concentração e, em função dos resultados, alguns comprimentos de onda foram selecionados apenas para este tipo de amostra.

3.4.3. Figuras de mérito e aplicação analítica: análise de um conjunto de adoçantes líquidos à base de ciclamato/sacarina e de esteviosídeo por ICP OES

Empregando-se os comprimentos de onda apresentados na Tabela 2 e os parâmetros experimentais otimizadas (potência do plasma de 1300 W, vazão do gás de nebulização de 0,6 L min⁻¹, vazão do gás auxiliar de 0,6 L min⁻¹ e os padrões internos Y e Sc a 1 mg L⁻¹), calcularam-se os limites de detecção e quantificação e analisaram-se 22 adoçantes de marcas diferentes, 15 à base de ciclamato/sacarina e 7 adoçantes à base de esteviosídeo. Os resultados obtidos

para os dois tipos de adoçantes foram comparados e uma faixa de concentração foi calculada para as espécies que foram encontradas.

3.4.4 . Análise de adoçantes líquidos à base de aspartame

3.4.4.1. Análise de adoçantes à base de aspartame por ICP OES

Duas marcas de adoçantes líquidos à base de aspartame, designadas “A_a” e “B_a” foram utilizadas.

Para o preparo das amostras **empregando-se simples diluição** foram avaliadas substâncias compatíveis com a técnica de ICP OES e que podem ser utilizadas com essa finalidade: ácido nítrico diluído, acetona, ácido acético, etanol, dimetilformamida, hidróxido de tetrametilamônio e CFAC[®] (mistura comercial que contém trietanolamina e trietilenotetramina).

Cada uma destas substâncias foi avaliada separadamente, na forma de uma solução a 50 % (v/v) em água desionizada e adicionadas às amostras de forma que a solução final ficasse com pelo menos 30 % (v/v) de amostra.

Posteriormente, foi necessário estudar um **procedimento de mineralização**, no qual empregando-se ácido nítrico, peróxido de hidrogênio e aquecimento em chapa.

O procedimento de mineralização foi otimizado para 1 g de amostra e consistiu no aquecimento, a 80 – 100 °C, da mistura da amostra com 10 mL de HNO₃ concentrado e 8 mL de H₂O₂ 30 % (m/m). A mistura obtida foi aquecida até que ficasse límpida e, em seguida, até a evaporação do ácido residual. Essa etapa levou aproximadamente 4 h e, por fim, a amostra foi retomada em 25 mL de água desionizada.

Para a análise, no equipamento de ICP, foram empregados parâmetros instrumentais recomendados para amostras aquosas (potência do plasma de 1300 W, 0,8 L min⁻¹ de vazão de nebulização de amostra e 0,5 L min⁻¹ de vazão de gás auxiliar) [14] e os comprimentos de onda e os padrões internos (ítrio e

escândio) usados foram selecionados, experimentalmente, para que se obtivesse uma boa exatidão. As condições instrumentais utilizadas para a análise de adoçantes líquidos à base de aspartame estão resumidas na Tabela 2.

3.4.4.2. Análise de adoçantes à base de aspartame por ICP-MS

As amostras foram mineralizadas em meio ácido, como descrito no item 3.4.4.1, mas empregando-se ácido bidestilado. Os parâmetros instrumentais do equipamento de ICP-MS foram ajustados por meio do teste de desempenho “Daily performance”. As condições instrumentais empregadas nas análises por ICP-MS são apresentadas na Tabela 4.

Tabela 4: Condições instrumentais para a análise de adoçantes líquidos à base de aspartame por ICP-MS.

Vazão de bombeamento (mL min ⁻¹)	1,5
Potência de radio-frequência (W)	1000
Vazão do argônio principal (L min ⁻¹)	15
Vazão do argônio auxiliar (L min ⁻¹)	1,13
Vazão do gás de nebulização da amostra (L min ⁻¹)	1,04
Replicatas	3
Isótopos	⁶³ Cu, ⁵⁵ Mn, ⁵⁹ Co, ⁵⁸ Ni, ²⁰⁸ Pb, ¹¹⁴ Cd, ⁷⁵ As

Nesse caso a exatidão do método também foi avaliada por meio de experimentos de adição e recuperação de analitos: em um (para a amostra A_a) e dois (para a amostra D_a) níveis de concentração. Em seguida, outras duas amostras foram analisadas (B_a e C_a) e os teores das espécies encontradas nas quatro amostras foram comparados.

3.4.5. Análise de adoçantes líquidos por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite

A técnica de GF AAS foi utilizada para determinar Se em adoçantes líquidos, com ênfase naqueles à base de ciclamato/sacarina e esteviosídeo. Para isto, os parâmetros instrumentais mais importantes (temperatura de pirólise e de atomização, tempo de pirólise e uso de modificador químico, 5 µg Pd + 3 µg MgNO₃) foram otimizados empregando-se um planejamento fatorial 2⁴ (16 experimentos) e uma solução da amostra “B_e” (à base de ciclamato/sacarina e esteviosídeo) a 10 % v/v em água desionizada.

Os níveis dos parâmetros (variáveis) estudados são mostrados na Tabela 5 e as condições instrumentais na Tabela 6.

Tabela 5: Planejamento fatorial 2⁴ para a otimização de parâmetros instrumentais para a determinação de Se em adoçantes líquidos.

Variáveis	Nível(-)	Nível (+)
Temperatura de pirólise (°C)	1100	1300
Tempo de permanência na pirólise (s)	10	20
Temperatura de atomização (°C)	1800	1900
Uso de modificador químico (Pd/MgNO ₃)	sem	com

Tabela 6: Programa de aquecimento utilizado na determinação de Se em adoçantes líquidos.

Etapa	Temperatura (°C)	Tempo de rampa (s)	Tempo de permanência (s)	Vazão de Ar (mL min ⁻¹)
Secagem	110;130	1; 15	30; 30	250
Pirólise	900 - 1400	10	10 - 30	250
Atomização	1500 - 2100	0	3	0
Limpeza	2500	1	3	250

Nas condições otimizadas (temperaturas de pirólise e atomização de 1100 e 1900 °C, respectivamente; 10 s de permanência na pirólise e uso da mistura Pd/MgNO₃ como modificador químico) a exatidão das determinações foi avaliada por meio de experimentos de adição e recuperação de analito.

Empregando-se essas condições, 27 amostras de adoçantes líquidos foram analisadas (15 adoçantes à base de ciclamato/sacarina, 8 à base de esteviosídeo e 4 à base de aspartame), sendo que os adoçantes à base de aspartame foram analisados após a mineralização, conforme o procedimento que é descrito no item 3.4.4.

3.5. Análise de adoçantes sólidos à base de ciclamato/sacarina, esteviosídeo e aspartame por ICP OES

Três marcas diferentes de adoçantes sólidos, uma de cada tipo (à base de ciclamato/sacarina; esteviosídeo; aspartame), foram parcialmente dissolvidas em HNO₃ 0,3 % (v/v), obtendo-se suspensões que foram analisadas empregando-se os parâmetros instrumentais apresentados na Tabela 2 e os comprimentos de onda e a padronização interna mostrados na Tabela 3.

As suspensões das amostras foram preparadas misturando-se 1 g do adoçante sólido com aproximadamente 25 mL de HNO₃ 0,3 % (v/v) e foram analisadas imediatamente após agitação manual. Para essas amostras a exatidão das determinações foi avaliada por experimentos de adição e recuperação de analitos e também por meio de comparação de resultados obtidos com e sem uma etapa de mineralização. Além disso, durante as análises foi observado o comportamento dessas suspensões em relação a um possível entupimento do nebulizador e variação do sinal analítico (RSD) para os vários elementos de interesse.

3.6. Tratamento dos resíduos gerados

As soluções de amostras enriquecidas e os resíduos das soluções-padrão foram estocados em galões de polipropileno para que o tratamento e o descarte fossem feitos de uma única vez, ao término deste trabalho.

O procedimento utilizado é adotado em nosso laboratório (GEAtom) para tratar resíduos aquosos que contêm vários elementos metálicos e consiste em separá-los da fase aquosa, por precipitação controlada [40].

Os resíduos foram neutralizados com uma solução de NaOH 1 mol L⁻¹ e o pH foi mantido entre 7 – 8, até ocorrer a precipitação completa das espécies que formam hidróxidos nesta faixa de pH (Ca, Cd, Co, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, Pb, Zn). Os sais precipitados foram separados da fase aquosa por filtração comum, empregando-se papel de filtro qualitativo. A solução resultante foi acondicionada em pH 7, aproximadamente, com o auxílio de H₂SO₄ 1 mol L⁻¹ e a ela se adicionou uma solução de Na₂S (78 g L⁻¹). Nesta etapa, foram precipitados arsênio e selênio, na forma de sulfetos e que, por filtração, também foram retirados da fase aquosa.

Por fim, os resíduos sólidos obtidos foram mantidos nos respectivos papéis de filtro e enviados para o depósito de resíduos sólidos do Instituto de Química da UNICAMP. A solução residual, contendo Na₂S foi tratada com solução de NaOCl (5,25 % m/m) para eliminar o sulfeto na forma de H₂S, que é volátil.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1. Análise de adoçantes líquidos à base de ciclamato, sacarina e esteviosídeo

4.1.1. Método I: otimização dos parâmetros instrumentais para análise de adoçantes líquidos à base de ciclamato/sacarina por ICP OES

A otimização dos parâmetros instrumentais em ICP OES, levando-se em conta a robustez do plasma, tem sido utilizada e estudada por diversos grupos de pesquisa na área de espectrometria atômica [36,39,41,42] e também o foi neste trabalho.

Um plasma robusto é aquele em que os processos de atomização-excitação são favorecidos. Esta situação ocorre quando o equilíbrio termodinâmico local é atingido e os processos de transferência de energia, no plasma, ocorrem com maior facilidade. Conseqüentemente, ao empregar um plasma robusto, a decomposição de amostras orgânicas é mais eficiente e alguns efeitos de matriz podem ser minimizados, especialmente as interferências dos elementos facilmente ionizáveis, como Na, K e Ca [36].

O parâmetro robustez é dado pela razão de emissão das linhas iônica (280,270 nm) e atômica (285,213 nm) do Mg [39], sendo que um plasma robusto apresenta uma razão Mg II/Mg I maior do que 10 [36,43].

Neste trabalho, os parâmetros instrumentais foram otimizados buscando-se, a princípio, as condições que apresentassem a maior robustez. Primeiramente, **avaliou-se a vazão de nebulização da amostra** e, para isto, fixou-se a potência do plasma em 1300 W e variou-se a vazão de nebulização. Os resultados obtidos são apresentados na Figura 3.

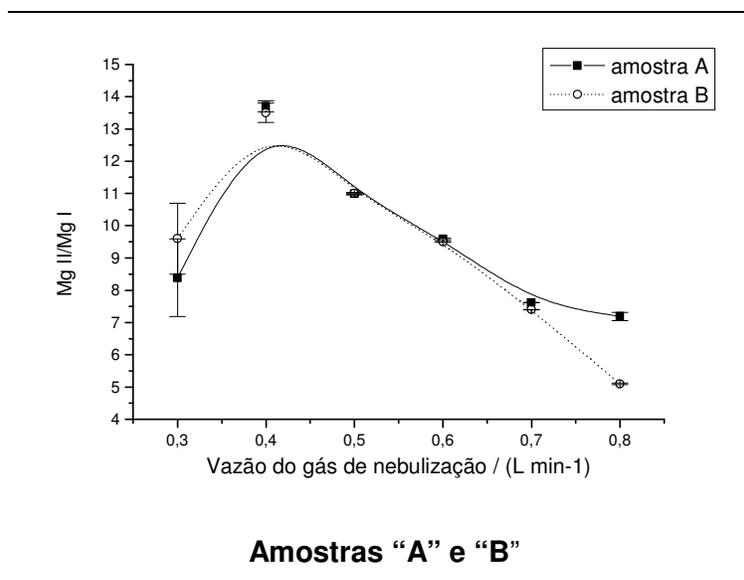


Figura 3: Razões Mg II/Mg I obtidas para as amostras “A” e “B” de adoçantes líquidos à base de ciclamato/sacarina. Condições operacionais: potência do plasma: 1300 W, vazão do gás de nebulização: 0,3 – 0,8 L min⁻¹ e vazão do gás auxiliar: 0,5 L min⁻¹.

Na Figura 3, os gráficos da razão Mg II/Mg I em função da vazão de nebulização mostraram o mesmo perfil para as amostras “A” e “B”. As condições de maior robustez foram obtidas quando as vazões de 0,4 ou 0,5 L min⁻¹ foram empregadas. Entre estas, a última foi considerada a mais adequada, para a qual o valor da robustez foi de 11 para ambas as amostras e os desvios padrão relativos apresentaram valores menores. Em 0,4 L min⁻¹ os RSDs ficaram próximos de 10 % enquanto em 0,5 L min⁻¹ os valores foram abaixo de 2 %.

Selecionando a vazão de nebulização em 0,5 L min⁻¹, **avaliou-se o efeito da potência do plasma**, que pôde ser variada de 1500 a 1200 W, pois em 1100 W o plasma não se sustentou. Os resultados obtidos para ambas as amostras são apresentados na Figura 4-a, onde se nota que as razões Mg II/Mg I foram maiores que 10 para todas as potências avaliadas, ou seja, para qualquer uma dessas potências as condições do plasma foram robustas.

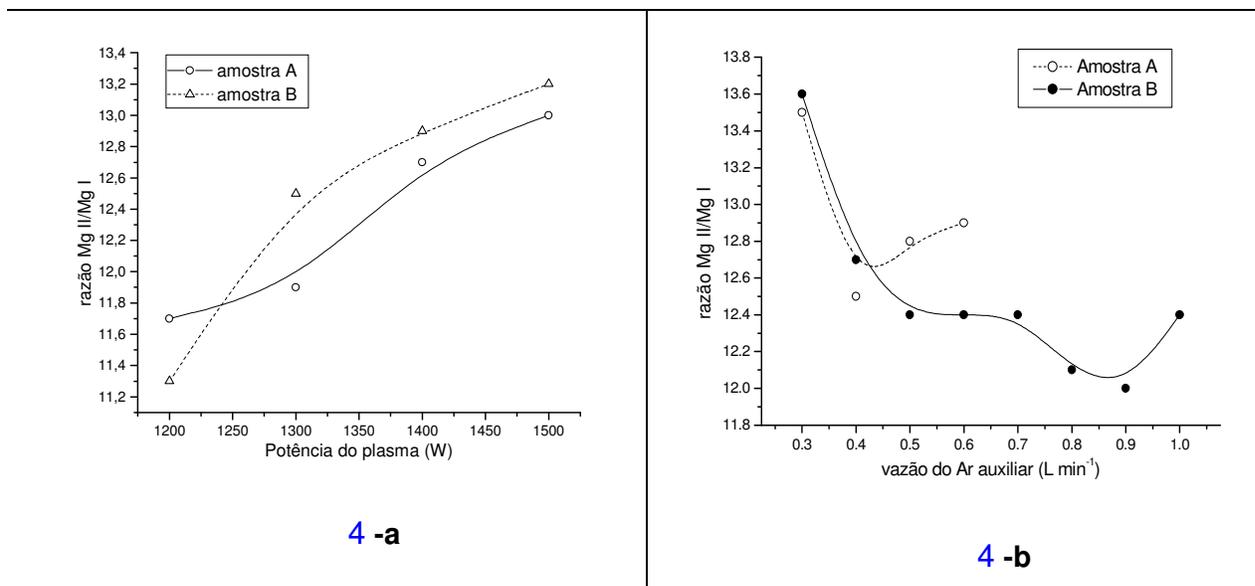


Figura 4: Razões Mg II/Mg I obtidas para as amostras “A” e “B”. (a) Condições operacionais: potência do plasma: 1200 - 1500 W, vazão de nebulização: $0,5 \text{ L min}^{-1}$ e vazão do gás auxiliar: $0,5 \text{ L min}^{-1}$. (b) Condições operacionais: vazão de nebulização: $0,5 \text{ L min}^{-1}$, potência do plasma: 1400 W e vazão do gás auxiliar: 0,3 - $1,0 \text{ L min}^{-1}$.

