



UNIVERSIDADE FEDERAL DE RORAIMA  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA  
MESTRADO EM QUÍMICA

MAGDA MÁRCIA BECKER

**MÉTODOS DE QUANTIFICAÇÃO DE ESPÉCIES METÁLICAS POR  
ESPECTROMETRIA ATÔMICA E AVALIAÇÃO NUTRICIONAL EM TECIDOS DE  
JAMBÚ (*Acmella oleracea*)**

BOA VISTA

2012

MAGDA MÁRCIA BECKER

**MÉTODOS DE QUANTIFICAÇÃO DE ESPÉCIES METÁLICAS POR  
ESPECTROMETRIA ATÔMICA E AVALIAÇÃO NUTRICIONAL EM TECIDOS DE  
JAMBÚ (*Acmella oleracea*)**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Química do Programa de Pós-Graduação em Química – PPGQ da Universidade Federal de Roraima como pré-requisito para obtenção do título de Mestre em Química na área de concentração Análise de Traços em Matrizes Ambientais.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Teresa Maria Fernandes de Freitas Mendes

Boa Vista

2012

Dados Internacionais de Catalogação na publicação (CIP)  
Biblioteca Central da Universidade Federal de Roraima

B395m Becker, Magda Márcia

Métodos de quantificação de espécies metálicas por espectrometria atômica e avaliação nutricional em tecidos de Jambú (*Acmella oleracea*) - RR. -- Boa Vista, 2012.

78 p.

Orientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Teresa Maria Fernandes de Freitas Mendes.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Roraima, Programa de Pós-Graduação em Química.

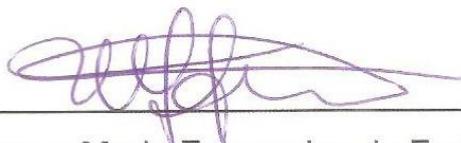
1 – *Acmella oleracea*. 2 – Tecidos vegetais. 3 – Metais. 4 – Tratamento de amostras. – Nutrientes. I - Título. II – Mendes, Teresa Maria Fernandes de Freitas (orientador).

CDU 635.1(811.4)

MAGDA MÁRCIA BECKER

**MÉTODOS DE QUANTIFICAÇÃO DE ESPÉCIES METÁLICAS POR  
ESPECTROMETRIA ATÔMICA E AVALIAÇÃO NUTRICIONAL EM TECIDOS DE  
JAMBÚ (*Acmella oleracea*)**

Dissertação apresentada como pré-requisito para conclusão do Curso de Mestrado em Química da Universidade Federal de Roraima, defendida em 27 de abril de 2012 e avaliada pela seguinte banca examinadora:



---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Teresa Maria Fernandes de Freitas Mendes  
Orientadora/Departamento de Química - UFRR



---

Prof. Dr. Henrique Eduardo Bezerra da Silva  
Departamento de Química - UFRR



---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ivanise Maria Rizzatti  
Departamento de Química - UERR

À Deus

“Por mais uma graça concedida”.

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus pela família, trabalho, estudos e pela vida repleta de bênçãos;

À minha Mãe Noeli Rost Becker, ao meu Pai Pedro Mário Becker, à minhas Irmãs Mírian Mirna Becker, Mônica Elaine Becker e em especial, à Marina Nádia Becker pelo auxílio e incentivo durante a realização deste trabalho;

Ao meu Esposo Jonathan Alberto Oliveira, pela infinda amizade, compreensão e apoio constantes que foram fonte de energia para vencer os desafios;

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Teresa Maria Fernandes de Freitas Mendes pela orientação, conhecimentos compartilhados e pela amizade;

Ao Prof. Dr. Henrique Eduardo Bezerra da Silva pelas contribuições e boa vontade com que sempre me atendeu;

Ao Prof. Nivaldo Baccan pelas valorosas contribuições para o desenvolvimento deste trabalho;

Aos Pesquisadores da EMBRAPA Pecuária Sudeste, Dr<sup>a</sup>. Ana Rita de Araújo Nogueira e Dr. Gilberto Batista de Souza, pela disponibilização do material de referência utilizado;

À Dr<sup>a</sup>. Andrea Flores pela colaboração na identificação taxonômica das amostras;

Aos Professores do Mestrado em Química Ambiental pela efetiva participação em minha formação;

Aos amigos e colegas do Laboratório de Grãos, Candice Nóbrega, Rubem Camelo, Viviane Belo, Vânia Teles, Maria Gilda Santos, Carlos Alberto de Souza, Ramon Luciano Hayd, Marcos Denny, Maria da Consolação Pires, Leovergildo Farias e José Satelles pelo companheirismo e momentos de descontração;

A todos os amigos que auxiliaram de alguma forma na conclusão deste trabalho;

Ao CNPq/INCTAA e FINEP pelo apoio financeiro.

## RESUMO

O jambú (*Acmella oleracea*), hortaliça empregada na culinária e na medicina popular no Norte do Brasil, tem sido objeto de pesquisas em diversas áreas revelando aplicações promissoras. Entretanto, são encontrados poucos registros relacionados à sua composição e valor nutricional inorgânico. Neste estudo, foram desenvolvidos dois métodos de tratamento de amostras, calcinação (CA) e digestão úmida (DU), para a quantificação de K, Na e Li por Fotometria de Chama e Ca, Cu, Fe, Mn, Ni e Zn por Espectrometria de Absorção Atômica por Chama, em amostras de folhas (**Fo**), flores (**FI**) e folhas-flores (**Fo-FI**) de jambú produzidas e comercializadas em Boa Vista/RR, considerando a complexidade das matrizes, a otimização instrumental para cada espécie estudada, a eficiência analítica e laboratorial por meio de experimentos de adição e recuperação de analitos e por comparação com Material de Referência (MR) de *Braquiária brizantha* e a essencialidade e/ou toxicidade das espécies sob estudo nos limites de tolerância fisiológicos. Os métodos CA e DU mostraram-se eficientes para todas as espécies metálicas nas amostras sob estudo, com desvios padrões relativos abaixo de 10 % para a maioria das espécies e recuperações na faixa de 90 a 110 %, exceto para o Li no método DU, em que necessita de otimizações. Os teores de Cu se mostram próximos e os de Ni abaixo dos seus respectivos limites de quantificação (LOQs), em ambos os métodos e para todas as amostras. Porém, o método DU exhibe melhores LOQs para o Ca, Cu, Fe e Zn, enquanto o método CA para o K, Mn, Na e Ni e para o Li, os resultados são semelhantes. Os testes estatísticos, **F** e **t** emparelhado (95 % de confiança) aplicados aos resultados dos dois métodos mostram não existir diferenças significativas entre as suas precisões e concentrações em todas as espécies, bem como entre as amostras de **Fo** e **Fo-FI**. As quantificações do MR com o uso dos métodos estabelecidos evidenciam o bom desempenho laboratorial e a aplicabilidade destes métodos em outras matrizes ambientais, exceto para o Fe no método CA para o qual são necessárias adequações. Além disso, os métodos são promissores para a determinação de outras espécies metálicas. De modo geral, o método CA apresenta em relação ao método DU, menores: número de reagentes, quantidades de resíduos, etapas de manipulação e riscos de contaminações da amostra. No entanto o método CA apresenta baixa velocidade de destruição da matéria orgânica e elevado consumo de energia elétrica. Logo, os métodos apresentam vantagens e desvantagens, um em relação ao outro, inerentes aos tratamentos aplicados. Quanto ao potencial nutricional do jambú, recomenda-se sua inserção na dieta humana, visto que a ingestão de 50 g em massa úmida desta hortaliça contribui com altos teores em Li e Mn, sendo as **FI** fontes em Cu. Os resultados obtidos para as espécies metálicas, cinzas e umidade nas amostras estudadas se mostram próximos aos de alguns dados da literatura. Os resultados demonstram novas opções de métodos de tratamento de amostras para a quantificação de espécies metálicas em tecidos vegetais, bem como assinalam novas informações sobre alimentos consumidos nacionais que poderão ser úteis na complementação de bases de dados de composição mineral e na popularização do jambú como fonte nutricional.

Palavras-chaves: *Acmella oleracea*; tecidos vegetais; metais; tratamento de amostras; nutrientes.

## ABSTRACT

The jambu (*Acmella oleracea*), vegetable used in cooking and in popular medicine in northern Brazil, has been the subject of research in several areas showing promising applications. However, few records are found related to its inorganic composition and nutritional value. In this study, two methods were developed for treatment of samples, calcination (CA) and wet digestion (DU), for the quantification of K, Na and Li by Flame Photometry and Ca, Cu, Fe, Mn, Ni and Zn by Flame Atomic Absorption Spectrometry in leaf samples (**Fo**), flowers (**FI**) and leaves-flowers (**Fo-FI**) of jambu produced and marketed in Boa Vista/RR, considering the complexity of the matrices, the instrumental optimization for each species studied, the analytical and laboratory efficiency by analytes addition and recovery experiments and comparison with *Brachiaria brizantha* Reference Material (MR) and the importance and / or toxicity of the studied species in the limits of physiological tolerance. The CA and DU methods were efficient for all metallic species in the studied samples, with relative standard deviations below 10 % for most species and recoveries in the range of 90 to 110 %, except for the Li in DU method, that requires optimization. Cu contents are shown next and the Ni below their respective limits of quantitation (LOQs), in both methods and for all samples. However, the DU method showed improved LOQs for Ca, Cu, Fe and Zn, while the CA method for K, Mn, Na and Ni, and for the Li the results are similar. Statistical tests, **F** and paired **t** (95% confidence) applied to the results of both methods show that there aren't significant differences between their accuracy and concentrations in all species, and between samples of **Fo** and **Fo-FI**. The quantification of MR with the use of established methods show good performance laboratory methods and their applicability in other environmental matrices, except for Fe in the CA method that are necessary adjustments. Furthermore, methods are promising for the determination of other metallic species. In general, the CA method presents in compared to the DU method, lower: the number of reactants, amounts of waste, handling steps and the risk of contamination of the sample. However, the CA method presents a low rate of destruction of organic matter and high energy consumption. Therefore, the methods have advantages and disadvantages, one over the other, attached to the treatments. In relation of the jambu nutritional potential, it is recommended for insertion in the human diet, whereas the intake of 50 g wet weight of this vegetable contributes a high content of Li and Mn, and the **FI** are a Cu sources. The results obtained for the metallic species, ash and moisture in the samples studied are shown next to some literature data. The results show new methods options for processing samples for quantification of metallic species in plant tissues, as well as new information on national food consumed could be useful in complementation databases mineral composition and jambu popularization with a source nutrition.