Na Figura 4-a, observa-se também que a maior robustez foi obtida nas potências de 1400 e 1500 W, sendo que nesta última as razões Mg II/Mg I foram semelhantes para as duas amostras utilizadas, com valores próximos de 13. Considerando-se que a potência de 1500 W é a potência limite do equipamento, a potência de 1400 W foi escolhida como a mais adequada.

Assim, empregando-se a potência de 1400 W e uma vazão de nebulização de $0,5 \text{ L min}^{-1}$, **avaliou-se a vazão do gás auxiliar**. Os resultados obtidos são mostrados na Figura 4 -b.

O gráfico da Figura 4 -b mostra que o efeito do gás auxiliar sobre a robustez do plasma foi um pouco diferente para as duas amostras. Para a amostra “A”, por exemplo, o plasma não se sustentou quando vazões acima de $0,6 \text{ L min}^{-1}$ foram empregadas. Por outro lado, dentre as vazões avaliadas o plasma se apresentou robusto para as vazões de $0,3 - 0,6 \text{ L min}^{-1}$, de $0,3$ a $0,6 \text{ L min}^{-1}$ no caso da amostra “A” e, para todas as vazões avaliadas, no caso da amostra “B”. Assim, para escolher uma vazão adequada para ambas as amostras, levou-se em consideração a faixa entre $0,3$ e $0,6 \text{ L min}^{-1}$. Observou-se que em $0,3 \text{ L min}^{-1}$

foram obtidas robustez maiores e RSDs abaixo de 1 %. Portanto, a vazão de $0,3 \text{ L min}^{-1}$ foi selecionada como a mais adequada. Em adição, não foi observado, nesse estudo, diferença significativa na precisão das medidas feitas nas diferentes condições (vazões do gás auxiliar).

Utilizando-se esses parâmetros, procedeu-se com um experimento de adição e recuperação de analitos, para avaliar a exatidão das determinações realizadas nas condições otimizadas.

Entretanto, as recuperações obtidas não foram quantitativas, variando de 72 a 124 %, sugerindo que, além da robustez, seria necessário avaliar outros parâmetros, como a razão sinal/fundo e a padronização interna.

Nesta etapa, os parâmetros em questão também foram avaliados de modo univariado. Esta escolha deve-se ao fato de que ao utilizar a otimização multivariada, em um trabalho anterior, visando a análise direta de leite bovino [43], a montagem da matriz de planejamento demandou mais trabalho do que o estudo univariado. Algumas combinações de parâmetros não puderam ser usadas, ou porque não eram possíveis, no “software” do equipamento, ou porque não produziam um plasma estável, impossibilitando a obtenção de um sinal analítico representativo em tal condição. Além disso, a otimização multivariada forneceu a mesma condição analítica indicada pelo método univariado.

Assim, baseando-se em um outro trabalho anterior com a análise direta de água de coco por ICP OES [44], o parâmetro potência foi avaliado observando-se também a razão sinal analítico/sinal de fundo (SBR) para o elemento Mn. Foram utilizadas as mesmas amostras “A” e “B”, previamente enriquecidas com esse elemento e a SBR foi calculada para as potências de 1200 a 1500 W. Neste estudo, empregaram-se os valores “pré-otimizados” da vazão de nebulização ($0,5 \text{ L min}^{-1}$) e do gás auxiliar ($0,3 \text{ L min}^{-1}$). Os resultados obtidos são apresentados na Figura 5.

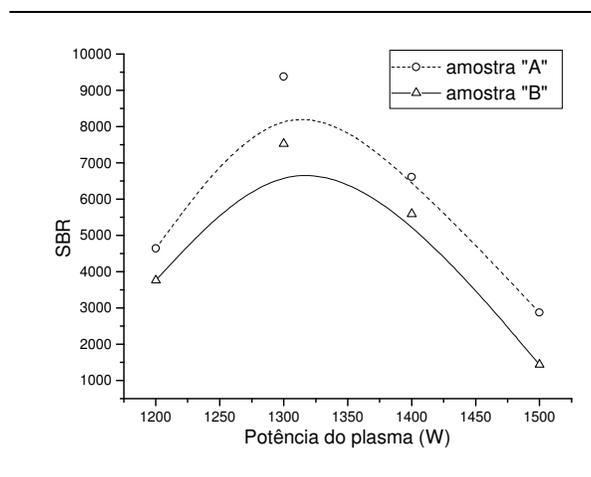


Figura 5: Razão sinal/fundo (SBR) para o Mn, em amostras de adoçantes líquidos à base de ciclamato/sacarina. Condições operacionais: potência do plasma (de 1200 a 1500 W), vazão de nebulização ($0,5 \text{ L min}^{-1}$) e vazão do gás auxiliar ($0,3 \text{ L min}^{-1}$).

Os valores de SBR obtidos mostraram que para as amostras “A” e “B” **a maior razão sinal/fundo ocorre na potência de 1300 W.**

Desta forma, reavaliou-se a vazão do gás auxiliar, cujo efeito havia sido um pouco diferente para cada uma das amostras (Figura 4–b).

Empregando-se a potência de 1300 W o perfil da robustez, nas diferentes vazões, foi semelhante ao obtido anteriormente; mas, o plasma se apresentou mais estável, pois mesmo para a amostra “A” foi possível sustentá-lo até a vazão de $0,7 \text{ L min}^{-1}$. Além disso, observou-se que para a vazão de $0,6 \text{ L min}^{-1}$ obteve-se a mesma robustez para as duas amostras, com valores de 11,9. Logo, este valor foi considerado apropriado.

Assim sendo, realizou-se um outro experimento de adição e recuperação de analitos para avaliar a exatidão das análises nesta “nova condição”. Mas, nessa condição também não foram obtidas recuperações quantitativas e outros ajustes foram experimentados considerando-se a natureza da amostra.

Como esses adoçantes contêm ciclamato e sacarina sódicos, decidiu-se utilizar vazões de nebulização um pouco mais altas. Elementos facilmente ionizáveis, como o Na, costumam interferir nos processos eletrônicos

de excitação das outras espécies [41]. Logo, aumentando-se a vazão de nebulização, diminui-se o tempo de residência da amostra no plasma e, conseqüentemente, as possíveis interferências causadas pelos processos de ionização.

Assim, a vazão de nebulização foi aumentada para $0,6 \text{ L min}^{-1}$ e os resultados deste experimento, também avaliado por meio de adição e recuperação de analitos apresentaram valores melhores do que os obtidos com o uso de $0,5 \text{ L min}^{-1}$ de vazão de nebulização. Houve um aumento nos valores de recuperação, mas essa melhora ainda não foi o suficiente, pois a média dos valores ficou em torno de 70 %.

Desta forma, a vazão de nebulização foi aumentada novamente, para $0,65 \text{ L min}^{-1}$, mas não houve melhoras nos resultados. Então, considerou-se adequado avaliar o efeito de padrões internos (PI), já que as amostras estavam sendo introduzidas diretamente no plasma e analisadas por meio de uma calibração externa, ou seja, utilizando-se padrões que poderiam se comportar de maneira diferente do que as amostras, principalmente durante a etapa de nebulização.

Os padrões internos avaliados foram o Y e o Sc, testados individualmente na concentração de 1 mg L^{-1} , segundo recomendações da literatura [44,45].

Nesse caso, as recuperações obtidas aumentaram significativamente para a maioria dos analitos. Foi utilizado Y como PI para todos os elementos, com exceção do Se, para o qual o Sc foi mais apropriado. Conforme mostram os resultados da Tabela 7, os valores de recuperação foram bons, na faixa de 90 – 110 % e os desvios padrão relativos (RSD) foram, em geral, menores que 5 %. Segundo Jenniss *et al.* [46] esta faixa de recuperação indica uma boa exatidão e, considerando-se a complexidade da amostra, o método também apresentou uma boa precisão.

Tabela 7: Valores de concentração, em mg L^{-1} , e recuperação, em %, para Se e espécies metálicas nos adoçantes líquidos "A_C" e "B_C", à base de ciclamato/sacarina, analisados em duplicata e usando Y e Sc (apenas para o Se) como padrões internos.

Espécie	Concentração original	Recuperação	
		0,10 mg	0,20 mg
<i>Massa adicionada*</i>		0,10 mg	0,20 mg
Ca	A: $4,00 \pm 0,03$	A: $98,6 \pm 0,8$	A: 95 ± 2
	B: $0,90 \pm 0,01$	B: 96 ± 1	B: 96 ± 1
Mg	A: $1,28 \pm 0,01$	A: $91,7 \pm 0,2$	A: $90,8 \pm 0,4$
	B: $27,1 \pm 0,1$	B: 105 ± 1	B: 96 ± 1
<i>Massa adicionada*</i>		0,002 mg	0,004 mg
Co	A: $< 0,007$	A: 104 ± 2	A: 102 ± 7
	B: $< 0,007$	B: 101 ± 5	B: 87 ± 3
Cu	A: $0,030 \pm 0,003$	A: 112 ± 3	A: 104 ± 3
	B: $0,270 \pm 0,004$	B: $110,3 \pm 0,7$	B: 110 ± 2
Fe	A: $< 0,005$	A: 106 ± 2	A: 104 ± 6
	B: $0,060 \pm 0,001$	B: 103 ± 5	B: 89 ± 3
Mn	A: $0,0050 \pm 0,0001$	A: $109,8 \pm 0,6$	A: $106,8 \pm 0,6$
	B: $0,020 \pm 0,001$	B: 104 ± 3	B: 96 ± 1
Ni	A: $< 0,037$	A: 111 ± 2	A: 107 ± 6
	B: $< 0,037$	B: 114 ± 4	B: 99 ± 3
Pb	A: $< 0,007$	A: $107,6 \pm 0,5$	A: 104 ± 8
	B: $< 0,007$	B: 108 ± 7	B: 90 ± 4
Se	A: $0,28 \pm 0,03$	A: 114 ± 2	A: 108 ± 1
	B: $0,30 \pm 0,01$	B: 104 ± 2	B: 120 ± 1
Zn	A: $0,030 \pm 0,001$	A: 109 ± 4	A: 105 ± 7
	B: $0,130 \pm 0,004$	B: 106 ± 5	B: 90 ± 3
<i>Massa adicionada*</i>		0,001 mg	0,002 mg
Cd	A: $0,013 \pm 0,001$	A: 109 ± 2	A: 106 ± 7
	B: $< 0,003$	B: 105 ± 5	B: 90 ± 3

(*) Quantidade de amostra: 5 mL

Portanto, o método de análise estudado pode ser usado para determinar Ca, Cd, Co, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, Pb, Se e Zn diretamente neste tipo de matriz. Por outro lado, **as espécies As, K e Na não puderam ser determinadas nestas condições.**

No caso do As não foi obtido sinal analítico, nem mesmo nas amostras dopadas, o que pode estar relacionado a interferências de fragmentos moleculares (provenientes do material orgânico presente nos adoçantes) que emitem próximo de 193,018 e 193,090 nm [47], aumentando o fundo na região espectral do As.

Para avaliar esta hipótese, as amostras em estudo foram mineralizadas com ácido nítrico e peróxido, em uma placa de aquecimento e, posteriormente, analisadas. O procedimento usado foi o mesmo empregado para as amostras de adoçantes líquidos com aspartame (descrito no *item 3.4.5.1*) e as amostras foram analisadas em condições instrumentais mais apropriadas para amostras aquosas (potência do plasma de 1300 W, vazão de nebulização da amostra de 0,8 L min⁻¹, vazão do gás auxiliar de 0,5 L min⁻¹) [14] e utilizando Y como PI, na concentração de 1 mg L⁻¹.

Nessas condições o As também não foi detectado nas amostras “A_c” e “B_c”, mas as recuperações médias foram de 82 e 94 % para a adição de 0,0025 e 0,005 mg de As para 1 g de amostra, respectivamente. Considerando-se que o primeiro ponto de adição corresponde a uma concentração próxima do limite de quantificação (131 µg L⁻¹), obteve-se uma exatidão satisfatória para a determinação de As, após a mineralização da amostra.

Em relação ao K e ao Na, que também produziram dificuldades analíticas, trata-se de elementos facilmente ionizáveis e que podem não ser detectados de maneira adequada em condições robustas [36].

Além disso, a alta concentração de Na, observada nessas amostras, promoveu saturação do sinal, indicando ser apropriado empregar diluições grandes para a análise dessas amostras. Entretanto, isto dificultaria a determinação dos microconstituintes, que apresentam uma maior importância devido ao fato da sua presença não ser conhecida neste tipo de produto. No caso do Na e, em alguns casos, do Ca ou K, é esperada a sua presença em adoçantes

à base de ciclamato/sacarina, devido ao uso dos edulcorantes na forma de sais sódicos, de Ca ou K [15,16].

4.1.2. Método II: Adaptação do Método I para análise de adoçantes líquidos à base de esteviosídeo por ICP OES

Considerou-se que o uso do **método I**, para a análise dos adoçantes à base de esteviosídeo, seria possível com base nas informações dos rótulos destes últimos, onde constam várias semelhanças de composição, inclusive a presença dos edulcorantes ciclamato e sacarina.

Os resultados obtidos com os experimentos de adição e recuperação de analitos, mostrados na Tabela 8, indicaram que esta extensão do método I é bastante apropriada. **Os valores de RSD também ficaram abaixo de 5 % e as recuperações, para a maioria dos analitos, ficaram entre 90 e 110 %, com exceção do Pb, na amostra “A_e” (88,0 ± 0,3 %, para os dois níveis de adição) e das espécies As, K e Na, como já observado anteriormente.**

Além disso, do mesmo modo que o observado para os adoçantes à base de ciclamato/sacarina, o uso de uma etapa de mineralização para essas amostras levou à obtenção de resultados melhores para o As. Neste caso, as recuperações obtidas foram de 88 e 101 % para a adição de 0,0025 e 0,005 mg de As, respectivamente, sendo que esta espécie também não foi detectada nas amostras “A_e” e “B_e”.