Keywords: *Acmella oleracea*; vegetables tissues; metals; samples treatment; nutrients.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Jambú e inflorescências .....	18
FIGURA 2 - Morfologia do jambú e de suas inflorescências .....	19
FIGURA 3 - Distribuição geográfica de populações de jambú no Brasil .....	21
FIGURA 4 - Estrutura do N-isobutil-2 <i>E</i> ,6 <i>Z</i> ,8 <i>E</i> -decatrienamida.....	25
FIGURA 5 - Esquema das reações que ocorrem na chama .....	35
FIGURA 6 - Esquema do FAAS .....	36
FIGURA 7 - Esquema de funcionamento do FOC.....	39
FIGURA 8 - Amostras de jambú calcinadas, utilizando Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> como fundente ....	48

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Composição química do jambú, IDR e porcentagem da IDR para 50 g em massa úmida de folhas de jambú .....	24
TABELA 2 - Classificação dos métodos de tratamento de amostras .....	30
TABELA 3 - Condições experimentais de operação da FAAS .....	45
TABELA 4 - Condições experimentais de operação da FOC .....	45
TABELA 5 - Etapas do programa de aquecimento em forno mufla .....	47
TABELA 6 - Etapas do programa de digestão úmida em bloco digestor .....	48
TABELA 7 - Resultados para o método CA, em massa seca, nas amostras de <b>Fo</b> , <b>Fo-FI</b> e <b>FI</b> de jambú e para o MR (n=3), com seus respectivos RSDs, acompanhados dos valores declarados para o MR pela EMBRAPA Pecuária Sudeste .....	54
TABELA 8 - Resultados do <b>Índice Z</b> (z score) calculado para as espécies metálicas obtidas para o MR pelo método CA .....	55
TABELA 9 - Valores de <b>F</b> e <b>t</b> calculados para os resultados nas amostras de <b>Fo</b> e <b>Fo-FI</b> de jambú .....	57
TABELA 10 - Resultados para o método DU, em massa seca, nas amostras de <b>Fo</b> e <b>FI</b> de jambú e para o MR (n=3), com seus respectivos RSDs, acompanhados dos valores declarados para o MR pela EMBRAPA Pecuária Sudeste .....	58
TABELA 11 - Resultados do <b>Índice Z</b> (z score) quando comparadas as concentrações obtidas do MR pelo método DU .....	59
TABELA 12 - Valores de <b>F</b> calculados para os resultados obtidos com o uso dos métodos CA e DU nas amostras de <b>Fo</b> e <b>FI</b> de jambú .....	60
TABELA 13 - Valores de <b>t</b> calculados para os resultados obtidos com o uso dos métodos CA e DU nas amostras de <b>Fo</b> e <b>FI</b> de jambú .....	61
TABELA 14 - Valores da IDR em minerais, porcentagem da IDR contemplada em 50 g em massa úmida das amostras de <b>Fo</b> e <b>FI</b> de jambú e suas classificações quanto à fonte nutricional .....	64
TABELA 15 - Comparação entre as faixas de concentrações dos nutrientes (mg/100g) obtidos pelo método CA, cinzas (%) e a umidade (%), nas amostras de <b>FI</b> de jambú com valores da literatura .....	66

TABELA 16 - Comparação entre as faixas de concentrações dos nutrientes (mg/100g) obtidos pelo método CA, cinzas (%) e a umidade (%), nas amostras de <b>Fo</b> de jambú com valores da literatura .....	67
---	----

## SÍMBOLOS E ABREVIações

**CA:** Método por Calcinação

**DU:** Método por Digestão Úmida

**EDL:** do inglês *Electrodeless Discharge Lamp* (Lâmpada de Descarga sem Eletrodo)

**EMBRAPA:** Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

**ETAAS:** do inglês *Eletrothermal Atomic Absorption Spectrometry* (Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica)

**FAAS:** do inglês *Flame Atomic Absorption Spectrometry* (Espectrometria de Absorção Atômica por Chama)

**FAO:** do inglês *Food and Agriculture Organization* (Organização de Alimentos e Agricultura das Nações Unidas)

**FDA:** do inglês *Food and Drug Administration* (Administração de Alimentos e Drogas dos Estados Unidos da América)

**FI:** Flores de jambú

**Fo:** Folhas de jambú

**Fo-FI:** Folhas e Flores de jambú

**FOC:** Fotometria de Chama

**GLP:** Gás Liquefeito de Petróleo

**HCL:** do inglês *Hollow Cathode Lamp* (Lâmpada de Catodo Oco)

**HG-AAS:** do inglês *Hydride Generation – Atomic Absorption Spectrometry* (Espectrometria de Absorção Atômica por Geração de Hidretos)

**IBGE:** Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

**ICP-OES:** do inglês *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry* (Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado)

**ICP-MS:** do inglês *Inductively Coupled Plasma Masses Spectrometry* (Espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado)

**IDR:** Ingestão Diária Recomendada

**INAA:** do inglês *Instrumental Neutron Activation Analysis* (Análise instrumental por ativação com Nêutrons)

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

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

**MR:** Material de Referência

**ND:** Não Determinado

**OMS:** Organização Mundial de Saúde

**PE:** Ponto de Ebulição

**POF:** Pesquisa de Orçamentos Familiares

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

**SUS:** Sistema Único de Saúde

$\lambda$ : Comprimento de onda

$M^*$ : Átomo no estado excitado

$M^\circ$ : Átomo no estado gasoso fundamental

$\bar{x}$ : Média das determinações amostrais

$\mu$ : Média populacional

**A:** Intensidade da radiação absorvida ou absorvância

**C:** Concentração do analito na amostra

$E_1$ : nível energético do átomo no estado gasoso fundamental

$E_2$ : nível energético do átomo excitado

**h:** Constante de Planck

**I:** Intensidade da radiação transmitida após passar pela amostra

$I_0$ : Intensidade da radiação incidente na amostra

**K:** Constante de proporcionalidade da Lei de Lambert-Beer

**m:** Inclinação da curva analítica

**s:** Desvio padrão amostral

**s<sub>br</sub>:** Desvio padrão do sinal do branco das amostras

**S<sub>br</sub>:** Desvio padrão do sinal do branco dos padrões

$S_{real}$ : Desvio padrão declarado para o MR

$\bar{X}_{real}$ : Média das determinações declaradas para o MR

$\bar{X}_{lab}$ : Média das determinações obtidas neste estudo para o MR

**Z:** Índice Z

**$\Delta E$ :** Variação da energia absorvida ou liberada

$\sigma$ : Desvio padrão populacional

$\nu$ : Freqüência da radiação

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	14
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	16
<b>3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	17
3.1 O INCENTIVO AO CONSUMO DE VEGETAIS .....	17
3.2 JAMBÚ [ <i>Acmella oleracea</i> (L.) R. K. Jansen] .....	18
<b>3.2.1 Classificação botânica e aspectos morfológicos</b> .....	18
<b>3.2.2 Cultura e distribuição geográfica</b> .....	20
<b>3.2.3 Aplicações culinárias, farmacológicas e defensivas</b> .....	21
<b>3.2.4 Composição química</b> .....	23
3.3 DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS ANALÍTICOS NO ESTUDO DE AMOSTRAS REAIS .....	27
<b>3.3.1 Tratamento de amostras para análise elementar</b> .....	29
3.3.1.1 Calcinação (CA) .....	31
3.3.1.2 Digestão úmida em bloco digestor (DU) .....	33
3.4 TÉCNICAS UTILIZADAS .....	34
<b>3.4.1 ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA POR CHAMA (FAAS)</b> .....	36
<b>3.4.2 FOTOMETRIA DE CHAMA (FOC)</b> .....	38
3.5 DETERMINAÇÃO DE ESPÉCIES METÁLICAS EM VEGETAIS .....	40
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	44
4.1 MATERIAIS E EQUIPAMENTOS .....	44
<b>4.1.1 ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA POR CHAMA (FAAS)</b> .....	44
<b>4.1.2 FOTOMETRIA DE CHAMA (FOC)</b> .....	45
4.2 MÉTODOS .....	46
<b>4.2.1 Amostras e Amostragem</b> .....	46
<b>4.2.2 Preparação das amostras</b> .....	46
<b>4.2.3 Tratamento das amostras</b> .....	47
4.2.3.1 Calcinação (CA) .....	47
4.2.3.2 Digestão úmida em bloco digestor (DU) .....	48
<b>4.2.4 Determinação de umidade e cinzas</b> .....	49
4.2.4.1 Umidade .....	49
4.2.4.2 Cinzas .....	49

<b>4.2.5 Figuras de Mérito</b> .....	49
4.2.5.1 Precisão .....	49
4.2.5.2 Limite de Detecção (LOD) e Limite de Quantificação (LOQ) .....	50
4.2.5.3 Exatidão .....	51
<b>4.2.6 Comparação dos resultados entre os métodos</b> .....	52
<b>4.2.7 Avaliação nutricional do jambú</b> .....	52
<b>4.2.8 Tratamento dos resíduos gerados</b> .....	52
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	53
5.1 CALCINAÇÃO (CA).....	53
5.2 DIGESTÃO ÚMIDA EM BLOCO DIGESTOR (DU) .....	57
5.3 COMPARAÇÃO ENTRE OS MÉTODOS CA E DU.....	60
5.4 AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DO JAMBÚ .....	63
<b>6. CONCLUSÕES</b> .....	68
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	70

## 1. INTRODUÇÃO

Hortalças são altamente nutritivas por serem fontes em vitaminas, espécies metálicas, fibras, compostos antioxidantes, proteínas e outros elementos essenciais ao bom funcionamento do organismo humano e, por isso sua inserção na dieta alimentar têm sido incentivada a fim de reduzir o perfil pluricarenal vivenciado por algumas populações (KINUPP; BARROS, 2008).

Apesar da diversidade de hortalças nativas e adaptadas no Brasil, poucas são as pesquisas sobre o cultivo, a composição, o uso e a valorização desses vegetais na alimentação o que contribui para que sejam vistos como “matos”, alimentos aguados e sem sabores característicos (KINUPP, 2009).

O jambú (*Acmella oleracea*), comum em regiões tropicais, é uma hortalça que merece destaque quanto a sua utilização na alimentação e na medicina popular da região Norte do Brasil, onde são totalmente aproveitados as folhas, flores, hastes e talos (GUSMÃO *et al.*, 2006).

Este vegetal tem sido objeto de estudos químicos, biológicos, clínicos, farmacológicos, botânicos, agroecônômicos e agroquímicos, que têm revelado suas promissoras aplicações nas diversas áreas e despertado o interesse por pesquisadores em vários países (PRACHAYASITTIKUL *et al.*, 2009; REGADAS, 2008, CHUNG *et al.*, 2008; PHRUTIVORAPONGKUL *et al.*, 2008; WONGSAWATKUL *et al.*, 2008; LENNON; SCHUBNEL, 2007; RAHMAN *et al.*, 2007; BRAZ *et al.*, 2007; MALOSSO, 2007; NASCIMENTO-JAEHNKE, 2006; GUSMÃO *et al.*, 2006; CARLINI *et al.*, 2006; COUTINHO; APARECIDO; FIGUEREDO, 2006; TANGKANAKUL *et al.*, 2006; MAIGA *et al.*, 2005; OLIVEIRA; INNECCO; MATTOS, 2005; HIND, BIGGS, 2003; RAMSEWAK; ERICKSON; NAIR, 1999). Entretanto, no que se referem aos aspectos nutricionais desse vegetal, poucos são os dados relatados na literatura, especialmente de espécies metálicas. Isto limita a sua popularização em outras regiões brasileiras como alimento acessível, de baixo custo e fácil cultivo.

A determinação de espécies metálicas em matrizes ambientais como o jambú requer cuidados especiais, principalmente na etapa de tratamento da amostra, onde há o maior índice de perdas e contaminações (ARRUDA, 2006). Além disso, os processos convencionais de tratamento de amostras para a quantificação de espécies inorgânicas por espectrometria atômica requerem, em geral, grandes

quantidades de energia; temperaturas elevadas, que podem causar perdas por volatilização de algumas espécies; utilização de grandes quantidades de reagentes, que contribuem para uma maior geração de resíduos (WELNA; SZYMCZYCH-MADEJA; POHL, 2011).

Nesse sentido, este trabalho apresenta dois métodos analíticos, cujos tratamentos utilizam o forno mufla, calcinação (CA) e o bloco digestor, digestão úmida (DU), para a quantificação das espécies metálicas K, Li e Na por fotometria de chama (FOC) e Ca, Cu, Fe, Mn, Ni e Zn por espectrometria de absorção atômica por chama (FAAS) em três amostras compostas de jambú formadas por: folhas (**Fo**); flores (**Fl**); folhas e flores (**Fo-Fl**), tal como utilizado na culinária. No desenvolvimento destes métodos foi observado o menor consumo de reagentes, tempo de tratamento e menores riscos de contaminação das amostras, ou seja, suas integridades. Na determinação das espécies estudadas foram feitas as otimizações instrumentais, considerando a complexidade da matriz, a exatidão e precisão dos resultados.

Além disso, este trabalho apresenta também novas informações sobre o valor nutricional inorgânico do jambú que podem contribuir, tanto para os profissionais da saúde como para os consumidores em geral e favorecer a popularização e consumo deste vegetal.