Por outro lado, é necessário ressaltar que esses resultados foram obtidos nas mesmas condições usadas para os adoçantes à base de ciclamato/sacarina, exceto o uso de PI para o Se e os comprimentos de onda dos elementos Cd, Cu e Mg, que foram, respectivamente, iguais a 228,802, 224,700 e 280,270 nm (discriminados na Tabela 1). Para as amostras “A_e” e “B_e” estes comprimentos de onda se mostraram mais adequados do que os usados anteriormente. Isto sugere que embora existam semelhanças significativas entre as matrizes destes dois tipos de adoçantes, as diferenças, também existentes, influenciam as

determinações desses elementos de maneira diferente, exigindo o uso de outros comprimentos de onda.

Tabela 8: Valores de concentração, em mg L^{-1} , e recuperação, em %, para Se e espécies metálicas nos adoçantes líquidos "A_e" e "B_e", à base de esteviosídeo e analisados em duplicata.

Espécie	Concentração original (mg L^{-1})	Recuperação (%)	
		0,10 mg	0,20 mg
<i>Massa adicionada*</i>		0,10 mg	0,20 mg
Ca	A _e : $3,30 \pm 0,08$	A _e : $91,0 \pm 0,2$	A _e : $91,0 \pm 0,2$
	B _e : $4,60 \pm 0,04$	B _e : $100,0 \pm 0,2$	B _e : $98,5 \pm 0,9$
Mg	A _e : $4,50 \pm 0,02$	A _e : 110 ± 6	A _e : $108,0 \pm 0,7$
	B _e : $1,30 \pm 0,01$	B _e : 105 ± 1	B _e : 107 ± 1
<i>Massa adicionada *</i>		0,002 mg	0,004 mg
Co	A _e : $< 0,007$	A _e : $96,0 \pm 0,2$	A _e : $94,0 \pm 0,3$
	B _e : $< 0,007$	B _e : $105,0 \pm 0,3$	B _e : 104 ± 2
Cu	A _e : $0,040 \pm 0,004$	A _e : 92 ± 5	A _e : 95 ± 3
	B _e : $< 0,002$	B _e : 99 ± 2	B _e : $100,0 \pm 0,1$
Fe	A _e : $0,100 \pm 0,007$	A _e : $97,0 \pm 0,1$	A _e : $98,0 \pm 0,5$
	B _e : $0,070 \pm 0,003$	B _e : $101,0 \pm 0,3$	B _e : 104 ± 2
Mn	A _e : $0,0240 \pm 0,0001$	A _e : $102,0 \pm 0,3$	A _e : $102,0 \pm 0,2$
	B _e : $0,0170 \pm 0,0002$	B _e : $107,5 \pm 0,3$	B _e : $107,0 \pm 0,1$
Ni	A _e : $< 0,037$	A _e : $99,6 \pm 2,0$	A _e : 98 ± 6
	B _e : $< 0,037$	B _e : $103,0 \pm 0,5$	B _e : $103,0 \pm 0,3$
Pb	A _e : $< 0,007$	A _e : $88,0 \pm 0,4$	A _e : $88,0 \pm 0,2$
	B _e : $< 0,007$	B _e : 99 ± 1	B _e : 101 ± 1
Zn	A _e : $0,030 \pm 0,002$	A _e : $100,0 \pm 0,2$	A _e : $100,0 \pm 0,7$
	B _e : $0,018 \pm 0,001$	B _e : $102,0 \pm 0,3$	B _e : 103 ± 3
<i>Massa adicionada *</i>		0,001 mg	0,002 mg
Cd	A _e : $< 0,015$	A _e : $97,5 \pm 1,0$	A _e : 99 ± 4
	B _e : $< 0,015$	B _e : 95 ± 1	B _e : $99,0 \pm 0,4$
Se	A _e : $0,34 \pm 0,03$	A _e : 116 ± 3	A _e : 119 ± 4
	B _e : $0,28 \pm 0,03$	B _e : 109 ± 3	B _e : 119 ± 2

(*) Quantidade de amostra: 5 mL

4.1.3. Figuras de mérito e aplicação analítica: análise de um conjunto de adoçantes líquidos à base de ciclamato/sacarina e de esteviosídeo por ICP OES

Os limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) foram calculados como sugerido por Montaser [48]: (i) $LOD = (3 RSD BEC)/100$; (ii) $LOQ = 5 LOD$.

Nas expressões (i) e (ii), o termo *RSD* corresponde ao desvio padrão relativo para dez medidas do sinal do branco e o termo *BEC* corresponde à “concentração equivalente do sinal de fundo”, determinada experimentalmente (nas condições empregadas nas análises).

Estas fórmulas, usadas para técnicas que envolvem o fenômeno da emissão, levam em consideração tanto o desvio padrão do branco (como feito para a maioria das outras técnicas analíticas) quanto a intensidade do sinal do branco (“fundo”) e assim fornecem valores mais representativos da detectabilidade do método de análise [49].

Os limites de detecção obtidos são apresentados na Tabela 9, onde se nota que os valores em questão estão na mesma ordem de grandeza ou acima daqueles declarados na literatura [36]. Entretanto, como estes valores dependem das condições experimentais em que as medidas são realizadas, esse tipo de comparação torna-se relativa, mostrando que os valores medidos estão, de certa forma, coerentes com aqueles obtidos por outros autores.

Tabela 9: Limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ), em mg L⁻¹, para a determinação de As, Se e espécies metálicas em adoçantes líquidos à base de ciclamato/sacarina (cs) ou esteviosídeo (e).

Espécie (λ / nm)	LOD literatura [36]	LOD experimental	LOQ	Legislação [50,51]
As (193,696) ^{cs, e}	0,005	0,07 **	2,2**	1,0
Ca (317,933) ^{cs, e}	0,00002	0,002	0,012	---
Cd (214,436) ^{cs}	0,001	0,003	0,015	1,0
Cd (228,802) ^e	0,001	0,015	0,077	1,0
Co (228,616) ^{cs, e}	0,001	0,007	0,033	---
Cu (327,390) ^{cs}	0,0004	0,019	0,095	2,0
Cu (224,700) ^e	0,0004	0,0023	0,0117	2,0
Fe (238,204) ^{cs, e}	0,002	0,005	0,025	---
Mg (279,553) ^{cs}	0,0001	0,009	0,047	---
Mg (280,270) ^e	0,0001	0,0007	0,0035	---
Mn (257,610) ^{cs, e}	0,0004	0,0012	0,0059	---
Ni (232,000) ^{cs, e}	0,005	0,037	0,183	3,0
Pb (220,353) ^{cs, e}	0,01	0,07	0,35	0,5
Se (196,026)	0,05	0,02	0,08	0,05
Zn (213,859) ^{cs, e}	0,001	0,004	0,021	25

(**) Valores obtidos quando uma etapa de mineralização é empregada.

Considerando-se os valores de LOQ e os limites máximos estabelecidos pela legislação brasileira (vide anexos 1 e 2) para os analitos Cd, Cu, Ni, Pb, Se e Zn em alimentos [50,51], nota-se que o método desenvolvido possui detectabilidade adequada para a monitoração destes contaminantes, com exceção do elemento Se. Além disso, vale ressaltar que o *Codex Alimentarius* [52,53] estabelece limites de 0,1 e 0,02 – 0,5 mg L⁻¹ de Cd e Pb, respectivamente, em produtos alimentícios. Para esses limites, o método de análise em questão também apresenta detectabilidade adequada.

Em relação à **aplicação analítica**, os teores médios obtidos para as espécies estudadas, nas diversas amostras, estão apresentados na Tabela 10, e foram expressos para um intervalo com 95 % de confiança.

Tabela 10: Teores médios ($\mu\text{g g}^{-1}$), para um intervalo com 95% de confiança, de As, Se e espécies metálicas em adoçantes líquidos.

<i>Espécie</i>	<i>Adoçantes à base de ciclamato/sacarina</i>	<i>Adoçantes à base de esteviosídeo</i>
As*	< 0,7	< 0,7
Ca	5,06 ± 0,28	3,5 ± 0,9
Cd	0,014 ± 0,001 ^a	< 0,015
Co	< 0,007	< 0,007
Cu	0,069 ± 0,002	0,045 ± 0,027
Fe	0,037 ± 0,001	0,18 ± 0,17
Mg	10,8 ± 0,6	3,7 ± 1,6
Mn	0,19 ± 0,03	0,073 ± 0,055
Ni	0,117 ± 0,020 ^a	< 0,037
Pb	< 0,07	< 0,07
Se*	0,304 ± 0,017	0,337 ± 0,026
Zn	0,110 ± 0,004	0,103 ± 0,063

(*) Realizado apenas em quatro amostras, duas de cada tipo.

(^a) Espécie encontrada em apenas uma amostra.

Os dados da Tabela 10 mostram que os teores médios para as espécies metálicas em adoçantes líquidos foram bastante diferentes para os dois grupos de amostras. Por outro lado, as espécies Cu e Zn estão na mesma ordem de grandeza, enquanto As, Co e Pb não foram encontrados em nenhuma das amostras analisadas. Também se observa que as dispersões dos valores médios são maiores para as amostras com esteviosídeo, sugerindo que não existe uma tendência de distribuição dessas espécies principalmente neste tipo de adoçante. Em adição, os valores encontrados para Cu e Zn, em ambos os grupos de amostras, e para Cd e Ni, em uma das amostras à base de ciclamato/sacarina,

estão abaixo dos valores máximos permitidos pela legislação brasileira [50,51]. **O teor de Se, entretanto, está acima do valor permitido** que é de $0,05 \text{ mg L}^{-1}$ [50], sendo também detectado em ambos os tipos de adoçantes.

Em relação às determinações de Se, vale ressaltar que a exatidão obtida para esta espécie mostrou-se um pouco inferior àquela obtida para os demais elementos. Para os adoçantes à base de ciclamato/sacarina as recuperações variaram de 104 a 120 % e, para aqueles à base de esteviosídeo a variação foi de 109 a 119%. Isto significa que os resultados das determinações de Se tendem a incorporar erros positivos acima de 10%, chegando, em alguns casos, em até 20 % (ver Tabelas 7 e 8).

Considerando-se este aspecto e também os resultados do estudo de aplicação, que indicam teores de Se possivelmente altos para essas amostras, estudou-se um método para a determinação de Se por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite, que é mais sensível e adequada para esta espécie [54].

4.2. Método para determinação de Se em adoçantes líquidos à base de ciclamato/sacarina, esteviosídeo e aspartame por GF AAS

Para a determinação de Se por GF AAS foi empregado um planejamento fatorial para a otimização das condições operacionais do equipamento analítico. Os níveis (-) e (+) utilizados para os parâmetros *temperatura de pirólise* (T_{pir}), *temperatura de atomização* (T_{at}) e *tempo de permanência na pirólise* (t_{ppir}), foram selecionados baseando-se em uma avaliação prévia, por meio de um estudo univariado dos mesmos, empregando-se a amostra de adoçante “B_e” (à base de ciclamato/sacarina e esteviosídeo).

No estudo univariado, a T_{pir} foi variada de 900 a 1400 °C, a T_{at} foi variada de 1500 a 2100 °C e o t_{ppir} foi variado de 10 a 30 s. Assim, realizaram-se vários ciclos de atomização, variando as condições acima citadas. Nesta etapa, as intensidades dos sinais analítico e de fundo e, a temperatura mínima de

atomização (para aumentar o tempo de vida do tubo de grafite) obtidos foram empregados como critérios para a seleção de um intervalo com as melhores condições (níveis (-) e (+)).

Para o planejamento fatorial realizado, os resultados obtidos para a determinação de Se estão apresentados na Tabela 11.

Tabela 11: Planejamento fatorial 2^4 para a determinação de Se em adoçantes líquidos. Parâmetros: temperatura de pirólise (Tpir), atomização (Tat), tempo de permanência na pirólise (tppir) e modificador químico (Mod).

Ensaio	Tpir (°C)	Tat (°C)	tppir (s)	Mod (Pd/Mg(NO ₃) ₂) *	Absorbância Integrada **	Rsd
1	1100	1800	10	Sem	0,3907	6,4
2	1300	1800	10	Sem	0,3734	1,6
3	1100	1900	10	Sem	0,5742	2,1
4	1300	1900	10	Sem	0,6525	6,1
5	1100	1800	20	Sem	0,2716	1,9
6	1300	1800	20	Sem	0,0196	9,1
7	1100	1900	20	Sem	0,6377	7,2
8	1300	1900	20	Sem	0,0	6,6
9	1100	1800	10	Com	0,403	2,6
10	1300	1800	10	Com	0,316	7,6
11	1100	1900	10	Com	0,6551	5
12	1300	1900	10	Com	0,5563	5,6
13	1100	1800	20	Com	0,2614	7,2
14	1300	1800	20	Com	0,0318	21,4
15	1100	1900	20	Com	0,5935	1,2
16	1300	1900	20	Com	0,0	26,7

(*) Empregou-se uma mistura de 5 µg de Pd com 3 µg de Mg(NO₃)₂.

(**) Valor médio para duas determinações.

Os dados apresentados na Tabela 11 foram inseridos no programa “Statgraphics Plus 3.0” e foram obtidos os gráficos de Pareto e de efeitos principais, mostrados nas Figuras 6 e 7.

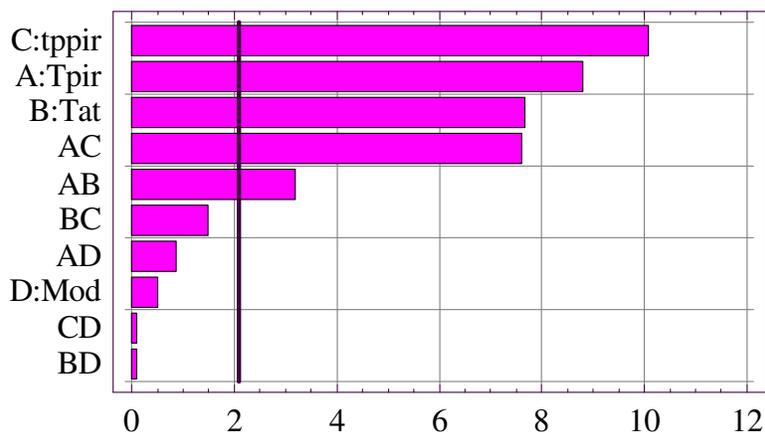


Figura 6: Gráfico de Pareto obtido no planejamento fatorial para determinação de Se em amostra de adoçante dietético líquido. Parâmetros: temperatura de pirólise (Tpir), atomização (Tat), tempo de permanência na pirólise (tppir) e modificador químico (Mod).

O Gráfico de Pareto indica as variáveis que apresentam efeito significativo sobre a resposta analítica (absorbância integrada) com um nível de confiança de 95%. Observa-se, então, que os parâmetros tppir, Tpir, Tat, bem como as interações tppir - Tpir e Tpir - Tat exercem efeitos significativos na resposta analítica.