## 2. OBJETIVOS

- Estabelecer diferentes estratégias para a determinação das espécies metálicas Ca, Cu, Fe, Mn, Ni e Zn por FAAS e K, Li e Na por FOC em amostras de folhas (**Fo**), flores (**FI**) e folhas e flores (**Fo-FI**) de jambú (*Acmella oleracea*) produzidas e comercializadas em Boa Vista/RR, considerando: a complexidade das matrizes; a otimização instrumental para cada espécie estudada; a eficiência analítica e laboratorial por meio de experimentos de adição e recuperação de analitos e por comparação com Material de Referência (MR) (ARV 9: *Braquiária brizantha*) produzido pela EMBRAPA Pecuária Sudeste.
- Comparar a composição entre as amostras, isto é, entre os diferentes tecidos estudados do jambú.
- Confrontar os métodos desenvolvidos quanto as suas vantagens e desvantagens em relação ao tempo de execução, economia de reagentes, etapas de manipulação e as possíveis perdas e/ou interferências para cada espécie estudada.
- Avaliar o potencial nutricional do jambú quanto à essencialidade e/ou toxicidade das espécies sob estudo, nos limites de tolerância fisiológicos.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Neste capítulo são apresentados alguns aspectos sobre o jambú como classificação botânica, aspectos morfológicos, aplicações e composição química, além de uma abordagem sobre o desenvolvimento de métodos analíticos para o estudo de amostras reais, em que são discutidos os métodos de tratamento de amostras e as técnicas FAAS e FOC utilizadas no desenvolvimento deste trabalho.

#### 3.1 O INCENTIVO AO CONSUMO DE VEGETAIS

A Organização Mundial de Saúde (OMS) tem promovido campanhas de estímulo ao consumo de frutas, legumes e hortaliças como meio contribuir para a correção nutricional e, conseqüentemente, para o perfeito funcionamento do organismo humano. Por oferecerem, geralmente, baixo valor energético, vitaminas, espécies metálicas e fibras, a ingestão adequada de vegetais auxilia na formação dos glóbulos vermelhos, ossos e cartilagens, na manutenção e cicatrização de lesões em tecidos, tais como a pele, olhos, dentes, gengivas, veias, artérias, nervos, entre outros (WHO, 2003).

Da mesma maneira, o Governo Brasileiro por meio da Coordenação Geral da Política de Alimentação e Nutrição tem realizado ações de incentivo ao consumo de vegetais em diversos órgãos públicos como meio de promover a educação alimentar e nutricional (BRASIL, 2009).

Mesmo diante dos incentivos públicos, a Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) realizada pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) revela que mais de 90 % da população brasileira não ingere frutas, legumes e hortaliças nas quantidades diárias recomendadas pelo Ministério da Saúde (POF-IBGE, 2008-2009). Tal fato demonstra a necessidade de uma re-educação alimentar para a maior parte da população brasileira para que venha usufruir dos benefícios à saúde advindos de uma dieta rica em vegetais. Além disso, o hábito do consumo e da valorização de alimentos importados, bem como, o desconhecimento do valor nutricional de vegetais regionais, certamente contribui para este elevado percentual.

Por possuírem efeitos terapêuticos, o uso racional de plantas medicinais também tem sido incentivado no Brasil através da Política Nacional de Plantas

Medicinais e Fitoterápicos que garante à população o acesso e o uso seguro destes vegetais fitoterápicos, oferecendo uma alternativa econômica e muitas vezes, com menores efeitos colaterais em relação ao tratamento utilizando medicamentos sintéticos (BRASIL, 2006).

Nesse contexto, o jambú se apresenta como uma hortaliça que vem despertando grande interesse de pesquisadores e empresas devido o seu poder nutracêutico e farmacológico (BORGES, 2009; PRACHAYASITTIKUL *et al.*, 2009, WONGSAWATKUL *et al.*, 2008; TANGKANAKUL *et al.*, 2006; MAIGA *et al.*, 2005).

### 3.2 JAMBÚ [*Acmella oleracea* (L.) R. K. Jansen]

#### 3.2.1 Classificação botânica e aspectos morfológicos

O jambú é uma erva originária da América do Sul, pertencente à família Asteraceae (Compositae), sendo conhecido pelos sinônimos científicos *Spilanthus oleraceae* L., *Cotula pyretharia* L., *Pyrethrum spilanthus* Medik, *Spilanthus acmella* var. *oleracea* (L.) C.B. Clarke ex Hook. F., *Acmella ciliata* Kunth e *Spilanthus fusca* Mart (BORGES, 2009; MALOSSO, 2007). A Figura 1 apresenta o jambú e suas inflorescências.



Figura 1 - Jambú e inflorescências.

Diversos nomes populares são comumente utilizados no Brasil, dentre eles são empregados: agrião-do-Pará, abecedária, agrião-bravo, agrião-do-brasil, agrião-

do-norte, botão-de-ouro, erva-maluca, jabuaçú, jaburama, jambu-açú, jamaburana, mastruço e nhambu (CAVALCANTI, 2008; ARAÚJO *et al.*, 2007; OLIVEIRA; INNECCO; MATTOS, 2005).

O jambú é uma planta herbácea, perene e semi-ereta, podendo atingir de 30 a 40 cm de altura (LORENZI; MATOS, 2002).

A raiz principal é pivotante com abundantes ramificações laterais, sendo a haste rastejante e ramificada em dicásio e, em alguns casos, em tricásio (BORGES, 2009).

Suas folhas são simples, com contornos cordiformes, denteadas e com pecíolos que variam de 3 a 6 cm de comprimento. O limbo apresenta, geralmente, contorno foliar oval com 53 a 106 mm de comprimento e 40 a 79 mm de largura. Apresenta base truncada, atenuada na parte superior da folha, com pêlos esparsos sobre ambas as superfícies, principalmente sobre a nervura central da folha. Os pecíolos são de 1 a 2 cm de comprimento (CHUNG *et al.*, 2008). A Figura 2 mostra a divisão taxonômica do jambú e os aspectos morfológicos de suas inflorescências.

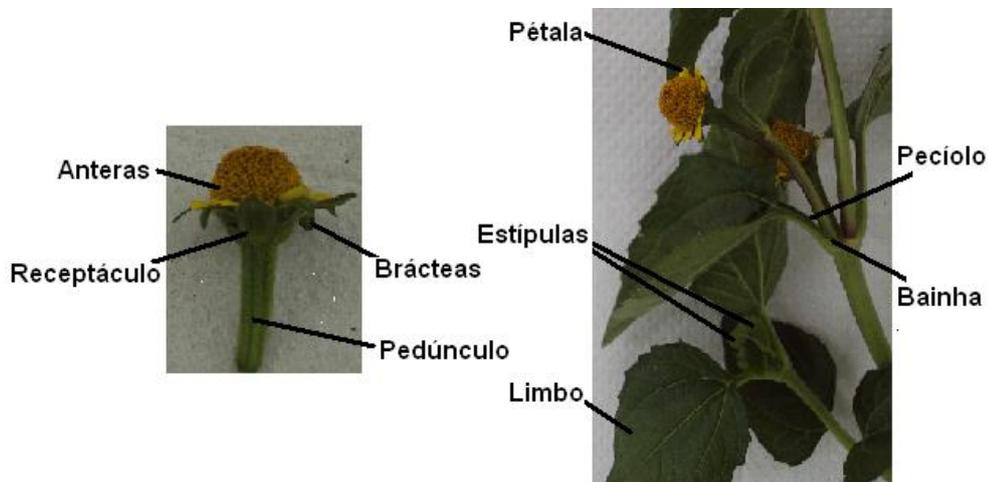


Figura 2 - Morfologia do jambú e de suas inflorescências.

As inflorescências são em pequenos capítulos terminais. A formação em capítulo apresenta várias flores que medem cerca de 1,0 cm de diâmetro, geralmente pequenas, assentadas em um receptáculo e cercada por brácteas involucrais. As flores são hermafroditas, numerosas (400 a 620) e férteis (LORENZI, MATOS, 2002). Os pedúnculos são ocos, verdes e com pêlos aglandulados. As flores apresentam corola com pétalas amarelas, as quais podem atingir um tom

pardacento com áreas púrpuras, dependendo da variedade de jambú. As anteras são cilíndricas e localizadas dentro da abertura da corola. Os filamentos são brancos e lisos, atados à base da abertura da corola. O pólen apresenta coloração variando entre alaranjado brilhante a amarelo pálido (FERREIRA; CARVALHO-OKANO; NAKAJIMA, 2009).

### 3.2.2 Cultura e distribuição geográfica

Para o melhor desenvolvimento do jambú são recomendados locais com clima quente e úmido, temperatura média de 25,9 °C, precipitação de 2.761 mm ano<sup>-1</sup>, evapotranspiração potencial de 1.455 mm, umidade relativa do ar 86 % e 2.389 h ano<sup>-1</sup> de luz solar (VILLACHICA *et al.*, 1996). Os solos areno-argilosos, por serem ricos em matéria orgânica, são os mais indicados, sendo os de alta várzea, quando não inundáveis uma das opções para a sua produção (SAWAKI, 2000).

Por ser suscetível a problemas fitossanitários quando cultivado pelo sistema convencional, diversas doenças e pragas como insetos, paquinhos, grilos, formigas, lagartas, pulgões e fungos ameaçam comumente a produção de jambú (GUSMÃO *et al.*, 2006; COUTINHO, APARECIDO, FIGUEIREDO, 2006).

A propagação do jambú pode ser realizada por meio de sementes ou hastes enraizadas, sendo o final do período chuvoso o melhor momento para o seu cultivo. Sua germinação ocorre nos primeiros 7 dias perfazendo um ciclo de vida de até 70 dias (SAWAKI, 2000).

Baseado nas condições edafoclimáticas exigidas pela cultura, populações de jambú são comumente encontradas em regiões tropicais, próximas à Linha do Equador, como na América do Sul, no Sudoeste Asiático e nas Ilhas Madagascar e Mascarenhas (MALOSSO, 2007).

No Brasil, o jambú se encontra distribuído geograficamente, principalmente, nas regiões Norte (Acre, Amapá, Amazonas, Pará, Rondônia e Roraima), Nordeste (Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba e Pernambuco), Sudeste (São Paulo e Rio de Janeiro) e Sul (Paraná e Santa Catarina), conforme apresentado na Figura 3 (MONDIN; MAGENTA; NAKAJIMA, 2010; FERREIRA; CARVALHO-OKAMURA; NAKAJIMA, 2009; SANTOS; LIMA, 2008).



Figura 3 - Distribuição geográfica de populações de jambú no Brasil (Adaptada de MONDIN; MAGENTA; NAKAJIMA, 2010).

O jambú não aparece nas estatísticas de produção e comercialização do IBGE, o que dificulta o conhecimento real dos dados econômicos envolvidos. Por outro lado, são conhecidas diversas aplicações culinárias, farmacológicas, cosméticas e defensivas (CAVALCANTI, 2008).

### 3.2.3 Aplicações culinárias, farmacológicas e defensivas

O jambú compõe comidas típicas das regiões Norte e Nordeste do Brasil, como o pato no tucupi e o tacacá, sendo consumido também em receitas triviais como arroz, feijão, saladas cruas, pratos à base de peixe e de carne, pizzas e etc (ARAÚJO *et al.*, 2007; SAWAKI, 2000). Na Índia e nas Ilhas do Oceano Índico (Comores, Madagáscar, Reunião e Maurício), o jambú é consumido cozido ao vapor; na China, é empregado como condimento e especiaria devido ao sabor acre e pungente proporcionado pela hortaliça que inibe o gosto amargo de algumas misturas (BOSCH, 2004).

Na medicina popular brasileira é recomendado o consumo das folhas, caule e flores do jambú para o tratamento de anemia, escrofulose, raquitismo, dispepsia, malária, afecções da boca e da garganta, escorbuto, micoses, cálculos renais e da bexiga, cicatrização de úlceras e na inibição de sintomas da ingestão excessiva de álcool (CAVALCANTI, 2008; DELARCINA *et al.*, 2008; OLIVEIRA, 2008; ARAÚJO *et al.*, 2007; ARMOND, 2007; CARLINI *et al.*, 2006).

Estudos químicos e farmacológicos confirmam os efeitos curativos do jambú, evidenciando o potencial da planta na indústria farmacêutica. Yadav *et al.* (2011) investigaram as atividades diuréticas de extratos de éter, clorofórmio e álcool em

folhas de jambú por meio de bioensaios, demonstrando que os diferentes extratos apresentam efeitos diuréticos e auxiliam no equilíbrio da hipertensão, quando administrados em doses de  $500 \text{ mg Kg}^{-1}$  de massa corpórea, devido a eliminação via urinária dos eletrólitos  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  e  $\text{Cl}^-$ .