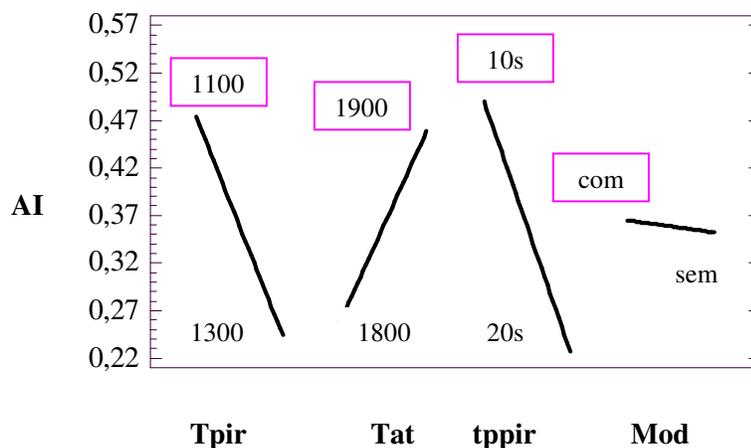


Figura 7: Gráfico dos efeitos principais, obtido no planejamento fatorial para a determinação de Se em adoçantes líquidos. Parâmetros: temperatura de pirólise (Tpir), atomização (Tat), tempo de permanência na pirólise (tppir) e modificador químico (Mod).

O Gráfico de Efeitos Principais (Figura 7) mostra que as temperaturas de pirólise (1100 °C) e de atomização (1900 °C) e o tempo de permanência na pirólise (10 s) levam à obtenção de valores de absorvância integrada maiores. No caso do uso de modificador, a contribuição é pequena, mas os perfis dos sinais analíticos obtidos com o uso de modificador foram, geralmente, mais adequados (picos mais estreitos e simétricos) do que os sinais obtidos na sua ausência. Desta forma, as seguintes **condições foram selecionadas como as mais adequadas** para a determinação em questão: 1100 e 1900 °C para a temperatura de pirólise e de atomização, respectivamente, 10 s de permanência na pirólise e uso de modificador químico (Pd/Mg(NO₃)₂).

Nessas condições, a exatidão para a determinação de Se foi avaliada, por meio de experimentos de adição e recuperação de analito, e os limites de detecção e quantificação instrumentais foram calculados empregando-se a leitura da solução do branco (n= 10). Os resultados obtidos constam na Tabela 12.

Tabela 12: Limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) instrumentais e valores de recuperação, em %, para Se nos adoçantes líquidos "A" e "B_e", analisados em duplicata.

Amostra	LOD *; LOQ * (µg L ⁻¹)	Recuperação / % nível 1 (50 µg L ⁻¹)	Recuperação / % nível 2 (100 µg L ⁻¹)
A ¹ (80,2 ± 0,2 µg L ⁻¹)	0,02; 0,06	108,1 ± 1,8	100,4 ± 3,3
B _e ² (192 ± 13 µg L ⁻¹)		94,1 ± 1,6	98 ± 2

(*) Calculados como 3 vezes (para o LOD) ou nove vezes (para o LOQ) o desvio padrão do branco dividido pela inclinação da curva analítica [54];

(1) Adoçante líquido à base de ciclamato/sacarina;

(2) Adoçante líquido à base de ciclamato/sacarina e esteviosídeo.

Os valores de recuperação, obtidos para duas amostras diferentes e com teores de Se diferentes, indicaram que o método apresentou boas exatidão e precisão (que também pode ser avaliada nos resultados da Tabela 13).

Em relação aos valores de LOD e LOQ, o método se mostrou bastante sensível, especialmente porque as amostras “A” e “B_e”, precisaram ser diluídas (10 e 20 vezes, respectivamente) para a realização de uma análise adequada.

Desta forma, a técnica de GF AAS pôde ser utilizada para determinar Se em adoçantes líquidos, sendo analisados um conjunto de amostras de tipos e marcas diferentes. Nesta etapa, também, devido à concentração relativamente alta do analito as amostras foram diluídas, de 2 a 20 vezes, dependendo do sinal obtido na leitura da primeira replicata. Os resultados obtidos para a análise dos adoçantes são apresentados na Tabela 13.

Tabela 13: Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$) de Se em adoçantes líquidos, de marcas e tipos diferentes (à base de ciclamato/sacarina, esteviosídeo, aspartame).

Adoçantes à base de ciclamato/sacarina (n= 15)	Adoçantes à base de Esteviosídeo (n= 8)	Adoçantes à base de aspartame * (n= 4)
A= 80,6 ± 0,2	A _e = 542 ± 1	A _a : < 1,5 **
B= 257 ± 6	B _e = 192 ± 13	A _a : < 1,5 **
C= 125,5 ± 4,5	C _e = 485,2 ± 45,4	A _a : < 1,5 **
D= 150,1 ± 6,2	D _e = 67,7 ± 4,4	A _a : < 1,5 **
E= 297 ± 4	E _e = 160,6 ± 0,7	
F= 134,2 ± 11,4	F _e = 154 ± 3	
G= 591 ± 62	G _e = 0,71 ± 0,06	
H= 66,1 ± 2,9	H _e = 176 ± 3	
I= 177,9 ± 10,5		
J= 37,6 ± 2,1		
K= 406,8 ± 6,7		
L: < 0,24 **		
M= 111,5 ± 2,2		
N: < 0,24 **		
O= 102,6 ± 1,3		
Média= 196 ± 153	Média= 222 ± 32	
Faixa de 66,1 - 297	Faixa de 0,71 - 542	

(*) As amostras de aspartame foram analisadas após uma etapa de mineralização, conforme o procedimento descrito no item 3.4.4.

(**) Limites de detecção considerando a diluição da amostra.

Os dados obtidos neste estudo mostram que o elemento Se foi encontrado nos adoçantes líquidos à base de ciclamato/sacarina e de esteviosídeo. Para os adoçantes à base de aspartame não foi obtido sinal analítico, sendo o LOQ igual a 1,5 $\mu\text{g L}^{-1}$, considerando uma diluição de

aproximadamente 25 vezes realizada para as amostras, conforme o procedimento de preparo descrito no item 3.4.4.

Dentre as amostras avaliadas, 4 delas (A, B, A_e e B_e) foram analisadas pelo método de ICP OES. Para essas amostras as concentrações obtidas por GF AAS não concordam com aquelas obtidas por ICP OES, embora as amostras B, A_e e B_e tenham apresentado concentrações de Se na mesma ordem de grandeza.

Considerando os valores encontrados pelo método de absorção atômica, os adoçantes com esteviosídeo apresentaram, em geral, teores mais altos de Se do que aqueles à base de ciclamato/sacarina. Por outro lado, o analito foi encontrado em ambos os tipos de amostras em concentrações acima de 50 µg L⁻¹, que é o valor máximo estabelecido pela ANVISA [50].

Segundo Ferreira *et al.* [55] os alimentos que apresentam teores maiores de Se são aqueles de origem animal e os derivados do trigo e, dentre os de origem vegetal, os teores são geralmente menores que 50 µg kg⁻¹. Comparando-se este valor com os encontrados nos adoçantes, pode-se concluir que os teores de Se estão altos, mesmo para os adoçantes à base de esteviosídeo (de origem vegetal), pois os adoçantes são produtos alimentícios e não alimentos *in natura*. Assim, esta situação sugere que a presença de Se pode estar relacionada ao processamento industrial deste tipo de produto.

Neste sentido, existe pouca literatura que possibilite confirmar essa hipótese embora um trabalho, bastante amplo, de Mizuno *et al.* [56] reporte o uso de Se como catalisador em sínteses de vários compostos do tipo S-alquil-tiocarbamatos. Estes compostos contêm uma estrutura básica do tipo R-C-N-S-R' (onde R' é um radical alquil), análoga àquela encontrada na molécula da sacarina [15]. Nas reações reportadas neste trabalho [56] os produtos finais contêm uma mistura de tiocarbamato e de uma molécula análoga, a qual apresenta um átomo de Se no lugar do de S, proveniente da espécie intermediária que não se converteu no produto desejado.

Desta forma, o Se encontrado nos adoçantes líquidos à base de ciclamato/sacarina e de esteviosídeo pode ser proveniente da rota de síntese

desses edulcorantes se forem usados procedimentos semelhantes aos descritos por Mizuno *et al.* [56].

4.3. Análise de adoçantes líquidos à base de aspartame

4.3.1. Análise de adoçantes à base de aspartame por ICP OES

As amostras de adoçante à base de aspartame não puderam ser preparadas do mesmo modo que as outras já estudadas, isto é, não podem ser diluídas em HNO₃ 2 % v/v e nem mesmo com água, pois nestes casos ocorre uma separação de fases, não observada para as outras amostras.

Este fato impossibilitou a realização das análises sem um pré-tratamento adequado, pois embora a amostra seja líquida, é necessário realizar pequenas diluições para a adição de padrões, usados nos experimentos de otimização, ensaios de validação e, também, para adequar as propriedades da amostra ao sistema analítico, como a diminuição da viscosidade.

Assim, para encontrar um modo de preparar essas amostras sem proceder com uma mineralização, buscou-se um diluente que permitisse obter uma solução (ou suspensão) homogênea. As substâncias orgânicas testadas para este fim foram selecionadas porque são solúveis em água e que, em princípio, poderiam ser introduzidas no equipamento de ICP.

Com relação aos resultados, verificou-se que, exceto para o CFAC[®], com nenhuma das substâncias testadas foi possível diluir a amostra convenientemente. Quanto a este reagente, embora o mesmo tenha promovido uma diluição adequada da amostra, observou-se que após 12 h da diluição também ocorria a separação de fases.

Desta forma, a utilização de uma etapa de mineralização foi necessária para as amostras com aspartame. Foi otimizado um procedimento de digestão ácida com aquecimento convencional (em chapa de aquecimento) e empregando-se a amostra "A_a".

O procedimento consistiu na mistura de 1 g de amostra com 10 mL de HNO_3 concentrado e 8 mL de H_2O_2 30 % m/m. A mistura foi aquecida a temperaturas entre 80 e 100 °C, até a “quase secura” e, ao final do processo (aproximadamente 4 h), foi retomada com água desionizada para 25 mL.

As soluções de amostra obtidas apresentaram-se límpidas, sem partículas e, em seguida, foram analisadas nas condições instrumentais sugeridas por Boss e Fredeen [14].

Os resultados obtidos, nos experimentos de adição e recuperação de analitos para as amostras A_a e C_a , que são apresentados na Tabela 14, mostram que o método apresentou um desempenho satisfatório.

Como pode ser observado na Tabela 14 as recuperações para a maioria dos analitos ficaram entre 90 e 110 % (exceto para As). Desta forma, não houve perdas de analitos, durante o preparo da amostra, nem problemas na determinação instrumental.

No caso do As, as recuperações ficaram entre 77 e 89 %, sendo que os valores mais baixos ocorreram para o primeiro nível de adição e para ambas as amostras. Como a presença deste elemento não foi detectada nas amostras este comportamento pode estar relacionado ao fato de que a concentração esperada, para o primeiro nível da adição, estava um pouco abaixo do LOQ para o As na solução de amostra, igual a $0,13 \text{ mg L}^{-1}$; já para o segundo nível de adição o resultado obtido foi significativamente melhor.

Tabela 14: Valores de concentração, em $\mu\text{g g}^{-1}$ e de recuperação, em %, para As, Se e espécies inorgânicas em 4 adoçantes líquidos com aspartame ("A_a", "B_a", "C_a" e "D_a").

Espécie	Concentração	Recuperação	
		0,10 mg	0,20 mg
<i>massa adicionada*</i>			
Na	A _a : 338 ± 4 B _a : 494 ± 7 C _a : 47,1 ± 0,5 D _a : 54 ± 1	A _a : 96 ± 1 C _a : 100 ± 3	A _a : 88,3 ± 0,1 C _a : 104 ± 2
<i>massa adicionada*</i>		0,005 mg	0,01 mg
Ca	A _a : 5,8 ± 0,1 B _a : < 0,09 C _a : 1,261 ± 0,002 D _a : 0,34 ± 0,02	A _a : 99,7 ± 0,4 C _a : 93 ± 2	A _a : 97 ± 2 C _a : 94 ± 4
Co	A _a , B _a , C _a , D _a : < 0,07	A _a : 91,6 ± 0,1 C _a : 87 ± 1	A _a : 93,1 ± 0,4 C _a : 92,4 ± 0,1
Cu	A _a , B _a , C _a , D _a : < 0,25	A _a : 96 ± 1 C _a : 93 ± 2	A _a : 96,5 ± 0,1 C _a : 97,5 ± 0,1
Fe	A _a : 0,691 ± 0,001 B _a : 0,306 ± 0,009 C _a : < 0,07 D _a : 0,111 ± 0,003	A _a : 114 ± 3 C _a : 96 ± 3	A _a : 97 ± 4 C _a : 99 ± 6
K **	A _a , B _a : < 2,3 D _a : 86 ± 2	A _a : 106 ± 4	A _a : 102 ± 5
Mg	A _a : 3,21 ± 0,03 B _a , C _a : < 0,03 D _a : 2,65 ± 0,09	A _a : 103,1 ± 0,2 C _a : 91,1 ± 0,5	A _a : 95 ± 2 C _a : 96 ± 7
Mn	A _a , B _a , C _a , D _a : < 0,01	A _a : 94,4 ± 0,1 C _a : 89,4 ± 0,1	A _a : 94,1 ± 0,4 C _a : 92,6 ± 0,1
Ni	A _a , B _a , C _a , D _a : < 0,33	A _a : 90,4 ± 2,0 C _a : 90,3 ± 3,0	A _a : 90,1 ± 0,4 C _a : 93,1 ± 0,6
Zn	A _a : 0,061 ± 0,003 B _a , D _a : < 0,5 C _a : 0,058 ± 0,007	A _a : 89,1 ± 0,1 C _a : 90,5 ± 0,4	A _a : 90 ± 2 C _a : 93 ± 1
<i>Massa adicionada*</i>		0,0025 mg	0,005 mg
As	A _a , B _a , C _a , D _a : < 0,67	A _a : 77 ± 4 C _a : 76 ± 9	A _a : 89,1 ± 0,4 C _a : 84 ± 5
Cd	A _a , B _a , C _a , D _a : < 0,05	A _a : 94 ± 2 C _a : 91,4 ± 0,7	A _a : 89,5 ± 0,8 C _a : 94 ± 4
Pb	A _a , B _a , C _a , D _a : < 0,92	A _a : 89 ± 5 C _a : 89 ± 9	A _a : 93 ± 4 C _a : 95 ± 2
Se	A _a , B _a , C _a , D _a : < 0,65	A _a : 105 ± 2 C _a : 94 ± 7	A _a : 96 ± 1 C _a : 93 ± 6

(*) volume da solução de amostra: 25 mL. (**) Não determinado para a amostra "C_a".

Em relação às concentrações dos demais analitos, estas variaram bastante de amostra para amostra (marca) e não foi observada uma associação entre os valores obtidos. Além disso, a maioria das espécies (As, Cd, Co, Cu, Mn, Ni, Pb e Se) não foi detectada.