Prachayasittikul *et al.* (2009) avaliaram as atividades antimicrobianas, antioxidantes e os efeitos citotóxicos do jambú. Neste estudo, os metabólitos bioativos foram isolados por meio de cromatografia em coluna de sílica gel com eluentes de diferentes polaridades (hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol), em que suas estruturas foram confirmadas por espectros no Ultravioleta (UV), Infravermelho (IR) e Ressonância Magnética Nuclear de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ . Os extratos de todos os solventes, por meio de bioensaios, demonstraram atividades antioxidantes e antimicrobianas, bem como não apresentaram efeitos citotóxicos. Além disso, os metabólitos isolados revelam, dentre outros, efeitos antiinflamatórios, analgésicos, antidiabéticos, hipotensivos, neuroprotetores, antivirais e anticancerígenos. Chakraborty *et al.* (2003) já havia confirmado as atividades antiinflamatórias e analgésicas do extrato aquoso do jambú por meio de bioensaios em ratos.

Regadas (2008) comparou os efeitos do uso do creme de jambú e de um placebo sobre a função sexual feminina e masculina por meio de ensaios clínicos randomizados, cruzados e placebo-controlados. Os resultados mostraram que o creme de jambú aumentou a excitação e o desejo sexual feminino e o desejo e a satisfação sexual masculina durante as atividades sexuais, comprovando o uso do jambú como estimulante sexual pela cultura popular.

Na indústria de cosméticos, extratos do jambú vêm sendo aplicados como coadjuvantes em produtos de beleza (aromatizantes, xampus, máscaras faciais rejuvenescedoras e cremes faciais anti-sinais) e em dentifrícios (enxaguantes bucais, agentes refrescantes, creme dentais e goma de mascar) (CAVALCANTI, 2008; DELARCINA *et al.*, 2008; LENNON; SCHUBNEL, 2007). Além disso, foi encontrada uma patente com registro internacional sobre o uso do extrato do espilantol para inibir a contração dos músculos subcutâneos da face de forma eficaz tal como o botox (DEMARNE; PASSARO, 2005).

Estudos também apontam atividades defensivas naturais proporcionadas pelo extrato de jambú, como a ação larvicida contra *Aedes aegyptii* e *Helicoverpa zea* (RAMSEWAK; ERICKSON; NAIR, 1999), bactericida contra *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Candida albicans* e *Staphylococcus*

*aureus* (BRAZ *et al.*, 2007; FABRY; OKEMO; ANSORG, 1998; GASQUET, 1993), além de inseticida contra *Anopheles*, *Culex* e *Tuta absoluta* (MORENO *et al.*, 2011; BOSCH, 2004; HIND; BIGGS, 2003).

### 3.2.4 Composição química

A composição química do jambú, como os demais vegetais, depende da natureza do solo, da água utilizada na irrigação, das condições de clima, luminosidade, umidade, temperatura, pH, dos métodos de cultivo empregados, da presença de pragas e doenças e da utilização de fertilizantes e defensivos agrícolas (NAGAI; KISHIMOTO, 2008).

O Ministério da Saúde, por meio da Secretaria de Vigilância Sanitária, estabelece o regulamento técnico referente à informação nutricional complementar de alimentos produzidos, embalados e comercializados, em que classifica um alimento como fonte em um determinado mineral ou vitamina, quando 100 g do alimento sólido ou 100 mL do alimento líquido apresenta de 15 a 29 % dos valores estabelecidos para sua ingestão diária recomendada (IDR) e como um alimento de alto teor, quando apresentar mais que 30 % (BRASIL, 1998).

Deste modo, é mostrado na Tabela 1 a composição química das folhas do jambú, segundo Villachica *et al.* (1996), a IDR de nutrientes para um adulto saudável (BRASIL, 2005) e também os resultados das porcentagens da IDR, calculadas para 50 g em massa úmida de folhas de jambú, uma vez que este vegetal é utilizado na alimentação como um condimento em altas proporções e que, geralmente uma porção não ultrapassa esta quantidade em massa. De acordo com os resultados obtidos, observa-se que a ingestão de 50 g de jambú *in natura* se mostra uma fonte em Vitamina C.

São encontrados na literatura vários estudos que tratam de constituintes químicos do jambú, em que suas abordagens estão relacionadas às exigências nutricionais deste vegetal; diferentes sistemas de tratamentos para melhoria da sua produtividade; a identificação, isolamento e melhoria na produtividade de seus metabólitos com propriedades terapêuticas; a aplicações do espilantol obtido a partir deste vegetal (PRACHAYASITTIKUL *et al.*, 2009; PHRUTIVORAPONGKUL *et al.*, 2008; LENNON; SCHUBNEL, 2007; BRAZ *et al.*, 2007; NASCIMENTO-JAEHNKE,

2006; TANGKANAKUL *et al.*, 2006; OLIVEIRA; INNECCO; MATTOS, 2005; SILVA *et al.*, 2006, HIND, BIGGS, 2003; RAMSEWAK; ERICKSON; NAIR, 1999). No entanto, foram encontrados poucos estudos sobre os aspectos nutricionais do jambú no que se refere às concentrações de espécies metálicas.

Tabela 1 - Composição química do jambú, IDR e porcentagem da IDR para 50 g em massa úmida de folhas de jambú.

Concentrações dos nutrientes <sup>*a</sup>		IDR <sup>b</sup>	Porcentagem da IDR <sup>*</sup>
Água (g)	44,5	-	-
Vitamina B1 (mg)	0,015	1,2	1,25
Vitamina B2 (mg)	0,105	1,3	8,08
Vitamina C (mg)	10,0	45,0	22,22
Niacina (mg)	0,5	16,0	3,13
Carboidratos (g)	3,6	-	-
Proteínas (g)	0,95	50,0	1,90
Lipídeos (g)	0,15	-	-
P (mg)	20,5	700,0	2,93
Ca (mg)	81,0	1000,0	8,10
Fe (mg)	2,0	14,0	14,29
Fibra (g)	0,65	-	-
Valor energético (Kcal)	16,0	-	-
Cinzas (g)	0,8	-	-

FONTE: (a) VILLACHICA *et al.*, 1996; (b) BRASIL, 2005.

\* 50 g em massa úmida de folhas de jambú.

Os trabalhos que se restringem ao estudo do espilantol (N-isobutil-2E,6Z,8E-decatrienamida) se devem por este composto ser um dos principais componentes do óleo essencial do jambú, ao qual são atribuídas as suas propriedades farmacêuticas e cosméticas (CAVALCANTI, 2008; LENNON; SCHUBNEL, 2007; LORENZI; MATOS, 2002). Na Figura 4 é apresentada a fórmula estrutural do espilantol (N-isobutil-2E,6Z,8E-decatrienamida).

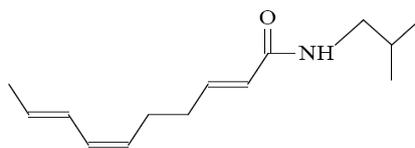


Figura 4 - Estrutura do N-isobutil-2E,6Z,8E-decatrienamida (BORGES, 2009).

Borges (2009) avaliou o cultivo do jambú (*Acmella ciliata* Kunth), a composição do óleo essencial e dos compostos antioxidantes nas folhas e inflorescências, bem como quantificou Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, N e Zn no solo e neste vegetal, sob condições de adubação orgânica e mineral. A adubação orgânica consistiu na aplicação de doses de 0, 2, 4, 6, 8 e 10 kg m<sup>-2</sup> de esterco de curral, enquanto a mineral em doses de 0, 30, 60, 90, 120, 150 g m<sup>-2</sup> de uréia. Os resultados obtidos para o óleo essencial demonstraram que os compostos majoritários foram trans-cariofileno, germacreno D, L- dodeceno e espatulenol, sendo que os dois primeiros são responsáveis por suas atividades anti-fúngicas e anti-microbianas. Os maiores teores de espilantol foram obtidos nas inflorescências sob adubação orgânica (4,09 %), em contraste com outros resultados da literatura. Quanto à análise de antioxidantes, os maiores teores em vitamina C e do potencial antioxidante também foram obtidos sob adubação orgânica. Porém, as maiores concentrações de flavonóides foram obtidas sob adubação mineral. Além disso, o sistema de produção orgânico induziu aumentos nos níveis de B, Cu, Fe e Mn nas folhas e de B, Cu e Fe nas inflorescências, enquanto que o cultivo mineral promoveu aumento de Zn nas folhas e inflorescências.

Armond (2007) cultivou jambú (*Acmella oleracea*), capim-limão e folha da fortuna sob fertilização homeopática, visando obter melhorias no crescimento e na produção de metabólitos com valores terapêuticos. O tratamento consistiu na aplicação de oito soluções homeopáticas (*Staphysagria*, *Apis mellifica*, *Arnica montana*, *Sulphur*, *Natrum muriaticum*, *Phosphorus*, *Silicea* e *Nux vomica*) em condições centesimais, dois controles (solução alcoólica 70 % (v/v) e água destilada) e em 4 replicatas, totalizando 168 parcelas experimentais. As soluções foram aplicadas no ponto de crescimento da planta, duas vezes por semana na proporção 20 gotas L<sup>-1</sup>, sendo 100 mL vaso<sup>-1</sup> a cada 3 dias, durante 50 dias. Foram realizadas

extrações das folhas e inflorescências do jambú em que os fármacos ativos (óleos essenciais, flavonóides, taninos, heterosídeos antracênicos, saponinas, cumarinas, cardiotônicos e alcalóides) foram caracterizados por cromatografia em camada delgada, determinado o teor dos flavonóides por espectrofotometria UV-VIS e analisado o crescimento das plantas. Os resultados mostraram que as plantas respondem ao tratamento em baixas e altas concentrações, não havendo concomitância entre o crescimento e a produção de metabólitos secundários. Desse modo, o pesquisador sugere estudos adicionais para melhor avaliar os efeitos de cada solução homeopática.

Rahman *et al.* (2007) investigaram na cidade de Dhaka, em Bangladesh, a capacidade de acúmulo de Cd, K, N, P, Pb e S em amostras de jambú e outras seis espécies vegetais indígenas, adaptadas em ambientes contaminados por resíduos industriais de curtume e tingimento. Para tanto, foram realizadas também análises da água e solo. O tratamento das amostras foi feito por digestão úmida em sistema fechado, sendo as determinações de Cd e Pb realizadas por FAAS e K por FOC. Os resultados apresentaram concentrações máximas em até 219,2 mg Kg<sup>-1</sup> de Pb e 1,3 mg Kg<sup>-1</sup> de Cd, revelando a espécie *Ipomoea aquática* como bioacumuladora de Pb, a qual apresenta potencial biorremediador.

Nascimento-Jaehnke (2006) quantificou as espécies Mn, Fe, Co e Zn por espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) e por análise por ativação de nêutrons, em chás e em folhas de plantas medicinais brasileiras, entre elas o jambú, cultivadas sob sistema hidropônico. Além disso, avaliou sob *stress* de diferentes concentrações de Mn, o efeito nos teores de proteínas e dos grupos sulfidril, bem como as formas ligação deste elemento com compostos orgânicos nos vegetais. Na preparação dos chás foram tomados 0,5 g das amostras secas e adicionados 2,5 mL de água a 80 °C, seguido por filtração em papéis com diferentes porosidades e centrifugação. Na digestão das folhas frescas foi seguido o método da *Environmental Protection Agency* (EPA, 3051), em que foram misturados 0,1 g de amostras com 8 mL de água régia e deixados em repouso por 1 h, seguido por 10 min de aquecimento em forno microondas, resfriadas e diluídas para 25 mL. As formas de ligação do Mn nos compostos orgânicos não foram identificadas e os resultados indicam elevados teores desta espécie nas amostras das folhas frescas e no chá de jambú. Os autores sugerem uma

reavaliação da hortaliça, considerando as elevadas concentrações de Mn no solo brasileiro.

Maiga *et al.* (2005) quantificaram as espécies metálicas Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb e Zn por FAAS em sete plantas medicinais e alimentícias consumidas na República do Mali, inclusive em flores do jambú. O método consistiu em submeter de 1 g de amostra a 750 °C por 3 h em forno mufla sendo 0,5 g do resíduo obtido dissolvido em 5 mL de HNO<sub>3</sub> concentrado, seguido pela adição 30 mL de água, filtração e diluição para 50 mL de solução. Os resultados obtidos para as flores de jambú mostram esta matriz como fonte dos elementos essenciais Fe, Zn, Cu, Ni e Mn, bem como de Pb.

Sawaki (2000), com intuito de contribuir com informações sobre a cultura do jambú, no que se refere ao seu manejo e exigências nutricionais, realizou um estudo sobre as deficiências de seus macros (C, H, O, N, P, K, Ca, Mg e S) e micronutrientes (B, Cl, Cu, Fe, Mn, Mo e Zn). Nesse sentido, plantas de jambú foram cultivadas com tratamentos completos e com omissão dos nutrientes em um total de 12 tratamentos e 4 repetições. Posteriormente, foi feita a diagnose visual das plantas, sendo os nutrientes de suas folhas, caules e raízes quantificados. Os resultados apontaram que a deficiência de N, Ca, Mo e B, ocasiona a redução no crescimento da haste e folha e a do Mn no comprimento do internódio das plantas; enquanto que as omissões das espécies afetam a produção de matéria seca: Ca na raiz; N, P, K, Ca, Mg, S e B no caule; N, K, Ca e B nas folhas novas. Nas condições experimentais utilizadas, foram estabelecidos os teores adequados e deficientes dos nutrientes no jambú, entretanto são apresentadas apenas faixas de concentrações dos nutrientes, sem que haja um viés entre os teores.

### 3.3 DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS ANALÍTICOS NO ESTUDO DE AMOSTRAS REAIS

As amostras reais geralmente são ditas complexas em razão do grande número de espécies químicas que a compõem e, conseqüentemente, do grande número de variáveis que devem ser controladas na determinação dos seus analitos.

O ideal seria realizar a determinação química diretamente no ambiente (*in situ*) e em tempo real, uma vez que a retirada da amostra a desvincula de diversas

influências físicas (pressão, temperatura, luz, clima, intemperismo e etc), químicas (acidez, alcalinidade, hidratação, fotodecomposição e etc) e biológicas (fisiologia animal ou vegetal, ambiente de produção e etc) do seu meio, alterando seu equilíbrio natural (ROCHA; ROSA; CARDOSO, 2004). Além disso, após ter sido retirada, a amostra pode vir a sofrer modificações na sua composição química. No entanto, poucas determinações químicas podem ser realizadas *in situ*, uma vez que estas dependem da natureza da matéria a ser avaliada e da disponibilidade de sensores adequados para cada analito.

Diante da heterogeneidade das amostras reais, a literatura não possui uma rota analítica universal para seu estudo, em que são necessárias modificações e em muitos casos, o desenvolvimento de novos métodos analíticos. Este é um problema desafiador, pois requer conhecimento, intuição e experiência, sendo uma tarefa difícil, mesmo para um químico experiente (SKOOG *et al.*, 2008).

Na adaptação ou desenvolvimento de um novo método, é fundamental conhecer o problema analítico para a prevenção de possíveis erros e/ou interferências. Para tanto, devem ser consideradas: as características físicas e a composição química da amostra bruta, o número de amostras a ser avaliada, a natureza do analito sob estudo, a faixa de concentração do analito a ser determinado, as influências dos reagentes a serem utilizados, o nível de exatidão desejado e os trabalhos prévios em química analítica voltados aos analitos de interesse e a matriz sob estudo ou a matrizes similares em composição.

De modo geral, o desenvolvimento de métodos analíticos no estudo de amostras reais envolve várias etapas que podem ser resumidas em: (1) amostragem e preparação da amostra de laboratório, (2) tratamento da amostra para análise, (3) otimização instrumental para a determinação do analito e (4) tratamento e análise dos resultados (SKOOG *et al.*, 2008; ARRUDA, 2006).

A amostragem consta em um conjunto de operações seqüenciadas que permite extrair do sistema uma porção representativa e possível de ser tratada para uma correta interpretação dos resultados, após a análise completa. Frequentemente a amostragem é a etapa mais difícil e a fonte dos maiores erros, pois não há um processo de amostragem universal, mas existem muitas considerações e critérios estatísticos a serem observados em relação ao problema analítico, como: o local, horário, frequência, quantidade, número de amostras, amostrador, estabilidade da amostra, transporte, rotulação e acondicionamento das amostras, tempo entre a

coleta e a preparação da amostra de laboratório, forma de preparação da amostra de laboratório para análise, entre outros.

A preparação de amostras sólidas heterogêneas para o laboratório envolve também várias etapas como redução do tamanho das partículas e homogeneização para facilitar seu tratamento.

No tratamento para análise, a amostra deve ser decomposta e/ou solubilizada, geralmente com o auxílio de aquecimentos por diferentes formas de energia e reagentes, de modo que o analito sob estudo seja convertido à forma requerida pela técnica analítica selecionada para a sua determinação. Esta etapa é considerada crítica por requerer 61 % do tempo do trabalho analítico e ser responsável por 30 % dos erros da análise (OLIVEIRA, 2003).

Antes da determinação do analito sob estudo, devem ser selecionadas as condições exigidas pelo analito e pela amostra para a otimização instrumental, as quais refletirão na eficiência do procedimento analítico.

Realizada a determinação do analito, os resultados deverão ser tratados estatisticamente e analisados, observando a precisão e exatidão do método e, relacionando-os as influências físicas, químicas e biológicas sofridas pela amostras em seu meio de produção.

Devido às dificuldades encontradas na etapa de tratamento ser ainda maiores em amostras reais (VOGEL, 2002), esta etapa é discutida no subcapítulo seguinte.

### **3.3.1 Tratamento de amostras para análise elementar**

Somente algumas técnicas permitem a análise da amostra sem a sua destruição, ou seja, um tratamento prévio, como a Fluorescência de raio X, Ativação de nêutrons, Termogravimetria e Espectrografia. Por outro lado, o tratamento da amostra possibilita a separação e/ou pré-concentração de analitos e o uso de diversos métodos de determinação, como a Gravimetria, Titrimetria, Cromatografia, Eletro-análise e a Espectrometria (OLIVEIRA, 2003; CROSBY, 1977).

No tratamento da amostra para análise elementar por espectrometria atômica, a amostra deve ser decomposta para uma forma inorgânica o mais simples possível, em que o resíduo inorgânico obtido desta decomposição deve ser solubilizado e dele preparado soluções para análise, geralmente aquosas (KRUG, 2001).

Os métodos de tratamento de amostras podem ser classificados, de maneira geral, em dois grupos: decomposição por via úmida e técnicas de combustão. Em ambos, o aquecimento das amostras pode ser conduzido em sistemas abertos, dinâmicos ou fechados, utilizando diversas formas de energia como a térmica, ultra-som ou a radiante (infravermelho, ultravioleta, microondas e etc) (ARRUDA, 2006; OLIVEIRA, 2003). A Tabela 2 apresenta a classificação dos métodos de tratamento de amostras.

Tabela 2 - Classificação dos métodos de tratamento de amostras (Adaptada de ARRUDA, 2006).

<b>Combustão</b>	<b>Decomposição por via úmida</b>
<i>Sistemas abertos</i>	<i>Sistemas abertos</i>
Combustão em forno mufla (Calcinação)	Aquecimento: convencional, microondas
Combustão em baixas temperaturas	UV e ultra-som
Combustão de Wickbold	<i>Sistemas em Fluxo</i>
<i>Sistemas Dinâmicos</i>	Aquecimento: convencional, microondas
Trace-O-Mat	UV
<i>Sistemas Fechados</i>	<i>Sistemas Fechados</i>
Bomba de combustão	Aquecimento: convencional, microondas
Combustão em frasco de oxigênio	UV e ultra-som
Combustão induzida por microondas	

As técnicas por combustão são baseadas na decomposição da matéria orgânica pela ação do oxigênio em altas temperaturas ou radicais de oxigênio e oxigênio excitado em plasma. Uma vez que é utilizado, geralmente, apenas oxigênio como reagente, o método apresenta pequeno risco de contaminação. De modo geral, as técnicas de combustão são convenientes e eficientes para obter a solubilização da amostra com um mínimo de resíduo orgânico, que poderia causar eventuais dificuldades na determinação do analito (ARRUDA, 2006).

Em situações em que não se deseja obter a destruição total da matéria orgânica, a decomposição por via úmida pode ser uma opção. Nesse caso, misturas

de reagentes oxidantes são adicionadas à amostra sob aquecimentos moderados, podendo ser conduzidos em sistemas abertos como, por exemplo, em chapa aquecedora, bloco digestor ou fotodigestor UV, em sistemas em fluxo ou fechados, como no forno microondas.

Neste estudo foram utilizados dois métodos, combustão em forno mufla, comumente conhecido por calcinação (CA) e digestão úmida em bloco digestor (DU), os quais são abordados de modo sucinto a seguir.

### 3.3.1.1 Calcinação (CA)

A calcinação constitui um método clássico de tratamento de amostras, em que a amostra é submetida a elevadas temperaturas, geralmente entre 400 e 550 °C, sob pressão atmosférica, até a completa destruição do material orgânico, cujo processo é realizado comumente em fornos mufla.

Como resultado da oxidação da amostra, apenas os componentes inorgânicos são conservados na forma de cinzas, os quais devem ser dissolvidos em ácidos apropriados. As cinzas consistem em óxidos das espécies metálicas, assim como carbonatos, sulfatos, silicatos, fosfatos e etc (KRUG, 2001). A equação (1) apresenta a oxidação de uma amostra hipotética por meio da calcinação (Adaptada de ARRUDA, 2006).



A faixa de temperatura e o tempo de exposição utilizados na calcinação devem ser suficientes para que a amostra seja decomposta em período razoável sem que ocorram perdas do analito por volatilização e sem que o aquecimento promova a projeção da amostra. Para isso, o aquecimento deve ser realizado em etapas crescentes e o material do recipiente ou cápsula que contém a amostra deve ser refratário as condições utilizadas (HOENIG; KERSABIEC, 1996; OHWEILER, 1974).

As desvantagens do método estão associadas ao longo período de tempo requerido para a completa oxidação da amostra, as possíveis formações de resíduos de difícil dissolução, as reações entre o material da cápsula e a amostra e as

possíveis perdas de analitos voláteis durante a calcinação, como por exemplo, dos metais alcalinos, As, Bi, Hg, Pb, Sb, Se e Sn.

Em alguns casos, a utilização de reagentes específicos pode auxiliar na velocidade do processo e na prevenção das perdas por volatilização (WELNA; SZYMCZYCH-MADEJA; POHL, 2011). Os reagentes auxiliares, chamados de fundentes, são sais e óxidos variados. A quantidade do fundente utilizado pode ser de até dez vezes a massa da amostra empregada, a fim de aumentar a reatividade e solubilidade dos materiais e prevenir volatilizações (SKOOG *et al.*, 2008).

A calcinação com adição de reagentes apresenta algumas limitações, como o risco de contaminação, a possibilidade de perdas da amostra como aerossol sólido ou espuma e a dificuldade na dissolução do resíduo (KRUG, 2001). Nesses casos, o emprego de fundentes de grau de pureza analítica em quantidades adequadas, a programação do aquecimento em etapas e o uso de ácidos apropriados na solubilização das cinzas reduzem tais limitações.

Além disso, a calcinação pode ser intercalada com a digestão úmida para evitar perdas por volatilização, reduzir as temperaturas e a velocidade de incineração. Porém, neste caso, são maiores os riscos de contaminação, uma vez que existe um número maior de etapas a serem realizadas, com um maior número de reagentes.

De modo geral, as principais vantagens da calcinação são a simplicidade do método, a possibilidade de utilização de maiores quantidades de amostra que permite a quantificação de constituintes presentes em menores concentrações por técnicas menos sensíveis, o menor número de etapas de manipulação, além do emprego de um menor número de reagentes (OHLWEILER, 1974).