4.3.2. Análise de adoçantes à base de aspartame por ICP-MS

O emprego de uma etapa de mineralização, para as amostras de adoçantes à base de aspartame, levou à obtenção de uma solução de amostra bem mais diluída do que as soluções a 90 % v/v em HNO₃ diluído dos adoçantes à base de ciclamato/sacarina ou esteviosídeo. Conseqüentemente, o método de análise de adoçantes à base de aspartame apresentou uma menor detectabilidade do que o de análise dos outros adoçantes.

Sendo assim, utilizou-se a técnica de *espectrometria de massas com fonte de plasma* de forma complementar à técnica de ICP OES. A primeira constitui, geralmente, uma técnica mais sensível [48] e, por isso, possibilitaria investigar, de forma mais efetiva, a presença de contaminantes inorgânicos como As, Cd, Co, Cu, Mn, Ni, Pb e Se, que não foram detectados por ICP OES.

Inicialmente, para as análises por ICP-MS, a vaporização eletrotérmica (ETV) foi testada como forma de pré-tratamento e introdução das amostras no equipamento de ICP-MS.

Para este propósito, alguns parâmetros instrumentais relacionados a ETV, como temperaturas de secagem (20s a 90 °C + 10s a 120 °C), pirólise (550 °C) e vaporização (1900 °C), modificador químico (Ru/NaCl) e vazão do Ar carregador (150 mL min⁻¹) foram otimizados empregando-se uma amostra teste.

Durante este estudo, verificou-se que os cones (de amostragem e Skimmer) ficaram muito sujos, provavelmente devido aos resíduos da amostra decomposta parcialmente. A temperatura máxima de pirólise utilizada foi de 550 °C, relativamente baixa, mas necessária para evitar a perda de analitos voláteis. Assim, durante a vaporização da amostra, formou-se um depósito

(provavelmente de carbono) sobre os cones, que além de indesejável, provocou um processo de corrosão, que pôde ser identificado visualmente (vide anexo 3). Este fato mostrou que a técnica de ETV associada à de ICP-MS não é adequada para o tratamento deste tipo de amostra.

Portanto, o mesmo procedimento de digestão ácida, empregado previamente às análises por ICP OES, foi empregado para as análises por ICP-MS.

Nesse caso, o preparo de amostra bem como as condições instrumentais utilizadas também promoveram resultados satisfatórios, conforme indicam os dados da Tabela 15.

Tabela 15: Valores de concentração, em ng g^{-1} e de recuperação, em %, para As e espécies inorgânicas em 4 adoçantes líquidos com aspartame ("A_a", "B_a", "C_a" e "D_a").

Espécie	Concentração			Recuperação		
	Massa adicionada*			1 μg	3 μg	5 μg
Co	A _a : 0,341 ± 0,007			A _a : 91 ± 5		
	B _a : 0,216 ± 0,002					
	C _a : 0,018 ± 0,002					
	D _a : 0,278 ± 0,012			D _a : 118 ± 3	D _a : 91 ± 3	
Cu	A _a : 6,5 ± 0,5			A _a : 95 ± 5		
	B _a : 19,21 ± 0,01					
	C _a : 2,49 ± 0,01					
	D _a : 15 ± 1			D _a : 107 ± 3	D _a : 96 ± 2	
Mn	A _a : 16 ± 1			A _a : 90 ± 5		
	B _a : 2,2 ± 0,3					
	C _a : 3,4 ± 0,3					
	D _a : 4,52 ± 0,02			D _a : 107 ± 4	D _a : 90 ± 3	
Ni	A _a : 9 ± 1			A _a : 96 ± 1		
	B _a : 17,5 ± 0,1					
	C _a : 16,5 ± 0,3					
	D _a : 14,13 ± 0,03			D _a : 107 ± 3	D _a : 97 ± 3	
Massa adicionada*						
0,5 μg 1,5 μg 2,5 μg						
As	A _a : 29 ± 4			A _a : 117 ± 1		
	B _a : < 2,0					
	C _a : < 2,0					
	D _a : < 2,0			D _a : 107 ± 3	D _a : 102 ± 3	
Cd	A _a : < 1,0			A _a : 90 ± 1		
	B _a : < 1,0					
	C _a : < 1,0					
	D _a : < 1,0			D _a : 106 ± 6	D _a : 97 ± 4	
Pb	A _a : 19,3 ± 0,8			A _a : 103 ± 1		
	B _a : < 1,0					
	C _a : 71,2 ± 1,8					
	D _a : < 1,0			D _a : 133 ± 4	D _a : 90 ± 4	

(*) volume da solução de amostra: 25 mL.

Os valores de recuperação obtidos variaram, em geral, de 90 a 107 % indicando uma boa exatidão. Além disso, os desvios padrão obtidos indicaram uma boa precisão, correspondente a RSDs abaixo de 14 %. Além disso, para Co e, principalmente, Pb as recuperações discrepantes (de 118 e 133 %, respectivamente) puderam ser melhoradas com a utilização da nebulização ultrassônica. Neste caso, foi possível obter valores próximos de 100 % para esses dois analitos e em ambos os níveis de adição.

Em relação às concentrações dos analitos, as espécies As, Co, Cu, Mn, Ni e Pb foram encontradas em pelo menos uma das amostras e, exceto para Co e Ni, os teores variaram para as diferentes amostras.

4.3.3. Figuras de mérito (análise de adoçantes à base de aspartame por ICP OES e ICP-MS)

Os valores de LOD e LOQ foram calculados como o desvio padrão do branco (3 vezes para o LOD e 10 vezes para o LOQ) dividido pela inclinação da curva analítica, tanto para o método por ICP OES como para aquele com ICP-MS [57]. Os valores calculados são mostrados na Tabela 16, onde também são apresentados os limites máximos permitidos, pela legislação brasileira, para contaminantes inorgânicos em alimentos.

Tabela 16: Limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ), em $\mu\text{g g}^{-1}$, para a determinação de As, Se e espécies metálicas por ICP OES e ICP-MS em adoçantes líquidos à base de aspartame.

Espécie	ICP OES		ICP- MS		Legislação * [50,51]
	LOD	LOQ	LOD	LOQ	
As	0,7	2,2	0,002	0,007	1,0
Ca	0,09	0,29	Nd	Nd	---
Cd	0,05	0,18	0,001	0,003	1,0
Co	0,07	0,24	0,001	0,003	---
Cu	0,25	0,84	0,001	0,003	2,0
Fe	0,07	0,24	Nd	Nd	---
K	2,3	7,5	Nd	Nd	---
Mg	0,03	0,09	Nd	Nd	---
Mn	0,01	0,04	0,002	0,007	---
Na	2,2	7,4	Nd	Nd	---
Ni	0,33	1,11	0,001	0,003	3,0
Pb	0,9	3,1	0,001	0,003	0,5
Se	0,7	2,2	Nd	Nd	0,05
Zn	0,05	0,16	Nd	Nd	25

Nd = Não determinado por ICP-MS.

(*) Valores máximos permitidos pela legislação brasileira para contaminantes inorgânicos em alimentos.

Comparando-se os valores obtidos para os LOQ e os limites máximos estabelecidos para contaminantes inorgânicos em alimentos, pela legislação brasileira [50,51], nota-se que o método de análise por ICP OES pode ser utilizado para a monitoração de Cd, Cu, Ni e Zn, enquanto o de ICP-MS é apropriado para essas espécies e, também para As e Pb. Além disso, este último também atende às exigências do Codex Alimentarius, que recomenda limites menores para Cd e Pb, de até 0,1 e de 0,02 a 0,5 $\mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente. Por outro lado, as espécies Ca, Fe, K, Mg, Na e Se foram mais fáceis de serem monitoradas por ICP OES, devido a possíveis interferências isobáricas (no espectrômetro de massas), como: ^{40}Ar sobre ^{40}Ca , $^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}$ sobre ^{56}Fe e $^{12}\text{C}_2$ sobre ^{24}Mg [57].

4.4. Análise de adoçantes sólidos à base de ciclamato/sacarina, esteviosídeo e aspartame por ICP OES

As amostras à base de ciclamato/sacarina, esteviosídeo e aspartame que foram estudadas correspondem a adoçantes usuais, principalmente no Brasil [4] e, segundo as informações declaradas nos rótulos das mesmas, seus principais componentes são: lactose, SiO_2 e os edulcorantes correspondentes.

Experimentalmente observou-se que a maioria das amostras não se dissolve completamente em água ou ácido nítrico diluído, e isto pode ser explicado pela presença de sílica, que foi confirmada por uma análise semi-quantitativa de fluorescência de raios-X (FRX), realizada em um equipamento de microEDX da Shimadzu, modelo 1300.

Os resultados obtidos por FRX, para uma amostra teste, mostraram que o teor relativo de Si é de aproximadamente 2 % (m/m). Desta forma, essas amostras só podem ser analisadas na forma de uma suspensão aquosa ou após a sua mineralização com ácido fluorídrico [58].

Dentre essas opções de preparo, a primeira foi escolhida como a mais adequada para este trabalho, pois além de ser mais prática, evita o desgaste da tocha do equipamento, normalmente observado quando uma amostra é tratada com ácido fluorídrico.

Assim, o preparo das suspensões consistiu na mistura de 1 g de amostra, na sua forma original, com 25 mL de HNO_3 0,3 % v/v, aproximadamente. Esta quantidade de amostra/diluyente foi selecionada considerando-se que o sistema nebulizador usado (cross-flow) suporta até 5 % m/m de sólidos dissolvidos.

No preparo de amostra utilizado trabalhou-se com um teor de sólidos de aproximadamente 4 % m/m, buscando-se uma margem de segurança e também considerando que na solução das amostras haveria também partículas (provavelmente de sílica) as quais poderiam causar entupimento do nebulizador se não estivessem suficientemente dispersas.

Em relação às análises, propriamente, as condições instrumentais empregadas para a introdução direta de adoçantes líquidos (“método I”) foram testadas para as amostras sólidas.

Porque não existe material de referência certificado também para esse tipo de adoçante, a exatidão do método foi avaliada empregando-se experimentos de adição e recuperação de analitos e comparando-se os resultados obtidos para uma amostra analisada diretamente e após mineralização ácida.

No caso das amostras sólidas, com exceção da padronização interna, que foi necessária apenas para algumas das espécies (Ca, Co, Fe, Mg, Mn, Ni e Zn) os parâmetros instrumentais otimizados para os adoçantes líquidos mostraram-se adequados. Além disso, foi possível utilizar o mesmo preparo de amostra e comprimentos de onda para os três diferentes tipos de adoçantes sólidos.

Esses resultados podem ser observados na Tabela 17, onde são mostrados os valores médios de recuperação para os diferentes tipos de amostras.

Tabela 17: Valores de recuperação médios, em %, obtidos para analitos adicionados em três diferentes tipos de amostras de adoçantes sólidos (à base de ciclamato/sacarina, esteviosídeo e aspartame).

Espécie	Recuperação média	Faixa de recuperação	
		nível 1*	nível 2**
Ca	96	96 – 103	94 – 97
Cd	97	94 - 100	89 - 100
Co	93	88 - 101	96 - 100
Cu	97	92 - 94	97 - 105
Fe	94	88 - 103	90 - 99
Mg	97	98 – 102	96 – 100
Mn	94	92 - 98	88 – 101
Na	83	75 – 78	89 – 91
Ni	94	90 – 115	92 – 95
Pb	90	96 - 106	93 - 103
Se	98	80 - 119	91 - 102
Zn	92	88 - 103	90 - 98

(*) Concentrações a serem recuperadas: 2 mg L⁻¹ (para Na, K, Ca e Mg), 0,1 mg L⁻¹ (para Co, Cu, Fe, Mn, Ni e Zn) e 0,05 mg L⁻¹ (para Cd, Pb e Se).

(**) Concentrações a serem recuperadas: 4 mg L⁻¹ (para Na, K, Ca e Mg), 0,2 mg L⁻¹ (para Co, Cu, Fe, Mn, Ni e Zn) e 0,1 mg L⁻¹ (para Cd, Pb e Se).

Conforme consta na Tabela 17, as recuperações médias ficaram entre 90 (Pb) e 97 (Cd) % para a maioria dos analitos, indicando uma boa exatidão. Para Na e Se, entretanto, as recuperações um pouco fora da faixa que é considerada adequada (de 90 a 110 %) [46] indicam que o método é semi-quantitativo para essas espécies. Em relação aos RSDs obtidos vale ressaltar que estes foram, em geral, menores que 5 %, sendo considerados satisfatórios principalmente por se tratar de amostras na forma de suspensão [59].

A comparação dos resultados obtidos para a amostra que foi analisada diretamente e após uma etapa de mineralização são mostrados na Tabela 18.

Tabela 18: Resultados para uma amostra de adoçante sólido, à base de ciclamato/sacarina, analisada diretamente e após uma etapa de mineralização.

	Análise direta ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Análise após mineralização ($\mu\text{g g}^{-1}$)
Ca	2,87 \pm 0,08	2,89 \pm 0,03
Fe	1,15 \pm 0,01	1,24 \pm 0,01
Mg	1,77 \pm 0,03	1,73 \pm 0,09
Na	13163 \pm 726	14323 \pm 854
Se*	2,17 \pm 0,08	0,81 \pm 0,01
Valor de t** calculado	1,000	
Valor de t** tabelado	3,182	

(*) Os valores de Se não foram considerados na comparação estatística.

(**) Valor de t para 3 graus de liberdade.

Nessa tabela, a comparação dos teores para as espécies encontradas na amostra analisada diretamente e após mineralização mostra que os resultados para Ca, Fe, Mg e Na estão concordantes. Aplicando-se o teste t emparelhado a esse conjunto de dados obtém-se um valor de 1,000 para o t calculado e um valor de 3,182 para o t tabelado. Desta forma não existe diferença significativa entre os dois procedimentos de análise utilizados [60]. Em termos de exatidão, este aspecto era esperado para Ca, Fe e Mg, segundo os resultados obtidos nos experimentos de adição e recuperação de analitos. Para o Na, entretanto, esperava-se uma diferença maior, que não foi observada para a amostra empregada nesta avaliação. Já para o Se observou-se uma diferença significativa entre os valores fornecidos pelos dois procedimentos e este aspecto está de

acordo com os resultados dos experimentos de adição e recuperação, que mostraram que as recuperações não são quantitativas para este analito.

Em relação às figuras de mérito, os limites de detecção e quantificação foram calculados do mesmo modo descrito para o “método I” (item 4.1.3) e são apresentados na Tabela 19.

Tabela 19: Limites de quantificação (LOQ), em $\mu\text{g g}^{-1}$, para a determinação de Se e espécies metálicas em adoçantes sólidos à base de ciclamato/sacarina, esteviosídeo ou aspartame e valores máximos permitidos pela ANVISA e Codex Alimentarius para algumas espécies.