Apesar das suas desvantagens, a calcinação é ainda um método referencial para determinação de muitos analitos na comparação com novos métodos com precisão e exatidão. Isto se deve, principalmente, à mineralização quase total da matriz, à utilização de amostras representativas, isto é o emprego de maiores quantidades de amostra, considerando a heterogeneidade das matrizes reais (ARRUDA, 2006; KRUG, 2001; HOENING; KERSABIEC, 1996; OHWEILER, 1974).

### 3.3.1.2 Digestão úmida em bloco digestor (DU)

A digestão úmida em sistema aberto implica em oxidar total ou parcialmente a matéria orgânica presente na amostra ou em extrair espécies inorgânicas presentes na forma de cátions simples e não voláteis, por meio de aquecimentos moderados, sob pressão atmosférica, na presença de ácidos concentrados ou de misturas de ácidos com ou sem peróxido de hidrogênio (WELNA; SZYMCZYCH-MADEJA; POHL, 2011).

Geralmente são empregados de modo individual ou em combinações, os seguintes reagentes  $\text{HNO}_3$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{HClO}_4$ ,  $\text{HCl}$ ,  $\text{HF}$  e o  $\text{H}_2\text{O}_2$ . A escolha deve considerar a força, o ponto de ebulição e o poder de oxidação do ácido, o grau de pureza e os riscos oferecidos pelos reagentes, além da solubilidade dos sais resultantes (WELNA; SZYMCZYCH-MADEJA; POHL, 2011; OLIVEIRA, 2003; BALCERZAK, 2002).

Algumas desvantagens no uso individual de reagentes são reportadas na literatura, como: o risco de explosões pelo uso do  $\text{HClO}_4$  quando em contato com a matéria orgânica, devido a formação de percloratos instáveis; para o uso do  $\text{HF}$ , existe a necessidade de utilizar materiais de platina ou politetrafluoretileno (PTFE), a fim de evitar reações com óxido de silício presente na composição química de vidros; no uso do  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , existem riscos quanto a formação de sulfatos metálicos insolúveis e a elevação da viscosidade da amostra, interferindo no processo de transporte, principalmente em análises por Espectrometria Ótica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES), ICP-MS e Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica (ETAAS) (OLIVEIRA, 2003; KRUG, 2001; HOENING, KERSABIEC, 1996).

Devido cada reagente apresentar vantagens e desvantagens é, usualmente, utilizado combinações ou misturas de ácidos em adições seqüenciais, que oferecem maiores eficiências nas oxidações (TWYMAN, 2005).

De um modo geral, a digestão úmida em sistemas abertos oferece a vantagem de utilizar menores temperaturas o que reduz possíveis perdas por volatilização, no entanto promove a emissão de vapores tóxicos implicando na necessidade de utilizar equipamentos especiais como capela de exaustão de gases e em alguns casos, requer maior período de tempo na digestão, exigindo o monitoramento do analista, maior número de etapas de manipulação e maiores

quantidades de reagentes, apresentando riscos de contaminação, principalmente na determinação de espécies metálicas em níveis traços (SOUZA; BASSINELLO; NÓBREGA, 2010; IAL, 2008).

### 3.4 TÉCNICAS UTILIZADAS

A FAAS e a FOC são antigas técnicas espectrométricas utilizadas na determinação elementar quantitativa e qualitativa em uma ampla variedade de amostras, tais como materiais biológicos, ambientais, geológicos, tecnológicos, alimentos e etc. Dentre as determinações, a FAAS abrange uma série de espécies metálicas, enquanto que a FOC se restringe as espécies alcalinas e alcalino-terrosas (CIENFUEGOS; VAITSMAN, 2000).

Existe uma simples relação entre a FAAS e a FOC: a propriedade do átomo em promover transições eletrônicas. O fenômeno da transição eletrônica se baseia no princípio de que um átomo no estado gasoso fundamental ( $M^{\circ}$ ) quando absorve um *quantum* de energia radiante ( $h\nu$ ), passa para o estado excitado ( $M^*$ ), o qual é característico da espécie atômica sob estudo. Após absorver a radiação, o átomo excitado sofre relaxação e retorna ao seu estado fundamental, liberando a mesma quantidade de energia absorvida. Dessa forma o processo de absorção e emissão pode ser representado pela equação (2).



Seja  $E_2$ , o nível energético do átomo excitado e  $E_1$ , o nível energético do átomo no estado gasoso fundamental, a quantificação da variação de energia ( $\Delta E$ ) absorvida ou liberada pode ser determinada através da equação de Planck (3).

$$\Delta E = E_2 - E_1 = h\nu = \frac{hc}{\lambda} \quad (3)$$

em que,  $c$  é a velocidade da luz no vácuo ( $3,0 \times 10^8 \text{ m s}^{-1}$ ),  $h$  é a constante de Planck ( $6,624 \times 10^{-34} \text{ J seg}^{-1}$ ),  $\nu$  é a frequência da radiação e  $\lambda$  é o comprimento de onda (KRUG; NOBREGA; OLIVEIRA, 2004; SKOOG *et al.*, 2008).

Nessas técnicas a amostra, geralmente em solução aquosa, é aspirada por um tubo capilar através de um fluxo de oxidante gasoso que a conduz ao nebulizador, onde misturada com o combustível é convertida a um fino aerossol e levada à chama.

Na chama são produzidos  $M^\circ$ , por meio de uma série de fenômenos físicos e químicos inter-relacionados: primeiramente o solvente da amostra é evaporado restando um aerossol de partículas sólidas muito pequenas ( $MX_{(s)}$ ), processo também conhecido como dessolvatação. A vaporização destas partículas permite a formação de um aerossol gasoso ( $MX_{(g)}$ ) e a dissociação da maior parte do aerossol, resultam em átomos gasosos no estado fundamental ( $M^\circ_{(g)} + X^\circ_{(g)}$ ).

Nesta etapa do processo, as técnicas FAAS e FOC se distinguem, pois na FAAS a energia absorvida e quantificada pelos  $M^\circ$  é procedente de uma fonte de radiação eletromagnética, característica do analito, enquanto que na FOC é quantificada a energia emitida pela espécie excitada ( $M^*$ ) (OKUMURA; CAVALHEIRO, 2004; KRUG; NÓBREGA; OLIVEIRA, 2004). Um esquema dos fenômenos que ocorrem na chama é apresentado na Figura 5.

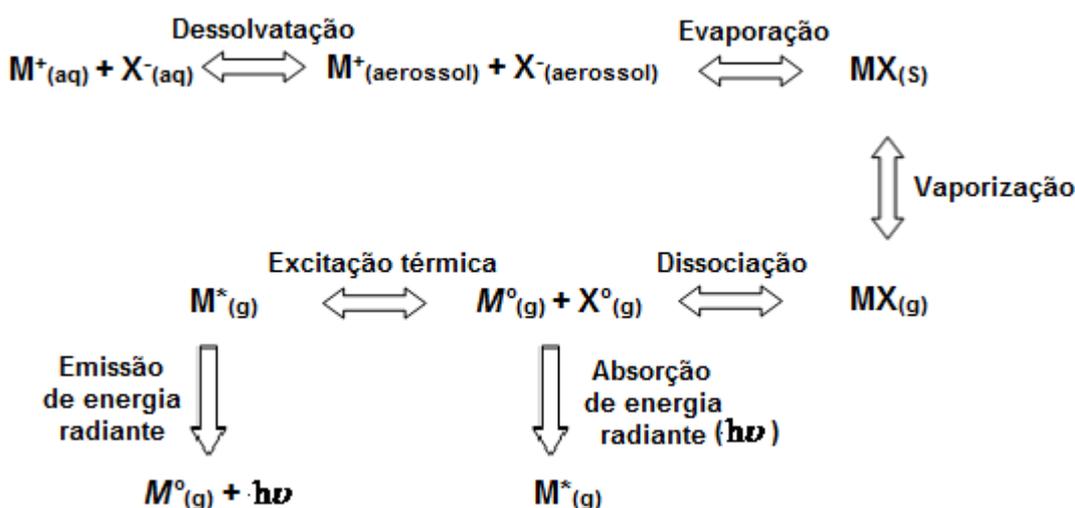


Figura 5 - Esquema das reações que ocorrem na chama (Adaptada de OKUMURA; CAVALHEIRO, 2004).

### 3.4.1 ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA POR CHAMA (FAAS)

Caracterizada por quantificações de espécies em níveis de  $\text{mg L}^{-1}$ , a FAAS se apresenta como uma técnica seletiva, sensível, reproduzível, de fácil manutenção e de baixo custo.

Os componentes básicos do FAAS incluem fonte de radiação, nebulizador, sistema de atomização, conjunto monocromador, detector e processador, como mostra o esquema da Figura 6 (KRUG; NÓBREGA; OLIVEIRA, 2004).

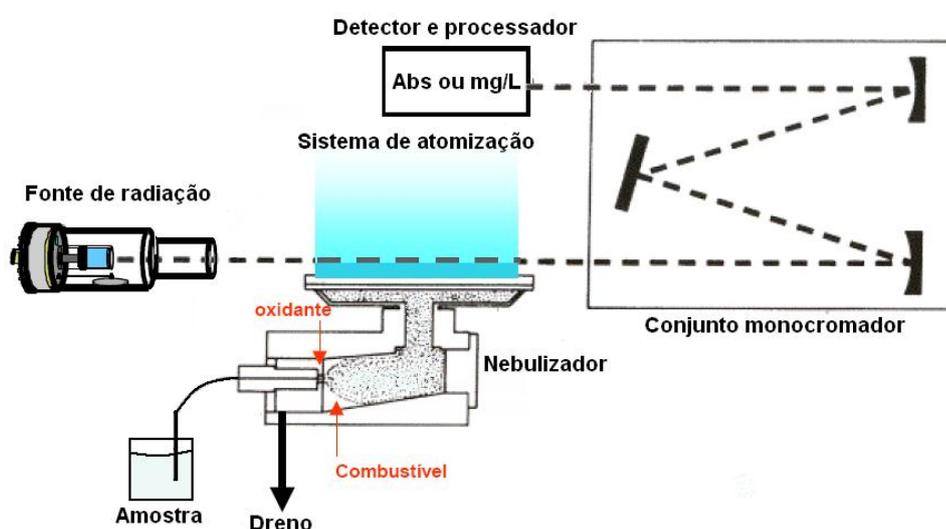


Figura 6 - Esquema do FAAS (Adaptada de KRUG; NÓBREGA; OLIVEIRA, 2004).

A seletividade do FAAS está relacionada à utilização de uma fonte de emissão de radiação específica para cada espécie analisada. Isto é, os  $M^\circ$  produzidos na chama, por se encontrarem no caminho óptico da fonte de radiação eletromagnética, absorvem a radiação de comprimento de onda característico. As fontes de radiação eletromagnéticas usadas são, geralmente, lâmpadas de cátodo oco (HCL), as quais proporcionam estabilidade e intensidades adequadas.

A HCL consiste em um cilindro de vidro com uma janela de quartzo, contendo gás nobre sob alta pressão, normalmente neônio ou argônio, um cátodo metálico do elemento a ser determinado e um ânodo de níquel ou tungstênio. Uma descarga elétrica entre o cátodo e o ânodo produz a ionização do gás nobre que provoca a excitação dos átomos que constituem o cátodo, estes ao voltarem ao estado fundamental, emitem a energia necessária para que os  $M^\circ$ , presentes na chama e

no caminho ótico desta radiação, absorvam esta energia que, posteriormente é quantificada.

O emprego da HCL na FAAS lhe confere especificidade e menos interferências espectrais, contudo existem também os fenômenos de absorção da radiação por outras espécies que não se tem interesse, como moléculas (absorvem a radiação) e partículas (espalham a radiação), a chamada radiação de fundo. Uma vez que só é possível determinar a absorção total, a radiação de fundo é determinada através de sistemas de correção de fundo e subtraída da absorção total para fornecer a absorção atômica verdadeira.

Normalmente, a correção da radiação de fundo na FAAS é realizada pela emissão da radiação contínua de uma lâmpada de deutério que percorre o mesmo caminho do feixe da radiação da HCL, fornecendo uma radiação contínua na região UV. Uma fenda giratória faz com que passe alternativamente a radiação da fonte contínua (lâmpada de deutério) e da fonte da HCL, sendo a diferença entre estes dois sinais a absorção da espécie de interesse (SKOOG *et al.*, 2008).

O monocromador seleciona a linha espectral de interesse das outras linhas emitidas pela fonte de radiação, através da utilização de uma rede de difração, que decompõe o feixe de radiação em comprimentos de ondas discretos. A associação de duas fendas estreitas, na entrada e saída da radiação, possibilita a seleção da linha de comprimento de onda desejado.

O sistema de detecção é composto geralmente por válvulas fotomultiplicadoras, as quais recebem a radiação eletromagnética, selecionada pela fenda de saída do monocromador, convertendo-a em sinal elétrico, o qual é amplificado, processado pela eletrônica do instrumento, produzindo a leitura dessa radiação na forma de absorbância ou concentração em  $\text{mg L}^{-1}$ , além de uma série de informações necessárias ao controle de qualidade analítico (KRUG; NÓBREGA; OLIVEIRA, 2004; EWING, 1989).

A intensidade da radiação absorvida ( $A$ ) é obtida pela diferença entre a intensidade da radiação incidente na amostra ( $I_0$ ) e a intensidade da radiação transmitida após passar pela amostra ( $I$ ). O sinal de absorbância é proporcional à população ou concentração do analito no estado fundamental presente na solução da amostra, a qual obedece a lei de Lambert-Beer, dada pela equação (4) (VOGEL, 2002).

$$A = \log \frac{I_0}{I} = KC \quad (4)$$

em que A é a absorvância, C é a concentração do analito e K é a constante de proporcionalidade.

Para as determinações quantitativas é necessária a observação na lei de Lambert-Beer, em que, inicialmente, é construída a curva de calibração da espécie a ser quantificada, onde são determinadas as absorvâncias de várias soluções padrões em concentrações crescentes, conhecidas e dentro da faixa da concentração do analito na amostra. Os resultados são plotados em um gráfico de absorvância em função da concentração, devendo ser linear e com um coeficiente de correlação próximo a unidade. A concentração do analito, presente na amostra, é determinada pela medida da sua absorvância, cujo valor será correspondente ao da abscissa, dada pela curva de calibração.

### 3.4.2 FOTOMETRIA DE CHAMA (FOC)

A FOC é a mais simples das técnicas de espectrometria atômica. Apesar do baixo custo instrumental, a técnica apresenta uma ampla aplicabilidade em análises clínicas, controle de qualidade de alimentos, além de inúmeras outras aplicações, para quantificar as espécies Ca, K, Li e Na.

Um fotômetro de chama é composto por uma câmera de mistura, queimador, filtro, detector, amplificador e registrador (VOGEL, 2002).

No instrumento, a amostra aquosa contendo cátions metálicos é aspirada por um tubo capilar e conduzida ao queimador sob a forma de uma névoa fina. No queimador, os elementos, ao receberem energia da chama, geram espécies excitadas que, ao retornarem para o estado fundamental, liberam a mesma quantidade de energia absorvida na forma de radiação, em comprimentos de onda característicos para cada elemento químico. A radiação emitida pelas espécies atômicas ou iônicas excitadas ao retornarem ao seu estado fundamental, passa através do filtro que permite apenas a passagem da radiação característica do elemento selecionado no instrumento. O detector recebe as radiações selecionadas

e as transforma em corrente elétrica, a qual é amplificada e processada pela eletrônica do instrumento produzindo a leitura, conforme apresentado na Figura 7 (CIENFUEGOS; VAITSMAN, 2000).

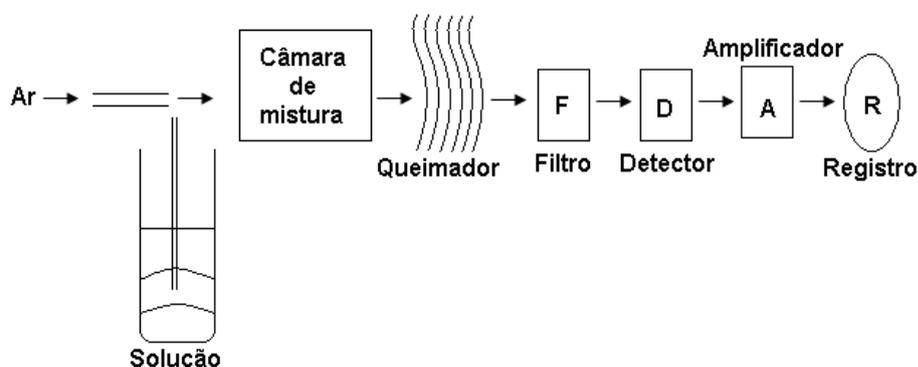


Figura 7 - Esquema de funcionamento do FOC (CIENFUEGOS; VAITSMAN, 2000).

Espécies alcalinas e alcalinas terrosas emitem radiação eletromagnética na região do visível quando submetidos em uma chama utilizando ar-gás liquefeito de petróleo (GLP), que opera em uma temperatura entre 1700 e 1900 °C. Nessas condições, a energia fornecida é baixa, porém suficiente para excitar as espécies Ca, K, Li e Na, e conseqüentemente, gerar a emissão de linhas atômicas características para cada elemento. A intensidade de cada linha emitida depende da concentração da espécie excitada e da probabilidade de ocorrência da transição eletrônica.

Os valores das energias de excitação para o Ca, K, Li e Na são, respectivamente, 173, 203, 154 e 280 kJ mol de átomos<sup>-1</sup>. Enquanto que os valores de energia da primeira ionização para estes elementos correspondem a 590, 419, 520 e 497 kJ mol de átomos<sup>-1</sup> e os da segunda ionização são ainda mais elevadas, tornando inviáveis na temperatura da chama ar-GLP. (OKUMURA; CAVALHEIRO, 2004).

A quantificação por FOC também obedece à lei de Lambert-Beer em determinadas faixas de concentração analítica. Assim, do mesmo modo que para a FAAS, na obtenção de determinações quantitativas é necessária a construção da curva de calibração da intensidade do sinal emitido em função das concentrações crescentes e conhecidas de soluções padrões na faixa de concentração do analito presente na amostra.

### 3.5 DETERMINAÇÃO DE ESPÉCIES METÁLICAS EM VEGETAIS

As espécies metálicas são originárias da decomposição de rochas, minérios, vegetais e animais, estando presentes no solo, água e ar. Os vegetais absorvem os nutrientes inorgânicos presentes no solo, água ou ar, através de seus processos metabólitos que chega ao homem pela cadeia alimentar.

No organismo humano, as espécies metálicas são constituintes essenciais, pois atuam como controladores de impulsos nervosos, da atividade muscular e do balanço ácido-base, como constituintes estruturais dos tecidos corpóreos e como ativador-reguladores de enzimas.

As quantidades das espécies metálicas requeridas pelos organismos são baseadas no consumo mínimo/máximo admitidos, a fim de prevenir deficiências que possam impedir o seu bom funcionamento e de evitar a toxidez, uma vez que o excesso e/ou deficiências de certas espécies metálicas trazem a desordem no sistema fisiológico e enfermidades. Logo, as quantidades requeridas dependem da fase de crescimento, das condições fisiológicas (gravidez e lactação), do estado nutricional, da saúde do organismo vivo, bem como das exigências fisiológicas devido à prática de exercícios físicos (SHILS; OLSON; SHIKE, 1994).

O conhecimento da concentração das espécies metálicas nos vegetais utilizados como alimentos são importantes para profissionais da saúde e para os consumidores em geral, pois indicam constituintes que, devido sua essencialidade e/ou toxicidade, influem na saúde humana. Além disso, são informações úteis para profissionais das áreas agrônômicas e do meio ambiente por estarem relacionadas à saúde e produtividade do vegetal, bem como a presença de algumas espécies que em determinadas concentrações, podem indicar contaminação ambiental na área de cultivo.

São encontrados na literatura vários trabalhos envolvendo a determinação de espécies metálicas em tecidos vegetais, em que geralmente o tratamento das amostras é realizado por calcinação, sendo as técnicas por espectrometria atômica as mais utilizadas.

Teles (2010) determinou as espécies K, Li e Na por FOC e Cu, Fe, Mn, Ni e Zn por FAAS em amostras de polpas de cupuaçu, ingá, dão e suas folhas procedentes de diferentes municípios do Estado de Roraima. Dois métodos distintos foram desenvolvidos: a calcinação (1), em que foram tomados 5,0 g das polpas e 0,5

g das folhas, submetidas a um programa de aquecimento até  $550 \pm 14$  °C por 26 h, dissolvidas com  $\text{HNO}_3$  a 2 % (v/v) e diluídas para 50,0 mL; fotólise oxidativa UV (2), em que foram utilizados 3,0 g das amostras das polpas das frutas e 0,3 g das folhas, sendo adicionados os reagentes  $\text{HNO}_3$ ,  $\text{HCl}_{\text{conc}}$  e  $\text{H}_2\text{O}_2$  em várias etapas seqüenciais com um tempo de exposição a radiação UV de 3 h, seguida pela diluição para 50 mL e filtração em papel de filtro. A calcinação demonstrou: eficiência na quantificação de Li na polpa do ingá, Cu, Fe, Mn, Ni e Zn em todas as amostras; boas estimativas para o Na e K em todas as amostras estudadas e para o Li nas amostras do cupuaçu, dão e folhas do dão. A fotólise oxidativa UV mostrou: eficiência na determinação do K em todas as amostras, para o Fe nas amostras de folha e polpa do dão, do Mn no cupuaçu, dão e folhas, do Zn em todas as amostras; boas estimativas para o Na nas amostras de cupuaçu e folhas do dão; para o Li, não houve detecção de sinal em todas as amostras, cujo comportamento foi atribuído às interferências químicas e/ou espectrais, necessitando de otimização deste método.

O cariru é uma hortaliça encontrada com abundância na região amazônica, utilizada na alimentação brasileira e de composição química pouco conhecida. Por acreditar no potencial nutritivo deste vegetal, Manhães, Marques e Sabaa-Srur (2008) determinaram em amostras de cariru procedentes da cidade de Belém/PA a umidade, cinzas, lipídeos, carboidratos totais, proteínas e as espécies Al, Ca, Cu, Fe, Mn, Mo, Na, Se e Zn por ICP OES. As amostras desidratadas foram aquecidas até 550 °C por 2h, sendo o resíduo dissolvido em HCl a  $2 \text{ mol L}^{-1}$ . Os demais nutrientes foram determinados seguindo os métodos do Instituto Adolf Lutz e da Association of Official Agricultural Chemists. Os resultados demonstraram maiores frações de água, lipídeos, carboidratos, minerais totais e proteínas, sendo que a ingestão de 200 g deste vegetal atende as necessidades diárias de Fe, Mn, Mo, Se e Zn. Os autores sugerem a inclusão desta hortaliça na alimentação dos brasileiros residentes na região Norte do país, uma vez que é encontrada em abundância e que o seu conteúdo mineral pode melhorar o estado nutricional destas pessoas.

Kinupp e Barros (2008) quantificaram as espécies B, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P, S e Zn em 69 hortaliças e frutas, nativas e adaptadas, da região Metropolitana de Porto Alegre, a fim de contribuir com dados sobre os seus teores de proteína e minerais. As amostras foram digeridas por via úmida com adições de ácido nítrico e perclórico e as determinações realizadas por ICP OES. Os resultados

demonstraram que apesar de muitos vegetais serem desconhecidos pela população, diversas espécies mostraram serem fontes de minerais.