Espécie	LOQ	ANVISA [50,51]	CODEX ALIMENTARIUS [52,53]
Ca	0,05	---	---
Cd	0,38	1,0	0,1
Co	0,18	---	---
Cu	0,48	2,0	---
Fe	0,13	---	---
Mg	0,019	---	---
Mn	0,03	---	---
Na	2,4	---	---
Ni	0,93	3,0	---
Pb	1,75	0,5	0,02 – 0,5
Se	0,5	0,05	---
Zn	0,1	25	---

Comparando-se os valores de LOQ com os valores de referência, nota-se que o método estudado apresenta uma detectabilidade adequada para monitorar alguns contaminantes, como Cd, Cu, Ni e Zn de acordo com a legislação brasileira [50,51].

Para a aplicação do método estudado, empregaram-se amostras nacionais e também de outros países. Nesta etapa, os analitos Na e Se também foram monitorados, apesar de se tratar de determinações semi-quantitativas. Especialmente para o Na isto foi considerado importante, pois embora seja um

elemento essencial, esses adoçantes são consumidos ao nível de gramas e podem constituir um risco para pessoas hipertensas, se esta espécie estiver em concentrações relativamente altas [38].

Os resultados obtidos para a análise de um conjunto de 31 amostras, entre nacionais e de outros países, são apresentados na Tabela 20.

Tabela 20: Concentração, em $\mu\text{g g}^{-1}$, para espécies metálicas em adoçantes dietéticos sólidos (nacionais e de outros países).

Espécie	À base de esteviosídeo	À base de ciclamato e sacarina		À base de aspartame	
	nacionais	nacionais	de outros países	nacionais	de outros países
	Grupo 1 n= 2	Grupo 2 n= 8	Grupo 3 n= 3	Grupo 4 n= 8	Grupo 5 n= 10
Ca	5,7; 48,2	1,52 – 27	0,98 – 11,8	0,44 – 5,1	< 0,02
Cd	< 0,15	< 0,15	0,58*	< 0,15	0,5 – 0,78
Co	< 0,07	< 0,07	< 0,07	< 0,07	< 0,07
Cu	< 0,19	< 0,19	< 0,19	< 0,19	< 0,19
Fe	0,9; 1,2	0,23 – 2,2	0,44*	0,48 – 0,95	0,13 – 1,5
Mg	3,2; 30,3	1,6 – 52,8	0,31 – 15,9	1,31 – 4,45	0,75 - 45
Mn	0,1*	0,7 – 3,31	0,38*	0,09*	0,05 – 0,1
Na**	84,2; 4700	3635 - 14323	12000 – 15000	56,5 – 137	1,9*
Ni	2,2*	< 0,37	< 0,37	< 0,37	< 0,37
Pb	< 0,7	< 0,7	< 0,7	< 0,7	< 0,7
Se**	2,17*	1,9 - 3	2,2*	1,9 - 2,9	1,1 – 2,3
Zn	0,82*	0,5 – 0,84	0,36 – 3,1	0,47 – 0,99	0,56 - 1,4

(*) Encontrado em apenas uma amostra.

(**) Os teores de Na e Se são semi-quantitativos e para algumas amostras à base de ciclamato e sacarina houve saturação do sinal na determinação do Na.

Na Tabela 20 os resultados das determinações estão expressos na forma de faixas de concentração, que é mais informativo, pois a variação do teor dos analitos foi bastante significativa, nas diferentes amostras (de 14 %, obtido para o Fe no Grupo 4, até 157 %, obtido para o Mn no Grupo 2). Para as amostras nacionais as espécies Cd, Co, Cu e Pb não foram detectadas, enquanto cinco amostras de outros países (Argentina (2), Austrália, Estados Unidos e Nova Zelândia) apresentaram contaminação por Cd em níveis acima de $0,1 \mu\text{g g}^{-1}$, que é o valor máximo recomendado pelo Codex Alimentarius [52,53]. Dentre as

demais espécies, os teores mais altos foram para o Na, exceto no Grupo 5. E, dentre os diferentes tipos de amostras aquelas à base de aspartame (tanto nacionais como de outros países) são as que apresentaram menores teores de concentração para esta espécie e, portanto, são as mais indicadas para o consumo por hipertensos.

5. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS

Os métodos de análise estudados neste trabalho possibilitaram, de maneira geral, determinar constituintes e contaminantes metálicos em adoçantes dietéticos.

Foram estudados adoçantes líquidos e sólidos, contendo ciclamato/sacarina, esteviosídeo e aspartame. As amostras mostraram-se complexas, mas foi possível realizar a análise direta na maioria dos casos, obtendo-se boas exatidão e precisão.

Com o intuito de confirmar alguns resultados e conseguir uma maior quantidade de informação analítica, outras técnicas foram utilizadas de forma complementar, como as técnicas de GF AAS e de ICP-MS.

Considerando-se os estudos de otimização instrumental para as análises por ICP OES, avaliar apenas a robustez do plasma não foi suficiente para os adoçantes líquidos à base de ciclamato/sacarina. Os parâmetros *razão sinal analítico/sinal de fundo* e *padronização interna* também foram importantes.

O método de análise para esses adoçantes também se mostrou adequado, com alguns ajustes instrumentais, para as amostras de adoçantes líquidos à base de esteviosídeo e para as amostras sólidas, que puderam ser analisadas na forma de uma suspensão aquosa.

Para os adoçantes líquidos à base de ciclamato/sacarina e de esteviosídeo a aplicação do método permitiu monitorar constituintes (Ca, Fe, Mg e Mn) e contaminantes metálicos (Cd, Cu, Ni, Se e Zn) em um conjunto de 22 amostras. Exceto para o Se, os contaminantes encontrados estão em uma concentração abaixo da máxima permitida pela legislação brasileira.

Em relação às espécies metálicas estudadas, As, K, Na e Se se mostraram as mais difíceis de serem determinadas, especialmente quando a análise direta foi utilizada.

Por outro lado, um desempenho analítico satisfatório pôde ser obtido para o As, após empregar uma etapa de mineralização e, para o Se, empregando-se a técnica de GF AAS.

O uso da espectrometria de absorção atômica para a determinação de Se confirmou a presença desta espécie, em concentrações relativamente altas, nos adoçantes líquidos com ciclamato, sacarina e esteviosídeo. Nos adoçantes com aspartame não foi detectado Se.

A análise de adoçantes líquidos à base de aspartame seguiu uma linha de trabalho um pouco diferente daquela realizada para os outros dois tipos de adoçantes, devido a uma maior complexidade deste tipo de matriz. Neste caso, foi necessário estudar um procedimento de digestão ácida, que foi realizado em chapa de aquecimento. Por outro lado, a detectabilidade do método é inferior àquela obtida para os outros dois tipos de adoçantes líquidos, devido a uma maior diluição da amostra por conta da etapa de mineralização. Porém, o mesmo preparo de amostra pôde ser utilizado para a análise dessas amostras, de forma complementar, por ICP-MS.

Em adição, todas as espécies de interesse puderam ser monitoradas por ICP OES nos adoçantes líquidos com aspartame. Provavelmente, isto deve-se a uma minimização de interferências, com o uso da mineralização, a qual permitiu o uso de condições não robustas, que são mais favoráveis para K e Na.

Para os adoçantes sólidos (em suspensão), o emprego de uma mesma condição instrumental (comprimentos de onda e padrões internos) permitiu a análise de adoçantes contendo os diferentes edulcorantes considerados neste trabalho: ciclamato, sacarina, esteviosídeo e aspartame.

Nesses adoçantes também houve dificuldades para determinar As, K, Na e Se. Mas, em termos de aplicação analítica, os resultados podem ser considerados semi-quantitativos para Na e Se. Desta forma, o método estudado foi utilizado para monitorar Ca, Cd, Co, Cu, Fe, Mg, Mn, Na, Ni, Pb, Se e Zn em um conjunto de 31 amostras (entre nacionais e de outros países). Os resultados indicaram que para as amostras nacionais as espécies Cd, Co, Cu e Pb não foram detectadas, enquanto alguns dos adoçantes de outros países apresentaram contaminação por

Cd. Dentre as demais espécies, o Na apresentou teores maiores, principalmente nos adoçantes com ciclamato, sacarina e esteviosídeo. Em relação ao Se, esta espécie também foi encontrada nessas amostras; mas, ao contrário dos adoçantes líquidos (com ciclamato, sacarina e esteviosídeo), ocorre com menos frequência.

Considerando-se estes aspectos, o presente trabalho contribui com exemplos e informações sobre a análise direta por ICP OES e forneceu dados relacionados à qualidade de um produto alimentar de elevada importância, os adoçantes dietéticos. Obviamente, as questões analíticas e de aplicação não foram esgotadas e, neste sentido, alguns itens podem ser enumerados como possibilidades para aperfeiçoamento e continuação deste trabalho:

- Avaliar os teores de K e Na nos adoçantes líquidos e sólidos empregando-se outras técnicas, como a espectrometria de absorção atômica com chama ou a emissão atômica em chama;

- Aplicar para os adoçantes sólidos o método desenvolvido para a determinação de Se, por GF AAS, em adoçantes líquidos;

- Avaliar adoçantes com edulcorantes menos usuais, mais “recentes”, como a sucralose e também as combinações de açúcar/edulcorante;

- Buscar informações industriais sobre os processos atuais de obtenção e processamento deste tipo de produto.

6. REFERÊNCIAS

- [1] Portaria da ANVISA, nº 38, de 13 de janeiro de 1998.
- [2] Kretchmer, N; Hollenbeck, CB. Sugars and Sweeteners, CRC Press, Florida, 1991.
- [3] FREITAS, S; “Tire Suas Dúvidas Sobre Adoçantes”. *Saúde na Internet*, www.saudenainternet.com.br/entrevista/entrevista_06.shtml, acessado 13/08/04.
- [4] TOLEDO, MCF; IOSHI, H; “Potential Intake of Intense Sweeteners in Brazil”. *Food Add. Cont.*, **12** (6), 1995, 799–808.
- [5] MITCHELL, H; DEDMAN, J; GARMAN, C; “Alternative Sweeteners: Finding the Correct Technical and Nutricional Balance”. *Int. Sugar JNL*, **103** (1232), 2001, 324-327.
- [6] LIMA, LHA.; BERLINCK, CN; “Xilitol, o Adoçante do Futuro”. *Ciência Hoje*, **33**, 2003, 66-69.
- [7] HENIN, N. “Intake of Sweeteners, Physiological and Nutritional Aspects”. *Int. Sugar JNL*, **103**, 2001, 346-351.
- [8] JOST, R; MONTI, JC; SCHAUHELBERGER, U; “Analysis of Dipeptide Sweetener Aspartame”. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.*, **52**, 1982, 229.
- [9] SALES, JA; CARDEAL, ZD; “Headspace Solid-phase Micro-extraction Gas Chromatography Method for the Determination of Methanol in Aspartame Sweeteners”. *Food Add. Cont.*, **20**, 2003, 519-523.
- [10] SAURINA, J; HLABANGANA, L; GARCÍA-MILLA, D; HERNÁNDEZ-CASSOU, S; “Flow-injection Determination of Amine Contaminants in Cyclamate Samples Based on Temperature for Controlling Selectivity”. *Analyst*, **129**, 2004, 468-474.
- [11] Ullmann’s Encyclopedia of Industrial Chemistry, 5th ed., vol. A4, VCH, Weinheim, 1985.
- [12] REILLY, C. Metal Contamination of Food, Elsevier, New York, 1991.
- [13] Resolução da Diretoria Colegiada da ANVISA, nº 20, de 22 de março de 2007.
- [14] BOSS, CB; FREDEEN, KJ. Concepts, Instrumentation and Techniques in Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry, 2nd ed, Perkin-Elmer Corp., USA, 1999.

- [15] Encyclopedia of Chemical Technology, 3rd ed., vol. 22, John Wiley & Sons, New York, 1983.
- [16] "Overview of Sweeteners". *AGRO Food Industry Hi-tech*, **14** (1), 2003, 17-19.
- [17] MIDIO, AF; MARTINS, DI. Toxicologia de Alimentos, Varela Editora e Livraria Ltda, São Paulo, 2000.
- [18] RUIZ, AP. Extração dos Glicosídeos da Estévia com Fluidos Pressurizados. Tese de Doutorado, FEA - UNICAMP, Campinas, 1999.
- [19] CARDELLO, HMAB. Caracterização Sensorial de Aspartame, Ciclamato/Sacarina 2:1 e Extrato de Folhas de Estévia (Stévia rabaudiana Bertoni): Equivalência em Doçura, Análise Descritiva Quantitativa e Análise Tempo-Intensidade. Tese de Doutorado, FEA - UNICAMP, Campinas, 1996.
- [20] HAMADA, S. "Role of Sweeteners in the Etiology and Prevention of Dental Caries". *Pure Appl. Chem.*, **74** (7), 2002, 1293-1300.
- [21] KONOSHIMA, T; TAKASAK, M; "Cancer-chemopreventive Effects of Natural Sweeteners and Related Compounds". *Pure Appl. Chem.*, **74** (7), 2002, 1309-1316.
- [22] CHEN, Q-C; MOU, S-F; LIU, K-N, YANG, Z-Y; NI, Z-M; "Separation and Determination of Four Artificial Sweeteners and Citric Acid by High-performance Anion-exchange Chromatography". *J. Chromatogr. A*, **771**, 1997, 135-143.
- [23] MOORS, M; TEIXEIRA, CRRR; JIMIDAR, M; MASSART, DL; "Solid-phase Extraction of the Preservatives Sorbic Acid and Benzoic Acid and the Artificial Sweeteners Aspartame and Saccharin". *Anal. Chim. Acta*, **255**, 1991, 177-186.
- [24] MORALES, ML; FERREIRA, R; GONZÁLEZ, AG; TRONCOSO, AM; "Simultaneous Determination of Organic Acids and Sweeteners in Soft Drinks by Ion-exclusion HPLC". *J. Sep. Sci.*, **24**, 2001, 879-884.
- [25] JOHNS, P; DOWLATI, L; "Determination of Acesulfame and Sucralose in Oral Electrolyte Maintenance Solution by Liquid Chromatography". *Food Comp. and Add.*, **86**, 2003, 79-85.
- [26] AHMED, MJ; SMITH, RM; "Determination of Stevioside by High-performance Liquid Chromatography with Pulsed Amperometric Detection". *J. Sep. Sci.*, **25**, 2002, 170-172.
- [27] ARMENTA, S; GARRIGUES, S; GUARDIA, M; "FTIR Determination of Aspartame and Acesulfame-K Tabletop Sweeteners". *J. Agric. Food Chem.*, **52**, 2004, 7798-7803.

- [28] WEINERT, P; PEZZA, HR; OLIVEIRA, JE; PEZZA, L; "A Simplified Spectrometric Method for Routine Analysis of Saccharin in Comercial Noncaloric Sweeteners". *J. Agric. Food Chem.*, **52**, 2004, 7788-7792.
- [29] CAPITÁN-VALLVEY, LF; VALENCIA, MC; NICOLÁS, EA; "Flow-through Spectrometric Sensor for the Determination of Aspartame in Low-Calorie and Dietary Products". *Anal. Sci.*, **20**, 2004, 1437-1442.
- [30] LLAMAS, NE; NEZIO, MS; PALOMEQUE, ME; BAND, BSF; "Automated Turbidimetric Determination of Cyclamate in Low Calorie Soft Drinks and Sweeteners Without Pre-treatment". *Anal. Chim. Acta*, **539**, 2005, 301-304.
- [31] NIKOLELIS, DP; PANTOULIAS, S; "Selective Continuous Monitoring and Analysis of Mixtures of Acesulfame-K, Cyclamate, and Saccharin in Artificial Sweetener Tablets, Diet Soft Drinks, Yogurts, and Wines Using Filter-Supported Bilayer Lipid Membranes". *Anal. Chem.*, **73**, 2001, 5945-5952.
- [32] LIU, J; LI, SFY; "Separation and Determination of Stevia Sweeteners by Capillary Electroforesis and High Performance Liquid Chromatography". *J. Liquid Chrom.*, **18**, 1995, 1703-1719.
- [33] HERNANDO, D; SAURINA, J; HERNÁNDEZ-C, S; "Liquid chromatographic Determination of Aniline in Table-top Sweeteners Based on Pre-column Derivatization with 1,2-naphthoquinone-4-sulfonate". *J. Chromatogr.*, **859**, 1999, 227-233.
- [34] Porfirio, DM; Oliveira, E; "Determinação de Alguns Elementos em Adoçantes Artificiais por ICP OES". *Rev. Analytica*, **21**, 2006, 60-70.
- [35] BOUMANS, PWJM (Ed) *Inductively Coupled Plasma Emission Spectroscopy*, Part 1, John Wiley & Sons, New York, 1987.
- [36] BRENNER, IB; ZANDER, AT; "Axially and Radially Viewed Inductively Coupled Plasmas – A Critical Review". *Spectrochim. Acta Part B*, **55**, 2000, 1195-1240.
- [37] GARCIA, EE; NOGUEIRA, ARA; NÓBREGA, JA; "Matrix Effects on the Determination of Disprosium, Europium and Ytterbium Used as Animal Faecal Markers by Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry with Axially and Radially Viewed Configurations". *J. Anal. At. Spectrom.*, **16** (8), 2001, 825-830.
- [38] VAITSMAN, DS; AFONSO, JC; DUTRA, PB. "Para que Servem os Elementos Químicos", Editora Interciência, Rio de Janeiro, 2001.
- [39] MERMET, JM; "Use of Magnesium as a Test Element for Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry Diagnostics". *Anal. Chim. Acta*, **250**, 1991, 85-94.

[40] Committee on Hazardous Substances in the Laboratory; Commission on Physical Sciences; Mathematics and Resources e National Research Council. Prudent Practices for Disposal of Chemicals from Laboratories, National Academy Press, Washington DC, 1983.

[41] BRENNER, I. B.; ZANDER, A.; COLE, M.; WISEMAN, A. "Comparison of Axially and Radially Viewed Inductively Coupled Plasmas for Multi-element Analysis: Effect of Sodium and Calcium". *J. Anal. At. Spectrom.*, **12**, 1997, 897-906.

[42] SILVA, JCS; BACCAN, N; NÓBREGA, JA; "Evaluation of the Analytical Performance of an Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry with Dual View Configuration". *Microchem. J.*, **77**, 2004, 185-190.

[43] SOUSA, RA; SILVA, JCJ; TEÓFILO, RT; CADORE, S.; BACCAN, N.; "Study of Instrumental Parameters for the Analysis of Milk by ICP OES Employing Factorial Analysis". Trabalho apresentado oralmente no "V Brazilian Meeting on Chemistry of Food and Beverages" (V BMCFB) – São Carlos, SP, Brasil, 1 - 04/12/04, pg 35.

[44] SOUSA, RA; SILVA, JCJS; BACCAN, N; CADORE, S; "Determination of Metals in Bottled Coconut Water Using an Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometer". *J. Food Comp. Anal.*, **18**, 2005, 399-408.

[45] BELCHAMBER, RM; HORLICK, G; "Correlation Study of Internal Standardization in Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry". *Spectrochim. Acta B*, **17**, 1982, 1037-1046.

[46] JENNISS, SW; KATZ, AS; LYNCH, RW; "Applications of Atomic Spectrometry to Regulatory Compliance Monitoring, 2nd ed, Willey-VHC, New York, 1997.

[47] PAN, C; ZHU, G; BROWNER, RF; "Role of Auxiliary Gas Flow in Organic Sample Introduction with Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry". *J. Anal. At. Spectrom.*, **7**, 1992, 1231-1237.

[48] MONTASER, A; GOLIGHTLY, DW. "Inductively Coupled Plasmas in Analytical Atomic Spectrometry", 2nd ed, VHC Publishers, New York, 1992.

[49] THOMSEN, V; ROBERTS, G; BURGESS, K; "The Concept of Background Equivalent Concentration in Spectrochemistry". *Spectroscopy*, **15**, 2000, 33-36.

[50] Decreto da ANVISA nº 55.871, de 26 de março de 1965.

[51] Portaria da ANVISA nº 685, de 27 de agosto de 1998.

[52] <http://www.codexalimentarius.net/web/stand>; CAC/GL 39 – 2001, acessado em julho de 2005.

[53] <http://www.codexalimentarius.net/web/stand>; CODEX STAN 210 – 2001, acessado em julho de 2005.

[54] WELZ, B; SPERLING, M; “**Atomic Absorption Spectrometry**”, Wiley-VCH, Weinheim, 1999.

[55] FERREIRA, KS; GOMES, JC; BELLATO, CR; JORDÃO CP. Concentrações de Selênio em Alimentos Consumidos no Brasil”, *Rev. Salud. Publica/ Pan. Am. J. Public Health*, **11**, 2002, 172-177.

[56] MIZUNO, T; NISHIGUCHI, I; SONODA, N; “Novel Synthesis of S-alkylthiocarbamates from Amines, Carbon Monoxide, Elemental Sulfur, and Alkyl Halides in the Presence of a Selenium Catalyst”. *Tetrahedron*, **50**, 1994, 5669-5680.

[57] JARVIS, KE; GRAY, AL; HOUK, R S; “**Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry**”, Blackie Academic & Professional, London, 1996.

[58] OLIVEIRA, E; “Sample Preparation for Atomic Spectroscopy: Evolution and Future Trends”. *J. Braz. Chem. Soc.*, **14**, 2003, 174 – 182.

[59] SANTOS, MC; NÓBREGA, JA; “Slurry Nebulization in Plasmas for Analysis of Inorganic Materials”. *Appl. Spectrosc. Rev.*, **41**, 2006, 427-448.

[60] MENDHAM, J; DENNEY, RC; BARNES, JD; THOMAS, M; Vogel – Análise Química Quantitativa, 6ª ed, LTC Editora, Rio de Janeiro, 2002.

7. ANEXOS

7.1 Anexo 1: DECRETO ANVISA Nº 55.871, DE 26 DE MARÇO DE 1965

Modifica o Decreto nº 50.040, de 24 de janeiro de 1961, referente a normas reguladoras do emprêgo de aditivos para alimentos, alterado pelo Decreto nº 691, de 13 de março de 1962.

O PRESIDENTE DA REPÚBLICA, usando das atribuições que lhe confere o artigo 87, inciso I, da Constituição Federal, e na conformidade do que estatui a letra " b " do número XV do artigo 5º da Constituição Federal e nos termos da Lei nº 2.312, de 3 de setembro de 1954, regulamentada pelo Decreto nº 49.974-A, de 21 de julho de 1961,

DECRETA:

Art 1º Considera-se alimento, para os fins do presente Decreto a substância destinada a ser ingerida pelo homem e fornecer elementos necessários a seu desenvolvimento e manutenção.

§ 1º Inclui-se as bebidas entre os alimentos.

§ 2º As expressões "generos alimentícios" e "produto alimentícios" são empregados com o mesmo sentido da palavra alimento.

Art 2º Considera-se aditivo para alimento a substância intencionalmente adicionada ao mesmo com a finalidade de conservar, intensificar ou modificar suas propriedades, desde que não prejudique seu valor nutritivo.

Parágrafo único. Excluem-se do disposto neste artigo, os ingredientes normalmente exigidos para o preparo do alimento.

Art 3º Considera-se "aditivo incidental" a substância residual ou migrada, presente no alimento, como decorrência das fases de produção, beneficiamento, acondicionamento, estocagem e transporte do alimento ou das matérias primas nêle empregadas.

Parágrafo único. Os aditivos a que se refere êste artigo não devem exercer efeito sôbre as propriedades do alimento.

Art 4º Os aditivos a que se refere o presente Decreto compreendem:

- 1) Corante - a substância que confere ou intensifica a côr dos alimentos.
- 2) Flavorizante - a substância que confere ou intensifica o sabor e o aroma dos alimentos e aromatizantes a substância que confere e intensifica o aroma dos alimentos.
- 3) Conservador - a substância que impede ou retarda a alteração dos alimentos provocada por microorganismos ou enzimas.
- 4) Antioxidante - a substância que retarda o aparecimento de alteração oxidativa nos alimentos.
- 5) Estabilizante - a substância que favorece e mantém as características físicas das emulsões e suspensões.
- 6) Espumífero e Antiespumífero - a substância que modifica a tensão superficial dos alimentos líquidos.
- 7) Espessante - a substância capaz de anumentar, nos alimentos, a viscosidade de soluções, emulções e suspensões.
- 8) Edulcorante - a substância orgânica artificial, não glicídica, capaz de conferir sabor doce aos alimentos.
- 9) Umectante - a substância capaz de evitar a perda da umidade dos alimentos.
- 10) Antiumectante - a substância capaz de reduzir as características higroscópicas dos alimentos.
- 11) Acidulante - a substância capaz de comunicar ou intensificar o gôsto acidulo dos alimentos.

Parágrafo único. Para os fins do presente Decreto, a adição de substâncias reveladoras, indicadoras, suplementares, medicamentosas e profiláticas aos alimentos terão seu uso e teor regidos pela legislação específica.

Art 5º Será tolerado o uso do aditivo desde que:

- a) seja indispensável à adequada tecnologia de fabricação;
- b) tenha sido prèviamente registrado no órgão competente do Ministério da Saúde;
- c) seja empregado na quantidade estritamente necessária à obtenção do efeito desejado, respeitado o limite máximo que vier a ser fixado.

Art 6º Ficam isentos do registro prèvio os aditivos incluídos na Farmacopéia Brasileira.

Parágrafo único. É obrigatório constar da rotulagem do aditivo o seu nome, o número de registro ou a declaração: "Segundo a Farmacopéia Brasileira".

Art 7º O emprêgo de novos aditivos dependerá de aprovação pela Comissão Permanente a que se refere o presente Decreto, devendo a solicitação prévia ser instruída com os seguintes elementos:

- a) finalidade do uso do aditivo;
- b) relação dos alimentos aos quais se deseja incorporá-lo;
- c) natureza química e suas propriedades;
- d) documentação científica, com os resultados das provas efetuadas, de ser o mesmo inócuo na quantidade que se propõe usar;
- e) detalhes sobre as medidas a serem tomadas pelo fabricante para o controle do aditivo no alimento, inclusive métodos de análises qualitativa e quantitativa;
- f) nome do tecnologista responsável.

Art 8º É proibido o uso de aditivo em alimentos quando:

- 1) houver evidência ou suspeita de que o mesmo possui toxicidade atual ou potencial;
- 2) interferir sensível e desfavoravelmente no valor nutritivo do alimento;
- 3) servir para encobrir falhas no processamento e nas técnicas de manipulação;
- 4) encobrir alteração ou adulteração na matéria prima ou do produto já elaborado;
- 5) induzir o consumidor a erro, engano ou confusão;
- 6) não satisfazer as exigências do presente decreto.

Art 9º Os alimentos que contiverem aditivos deverão trazer, na rotulagem, a indicação dos aditivos utilizados, explicitamente ou em código, a juízo da autoridade competente, devendo, porém, em ambos os casos, ser mencionada, por extenso, a respectiva classe.

Art 10. Os corantes tolerados pelo presente Decreto compreendem: corantes naturais, caramelo e corantes artificiais.

§ 1º Considera-se "corante natural" o pigmento ou corante inócuo extraído de substância vegetal ou animal.

§ 2º Considera-se "caramelo" o produto obtido, a partir de açúcares, pelo aquecimento e temperatura superior ao seu ponto de fusão e ulterior tratamento indicado pela tecnologia.

§ 3º Considera-se "corante artificial" a substância, corante artificial de composição química definida, obtida por processo de síntese.

Art 11. Nos alimentos contendo corante artificial é obrigatória a declaração "Colorido Artificialmente".

Art 12. Será obrigatório constar da rotulagem do corante: o número do registro; o nome comercial do sinônimo oficialmente reconhecido conforme discriminação deste Decreto e ainda a declaração de que se destina a gêneros alimentícios.

Art 13. Será tolerada a venda de mistura ou solução de, no máximo, três corantes.

Parágrafo único. Deverá constar da rotulagem da mistura ou da solução posta à venda sua composição qualitativa e quantitativa, bem como o número de registro dos corantes componentes.

Art 14. Será tolerado nos alimentos emprêgo de mistura de antioxidantes na dose máxima de 0,02g (dois centígramas) por cento no total, ressalvados os casos previstos na Tabela I, anexa.

Art 15. Os flavorizantes e os aromatizantes tolerados no presente Decreto compreendem: essências naturais, essências artificiais, extratos vegetais aromáticos e flavorizantes quimicamente definidos.

Art 16. Considera-se "essência natural", "óleo essencial", "óleo etéreo" ou simplesmente "essência", o produto aromático, sávido, volátil, sob a forma oleosa, extraído de vegetais.

§ 1º As essências naturais, puras ou em mistura, podem ser apresentadas "in natura" ou adicionadas de outras substâncias próprias para uso alimentar, devendo constar da rotulagem a natureza do veículo e a concentração da essência.

§ 2º As essências naturais podem ser privadas de algum de seus componentes, desde que satisfaçam às exigências relativas às essências no que lhes seja aplicável, devendo constar da rotulagem as modificações sofridas.

Art 17. Considera-se "essência artificial" o produto constituído por substâncias artificiais aromáticas, contendo ou não substâncias extraídas de vegetais.

Parágrafo único. As essências artificiais podem ser apresentadas em solução ou adicionadas de outras substâncias próprias para uso alimentar, devendo constar da rotulagem a natureza do diluente e o teor da essência.

Art 18. Considera-se "extrato vegetal aromático" o produto aromático e sávido obtido de plantas ou de partes de plantas.

Art 19. Considera-se "flavorizante quimicamente definido" o principio ativo aromático e sávido, natural ou sintético, quimicamente definido.

Art 20. É proibida, aos flavorizantes, a adição:

- a) de corantes, exceto o caramelo;
- b) de substâncias de efeitos fisiológicos indeterminados;
- c) das seguintes substâncias:

Ácidos minerais; ácidos cianídrico e seus derivados; ácido salicílico, seus sais e seus ésteres; ácidos benzóico seus sais e seus ésteres; ésteres de ácido nitroso; ésteres do ácido nítrico; brometo, cloreto e iodeto de etíla; cloroformio; éter etílico; álcool metílico; nitro benzeno; etileno glicol; di-etileno glicol; di-etileno glicol etil-éter; cumarina e outras substâncias prejudiciais à saúde.

Art 21. Nos alimentos contendo essência artificial ou flavorizante sintético será obrigatório a declaração; "Aromatizado artificialmente".

Art 22. Ficam sujeitos ao presente Decreto os produtos alimentícios importados.

Art 23. Os produtos alimentícios destinados a exportação poderão ser especialmente fabricados de acôrdo com as normas sôbre aditivos do país a que se destinem, devendo, nestas circunstâncias, constar da rotulagem a declaração: "Produto destinado a exportação, não podendo ser vendido no território nacional."

Art 24. Constituí infração passível de sanções prevista na legislação em vigor fabricar, manter em dispósito, expor à venda ou dar ao consumo produtos em desacôrdo com o presente Decreto.

Art 25. Fica instituída uma Comissão Permanente de Aditivos para Alimentos (C.P.A.A.), vinculada ao Ministério da Saúde e integrada por um (1) representante da Comissão Nacional de Alimentação, um (1) representante do Serviço de Inspeção de Produtos Agropecuários e Materiais Agrícolas, um (1) representante do Instituto de Fermentação, um (1) representante do Instituto Adolfo Lutz, um (1) representante do Instituto Dr. Francisco Albuquerque, um (1) representante do Laboratório Central de Contrôle de Drogas, Medicamentos e Alimentos, um (1) representante do Serviço Nacional de Fiscalização da Medicina e Farmácia e um (1) técnico em Bromatologia indicado pela Confederação Nacional da Indústria, sob a presidência do Diretor-Geral do Departamento Nacional de Saúde.

Art 26. Competirá à C.P.A.A. a que se refere o artigo anterior:

- a) dipor sôbre a forma do seu funcionamento;
- b) elaborar e rever a lista dos aditivos cuja adição direta ao alimento seja permitida, fixando os respectivos limites de tolerância e estabelecendo seus padrões de identidade e qualidade;
- c) elaborar e rever a lista dos "aditivos incidentais" fixado o respectivo limite de tolerância e estabelecendo, quando necessário, padrões de identidade e qualidade;
- d) encaminhar suas resoluções e deliberações diretamente para publicação nos órgãos oficiais.

§ 1º As listas a que se refere êste artigo poderão ser revista por iniciativa da C.P.A.A. ou a requerimento da parte interessada.

§ 2º A proposta de modificação, a que se refere o parágrafo anterior, será formulada na conformidade das normas aprovadas pela C.P.A.A.

§ 3º As resoluções da C.P.A.A. serão publicadas nos órgãos oficiais, podendo delas ser dado conhecimento aos interessados mediante circulares.

§ 4º As deliberações da C.P.A.A. produzirão efeito na data da sua publicação em órgão oficial, excetuados os casos em que a própria C.P.A.A. fixar prazo especial.

§ 5º Caberá recurso de decisão da C.P.A.A. a ela endereçado e sôbre o qual a mesma disporá na forma estabelecida em conformidade com a alínea " a " dêste artigo.

Art 27. A C.P.A.A. reunir-se-á no período de fevereiro a novembro de cada ano, ordinariamente duas vêzes por mês, e extraordinariamente desde que convocada por seu presidente, por iniciativa própria ou a requerimento de mais de um têtço de seus membros.

Art 28. Caberá aos diretores das repartições indicadas no artigo 25 designar os respectivos representantes e seus suplentes.

Art 29. Os membros da C.P.A.A. farão jus a gratificação de categoria A, até o máximo de 4 (quatro) reuniões mensais, na forma do Decreto nº 55.090, de 28 de novembro de 1964, correndo as despesas por conta da dotação que couber, do Ministério da Saúde.

Art 30. Ficam mantidos os aditivos constantes das tabelas anexas aos Decretos nº s 50.040-61 e 691-62 com as alterações introduzidas nas Tabelas, que acompanham o presente Decreto, pela Comissão Permanente, instituída pelo art. 25 do Decreto número 50.040-61.

§ 1º A C.P.A.A. poderá excluir qualquer dos aditivos anteriormente permitidos, incluir novos aditivos ou alterar os limites de adição anteriormente fixados, desde que nova concepção científica ou técnica contrarie convicção estabelecida quanto à sua inocuidade ou limites de tolerância.

§ 2º As alterações a que se refere o parágrafo anterior deverão ser devidamente fundamentadas e o teor dessa fundamentação será levado ao conhecimento dos interessados.

Art 31. A aplicação do presente Decreto incumbe em cada caso às autoridades sanitárias federais, estaduais ou municipais, que aplicarão as sanções decorrentes do seu não cumprimento, nos termos da legislação ordinária vigente.

Art 32. Êste Decreto entrará em vigor na data de sua publicação, revogadas as disposições em contrário.

Brasília, 26 de março de 1965; 144º da Independência e 77º da República.

H. Castello Branco

Raymundo de Britto

ANEXO

Contaminantes Inorgânicos

Contaminante Inorgânicos	Alimentos em que podem ser encontrados	Limite Máximo de Tolerância LMT (ppm)
Antimônio	Bebidas alcoólicas fermentadas	0,20
	Bebidas alcoólicas fermento-destiladas	0,20
	Refrescos e refrigerantes	0,20
	Sucos de frutas e xaropes naturais	1,00
	Outros alimentos	2,00
Arsênio	Bebidas alcoólicas fermentadas	0,20
	Bebidas alcoólicas fermento-destiladas	0,10
	Refrescos e refrigerantes	0,20
	Sucos de frutas e xaropes naturais	0,50
	Outros alimentos	1,00
Cádmio	Bebidas alcoólicas fermentadas	0,50
	Bebidas alcoólicas fermento-destiladas	0,20
	Refrescos e refrigerantes	0,20
	Sucos de frutas e xaropes naturais	0,50
	Outros alimentos	1,00
Cobre	Bebidas alcoólicas fermentadas	5,00
	Bebidas alcoólicas fermento-destiladas	10,00
	Refrescos e refrigerantes	5,00
	Sucos de frutas e xaropes naturais	30,00
	Outros alimentos	30,00
Cromo	Qualquer alimento	0,10

Estanho	Qualquer alimento	250,00	
Mercúrio	Peixes, crustáceos e moluscos	0,50	
	Qualquer outro alimento	0,01	
Níquel	Bebidas alcoólicas fermentadas	0,10	
	Bebidas alcoólicas fermento-destiladas	3,00	
	Refrescos e refrigerantes	0,10	
	Sucos de frutas e xaropes naturais	3,00	
	Produtos hidrogenados	4,00	
	Outros alimentos	5,00	
Selênio	Alimentos sólidos	0,30	
	Alimentos líquidos	0,05	
Zinco	Bebidas alcoólicas fermentadas	5,00	
	Bebidas alcoólicas fermento-destiladas	5,00	
	Refrescos e refrigerantes	5,00	
	Sucos de frutas e xaropes naturais	25,00	
	Outros alimentos	50,00	
Chumbo	Origem animal	"in natura"	Industrializado
	Carnes	0,50	1,00
	Aves	0,20	1,00
	Pescado	2,00	2,00
	Leite	0,05	0,05
	Derivados do leite:	.	.
	queijo	-	1,00
	manteiga	-	0,10
	outros	-	0,20
	Ovos	0,10	0,20
	Origem vegeta	.	.
	Bulbos	0,50	0,50
	Raízes e tubérculos	0,50	0,50
	Cereais	0,50	0,50
	Hortaliças	0,50	0,50
	Leguminosas	0,50	0,50
	Frutas (exceto sucos, néctares, cristalizadas ou glaceadas)	0,50	0,50
	Sucos e néctares de frutas	-	0,40
	Frutas cristalizadas ou glaceadas	-	1,00
	Oleaginosas	0,20	0,20
	Específico		
	Óleos e gorduras	-	0,10
	Margarina	-	0,10
	Refrescos e refrigerantes	-	0,20
	Bebidas alcoólicas	-	0,50
	Cacau (exceto manteiga de cacau e chocolate adoçado)	-	2,00
	Manteiga de cacau	-	0,50

	Chocolate adoçado	-	1,00
	Chocolate não adoçado	-	2,00
	Açúcar (sacarose)	-	2,00
	Dextrose (glicose)	-	2,00
	Frutose	-	0,50
	Xarope de glicose	-	2,00
	Lactose	-	2,00
	Café torrado e moído	-	1,00
	Alimento infantil	-	0,20
	Caseína e caseinatos	-	2,00
	Outros	0,80	0,80

7.2 Anexo 2: PORTARIA ANVISA N^o 685, DE 27 DE AGOSTO DE 1998

O Secretário de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde, no uso de suas atribuições legais e considerando: a necessidade de constante aperfeiçoamento das ações de controle sanitário na área de alimentos visando a proteção à saúde da população;

que é indispensável o estabelecimento de regulamentos técnicos sobre contaminantes em alimentos, com vistas a minimizar os riscos à saúde humana;

o previsto na Resolução GMC 126/94, que determina que a legislação nacional se mantém vigente em cada país até que sejam harmonizados instrumentos quadripartites específicos e estes sejam devidamente incorporados ao ordenamento jurídico nacional; os pontos já harmonizados no MERCOSUL sobre o tema (Resoluções GMC 102/94, 103/94 e 35/96), resolve:

Art. 1^o Aprovar o Regulamento Técnico: "Princípios Gerais para o Estabelecimento de Níveis Máximos de Contaminantes Químicos em Alimentos" e seu Anexo: "Limites máximos de tolerância para contaminantes inorgânicos".

Parágrafo único - Nos casos dos alimentos não contemplados no presente Regulamento, permanecem vigentes os limites máximos de tolerância para contaminantes inorgânicos já previstos na legislação nacional.

Art. 2^o Esta Portaria entra em vigor na data de sua publicação revogando-se as disposições em contrário.

GONZALO VECINA NETO

REGULAMENTO TÉCNICO

PRINCÍPIOS GERAIS PARA O ESTABELECIMENTO DE NÍVEIS MÁXIMOS DE CONTAMINANTES QUÍMICOS EM ALIMENTOS

1 Serão estabelecidos níveis máximos de contaminantes (micotoxinas, contaminantes inorgânicos, resíduos de pesticidas, medicamentos de uso veterinário e de migrantes de embalagens e equipamentos em contato com alimentos) em alimentos que constituam riscos à saúde humana tendo por base as seguintes informações:

- 1.1 Regulamentos técnicos que definam níveis máximos de contaminantes em alimentos no âmbito regional e/ou internacional.
- 1.2 Dados representativos da região sobre: incidência do contaminante, antecedentes do problema detectado, dados analíticos e indicações sobre os possíveis problemas para a saúde.
- 1.3 Relação dos alimentos de maior importância comercial entre os Estados-Partes.
- 1.4 Dados e informações toxicológicas.
- 1.5 Normas, diretrizes ou recomendações da Comissão do Codex Alimentarius, União Européia, FDA ou outros organismos reconhecidos internacionalmente.
- 1.6 Dados existentes na literatura científica.
- 1.7 Boas práticas agrícolas, pecuárias, industriais e analíticas.
- 1.8 Possibilidades tecnológicas da região.

2. O estabelecimento dos níveis máximos de contaminantes será realizado levando-se em conta, além do estabelecido no ponto 1, o seguinte:

- 2.1 Estabelecer níveis máximos de contaminantes em alimentos industrializados específicos, quando se justifique em termos de proteção à saúde humana. Nestes casos, devem ser estabelecidos previamente níveis de contaminação nos produtos primários.
- 2.2 Os níveis máximos de contaminantes em alimentos serão considerados na avaliação de impacto à saúde do consumidor.
- 2.3 Os níveis máximos serão fundamentados em princípios científicos.
- 2.4 Quando necessário, os níveis máximos de contaminantes devem ser acompanhados dos sistemas de amostragem e metodologia analítica, assim como dos critérios de aceitação e rejeição.

3. Serão utilizados como guia para o sistema de classificação e numeração de contaminantes as referências do CODEX ALIMENTARIUS.

4. Os critérios de inclusão, exclusão ou modificação são estabelecidos nos pontos 1 e 2 deste Regulamento.

ANEXO

LIMITES MÁXIMOS DE TOLERÂNCIA PARA CONTAMINANTES INORGÂNICOS EM ALIMENTOS

1. ALCANCE

Este Regulamento Técnico estabelece os limites máximos de tolerância dos contaminantes inorgânicos: arsênio, cobre, estanho, chumbo, cádmio e mercúrio, nas classes de alimentos relacionadas abaixo.

2. LIMITES MÁXIMOS

ARSÊNIO

Gorduras vegetais	0,1 mg/kg
Gorduras e emulsões refinadas	0,1 mg/kg
Gorduras hidrogenadas	0,1 mg/kg
Açúcares	1,0 mg/kg
Caramelos e balas	1,0 mg/kg
Bebidas alcoólicas fermentadas	0,1 mg/kg
Bebidas alcoólicas fermento-destiladas	0,1 mg/kg
Cereais e produtos a base de cereais	1,0 mg/kg
Gelados comestíveis	1,0 mg/kg
Ovos e produtos de ovos	1,0 mg/kg
Leite fluído, pronto para o consumo	0,1 mg/kg
Mel	1,0 mg/kg
Peixe e produtos de peixe	1,0 mg/kg
Produtos de cacau e derivados	1,0 mg/kg
Chá, mate, café e derivados	1,0 mg/kg

COBRE

Óleos e gorduras virgens	0,4 mg/kg
Óleos, gorduras e emulsões refinadas	0,1 mg/kg
Caramelos e balas	10 mg/kg
Bebidas alcoólicas fermentadas	10 mg/kg
Frutas, hortaliças e sementes oleaginosas in natura e industrializadas	10 mg/kg
Gelados comestíveis	10 mg/kg
Lactose	2,0 mg/kg
Mel	10 mg/kg

ESTANHO

Sucos de frutas cítricas (enlatados)	150 mg/kg
--------------------------------------	-----------

CHUMBO

Óleos, gorduras e emulsões refinadas	0,1 mg/kg
Caramelos e balas	2,0 mg/kg
Cacau (exceto manteiga de cacau e chocolate adoçado)	2,0 mg/kg
Chocolate adoçado	1,0 mg/kg
Dextrose (glucose)	2,0 mg/kg
Sucos de frutas cítricas	0,3 mg/kg
Leite fluído, pronto para consumo	0,05 mg/kg
Peixes e produtos de pesca	2,0 mg/kg
Alimentos para fins especiais, preparados especialmente para lactentes e crianças até três anos)	0,2 mg/kg
Partes comestíveis cefalópodes	2,0 mg/kg

CÁDMIO

Peixes e produtos da pesca	1,0 mg/kg
----------------------------	-----------

MERCÚRIO

Peixes e produtos da pesca (exceto predadores)	0,5 mg/kg
Peixes predadores	1,0 mg/kg

7.3. Anexo 3: Fotos dos cones usados no ICP-MS quando a introdução da amostra foi realizada por ETV.

	<p>Aspecto dos cones antes das análises</p>
	<p>Aspecto dos cones depois das análises (aproximadamente 8 h de trabalho)</p>