Carneiro, Heissmann e Marques (2006) desenvolveram cinco métodos de tratamento de amostras para a determinação de K por FOC e Al, Ca e Mg por FAAS em folhas de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) oriundas de plantas cultivadas em solo com diferentes níveis de saturação por bases. Os métodos de tratamentos consistiram em submeter às amostras desidratadas a: digestão úmida nitro-perclórica (1) em bloco digestor (80-200°C); calcinação em forno mufla até 500°C por 3 h, em cadinhos de porcelana (2) e platina (3), em que as cinzas foram dissolvidas com HCl 3 mol L<sup>-1</sup> em chapa aquecedora a 80 °C, filtradas e diluídas para 100 mL; extrações úmida a 80 °C por 15 min, com 25 mL de HCl a 1 mol L<sup>-1</sup> (4) e 0,33 mol L<sup>-1</sup> (5), em que os resíduos de (4) e (5) foram submetidos a agitação, filtrados e diluídos para 50 mL. Os resultados do teste de Tukey a 95 % de confiança, demonstraram que as correlações estabelecidas entre os métodos foram significativas para os elementos K, Mg e Al. Além disso, todos os métodos de tratamento apresentaram altas solubilizações para a maioria dos elementos, exceto o (3). Os métodos de tratamento (4) e (5) mostraram-se bastante promissores quanto à rapidez, simplicidade e elevado grau de solubilização apresentados.

Ramos (2005) investigou o nível de contaminação de Cd, Cr, Cu, Pb e Zn em amostras de folhas das árvores *Avicennia schaueriana*, *Laguncularia racemosa* e *Rhizophora mangle*, típicas dos mangues em torno do Rio Cubatão/SP. Para a realização das determinações por FAAS, foram tomados 1 g em massa seca das amostras, adicionados 10 mL de HNO<sub>3</sub> concentrado, deixados em repouso por 24 h e submetidos à um programa de aquecimento em sistema digestor permanecendo 1h a 80 °C, 2h a 150°C e a 250°C até a evaporação quase que completa do ácido; o resíduo foi filtrado e diluído com HNO<sub>3</sub> 2 % (v/v) até 25 mL. Os resultados se mostraram similares quanto à bioacumulação de espécies tóxicas nas três espécies estudadas, bem como indicam possíveis contaminações por Cd e Cr proveniente de atividades antrópicas.

Sanchez-Castillo *et al.* (1998) quantificaram as espécies Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P, Pb e Zn em 48 vegetais, incluindo hortaliças, como meio de complementar a Tabela de Composição de Alimentos do México. Dois métodos foram utilizados nas quantificações: (1) para as determinações de Ca, Fe, K, Mg, Na e P, em que foram tomados 2,5 g de amostra seca e calcinados a 475 ± 10 °C por

aproximadamente 18 h; (2) para a determinação de Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Pb e Zn, em que foram tomados 2,0 g de amostra seca e calcinados a  $500 \pm 10$  °C por no mínimo 4 h. As cinzas obtidas em ambos os métodos foram dissolvidas em HCl, diluídas e filtradas. K e Na foram determinadas por FOC, Ca e Fe por colorimetria, Mg e P por espectrofotometria e as demais espécies por FAAS. Os resultados, em sua maioria, não apresentaram diferenças em comparação com a tabela de composição de alimentos européia, exceto para os teores de P que são menores e de Pb que se apresentaram superiores aos da tabela.

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 MATERIAIS E EQUIPAMENTOS

O trabalho experimental foi desenvolvido no Laboratório de Grãos e Águas da Universidade Federal de Roraima (UFRR).

Neste estudo foram utilizadas amostras de jambú, *Acmella oleracea* (L.) R. K. Jansen, produzidas e comercializadas em Boa Vista/RR.

Todos os reagentes utilizados foram de grau de pureza analítica e a água utilizada foi ultrapurificada em um Purificador Human up 900 com condutividade de 18,3 MΩ cm. As soluções de Ca, Cu, Fe, K, Li, Mn, Na, Ni e Zn foram preparadas a partir da diluição de padrões de pureza analítica a 1000 mg L<sup>-1</sup> em 2 % (v/v) de HNO<sub>3</sub>.

Os materiais utilizados como vidros e plásticos foram previamente deixados em um banho de HNO<sub>3</sub> a 10 % (v/v) por no mínimo 24 h, lavados com água e secos.

Os equipamentos utilizados nos tratamentos das amostras foram o forno mufla (Quimis, Q.318.24) e o bloco digestor microprocessador digital (Alfakit, AT-520).

Nas determinações das espécies metálicas foram empregadas as técnicas FAAS (Spectra AA 50 B, usando corretor de deutério) e FOC (Digimed DM - 61).

Todos os equipamentos e vidrarias de precisão utilizadas foram previamente calibrados.

#### 4.1.1 ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA POR CHAMA (FAAS)

Para a determinação das espécies Ca, Cu, Fe, Mn, Ni e Zn foi empregada a técnica FAAS, cujas condições gerais de operação utilizadas e suas especificações são apresentadas na Tabela 3.

A otimização instrumental para a determinação de cada espécie estudada foi feita mediante a razão sinal/ruído e sensibilidade, com ajustes da pérola de vidro, vazão de nebulização, posicionamento do queimador, caminho ótico da radiação e estequiometria da chama. As curvas analíticas foram definidas para quatro pontos.

Tabela 3 - Condições experimentais de operação da FAAS.

<b>Espectrômetro</b>	<b>Spectra AA 50 B</b>
Espécie / Abertura da fenda (nm) / $\lambda^*$ (nm)	Ca / 0,5 / 422,7 Cu / 0,5 / 324,7 Fe / 0,2 / 248,3 Mn / 0,2 / 279,5 Ni / 0,2 / 232,0 Zn / 1,0 / 213,9
Lâmpada de Catodo Oco	Multielementar: Mn Monoelementar: Ca, Cu, Fe, Ni e Zn
Corretor de fundo	Lâmpada de Deutério
Combustível/Oxidante	Acetileno/Ar

$\lambda^*$  = Comprimento de onda

#### 4.1.2 FOTOMETRIA DE CHAMA (FOC)

Para as determinações de K, Li e Na foi empregada a técnica FOC. As condições gerais de operação e suas especificações são apresentadas na Tabela 4.

Tabela 4 - Condições experimentais de operação da FOC.

<b>Fotômetro</b>	<b>Digimed DM – 61</b>
Aplicação manual	Li, K e Na
Pontos de Calibração	2
Combustível	GLP de 13 Kg
Comburente / Pressão mínima	Ar / 75 psi
Resolução	0,1

De acordo com as especificações do fabricante, antes das determinações foram realizadas a linearização do equipamento para cada espécie, utilizando padrões nas concentrações 2,0; 5,0; 10,0; 20,0; 30,0; 40,0; 50,0; 60,0; 80,0 e 100,0 mg L<sup>-1</sup> e posteriormente, a calibração do instrumento, definida para 2 pontos.

Apesar de o instrumento permitir a determinação simultânea dos elementos, as determinações deste estudo foram feitas para cada espécie, por permitir o ajuste da vazão de nebulização e a estequiometria da chama e, deste modo, apresentar melhores respostas analíticas.

## 4.2 MÉTODOS

### 4.2.1 Amostras e Amostragem

As amostras de jambú, *Acmella oleracea* (L.) R. K. Jansen, foram adquiridas na manhã do dia 23 de maio de 2009, em três das principais feiras localizadas na cidade de Boa Vista/RR: Feira do Passarão, Produtor e São Francisco.

Aproximadamente 4,5 Kg de jambú *in natura* foram adquiridos, tal como pela população, os quais foram devidamente acondicionados em sacos plásticos, rotulados, armazenados em caixas térmicas refrigeradas e transportados imediatamente ao laboratório.

Exsiccatas das amostras de jambú foram produzidas com auxílio da Dr<sup>a</sup>. Andrea Flores que foram incorporadas ao Herbário do Museu Integrado de Roraima (MIRR), sob número de tombamento 8582 e realizada sua identificação taxonômica para dirimir eventuais dúvidas do material sob estudo.

### 4.2.2 Preparação das amostras

Ao chegar ao laboratório, as amostras de jambú foram lavadas em água corrente abundante com a finalidade de remover partículas do solo, poeiras e outros resíduos. Em seguida, as amostras foram mergulhadas em água ultra purificada por três vezes, selecionadas e separadas suas folhas e flores sadias e preparadas três amostras compostas, formadas por folhas (**Fo**), Flores (**FI**) e Folhas e flores (**Fo-FI**), tal como utilizado na culinária.

As amostras foram submetidas à secagem a temperatura ambiente por aproximadamente 60 dias em local com insolação e protegido de poeira. Ao final desse período, foram aquecidas em estufa a  $80 \pm 1$  °C por 17 horas, maceradas em

gral de porcelana, homogeneizadas e acondicionadas em recipientes plásticos sob temperatura ambiente até a sua análise.

### 4.2.3 Tratamento das amostras

Foram desenvolvidos dois métodos de tratamento de amostras, a calcinação em forno mufla (CA) e a digestão úmida em bloco digestor (DU), os quais são apresentados a seguir.

#### 4.2.3.1 Calcinação (CA)

Aproximadamente e em triplicatas, 0,5 g de **Fo** e **Fo-FI** e 0,3 g de **FI**, em massa seca das amostras de jambú, foram misturados em cadinhos de porcelana com 1,0 g de  $Mg(NO_3)_2$  e adicionados sobre esta mistura 0,5 g deste sal, formando uma camada superficial. A mistura foi submetida a um programa de aquecimento em forno mufla (Tabela 5) a uma velocidade de aquecimento de  $10\text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$  até atingir  $400 \pm 13\text{ }^\circ\text{C}$ , permanecendo por 18 h. O material resultante da calcinação (Figura 8) foi resfriado em dessecador por aproximadamente 1 hora, dissolvido em  $HNO_3$  a 4 % (v/v), adicionado 10 mL de  $La^{3+}$  a  $10.000\text{ mg L}^{-1}$ , diluído para 50,00 mL e filtrado em papel quantitativo de 28  $\mu\text{m}$ , em virtude da presença de partículas em suspensão.

Tabela 5 - Etapas do programa de aquecimento em forno mufla.

<b>Etapas</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>
<b>Tempo (min)</b>	15	15	15	15	15	15	15	1080
<b>Temperatura (°C)</b>	50	100	150	200	250	300	350	400

Tempo total de aquecimento: 18 h.



Figura 8 - Amostras de jambú calcinadas, utilizando  $Mg(NO_3)_2$  como fundente.

#### 4.2.3.2 Digestão úmida em bloco digestor (DU)

Aproximadamente e em triplicatas, 0,5 g de **Fo** e **Fo-FI** e 0,3 g **FI** em massa seca das amostras de jambú foram tratados em bloco digestor com aquecimento a  $80 \pm 6$  °C e adições dos reagentes nas quatro etapas apresentadas na Tabela 6. Ao término de cada etapa do tratamento as misturas foram resfriadas antes da adição de reagentes, seguida por sua homogeneização em agitador tipo vortex (AP 56, Phoenix) para então, serem submetidas novamente ao aquecimento. Ao final do tratamento, foram adicionados 10 mL de  $La^{3+}$  a  $10.000$  mg  $L^{-1}$  ao digerido, seguido por sua diluição para 50,00 mL e filtração em papel de filtro quantitativo ( $28 \mu m$ ), devido a presença de partículas em suspensão.

Tabela 6 - Etapas do programa de digestão úmida em bloco digestor.

<b>Etapas</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3*</b>	<b>4</b>
<b>Tempo de permanência (h)</b>	17	-	1	17
<b>Reagentes (mL)</b>				
HCl <sub>conc</sub> e HNO <sub>3</sub> (65 % m/v) (1:3)	2,0			1,0
HNO <sub>3</sub> (65 % m/v)		1,0		
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (30 % v/v)			1,0	1,0

\* Esta etapa foi repetida por cinco vezes. Tempo total de aquecimento: 39 h.

## 4.2.4 Determinação de umidade e cinzas

### 4.2.4.1 Umidade

Aproximadamente 10 g das amostras de **Fo** e 3g de **FI** de jambú *in natura*, em triplicatas, foram submetidas ao aquecimento em estufa a  $102 \pm 2$  °C até massa constante, sendo o teor de umidade expresso em porcentagem (IAL, 2008).

### 4.2.4.2 Cinzas

Aproximadamente 1 g das amostras de **Fo** e **FI** foram adicionados em cadinhos de porcelana e submetidos ao aquecimento em forno mufla a  $550 \pm 16$  °C até massa constante, sendo o teor de cinzas expresso em porcentagem.

## 4.2.5 Figuras de Mérito

As figuras de mérito são parâmetros que caracterizam a eficiência analítica de um determinado método. Neste estudo foram adotadas as seguintes figuras de mérito para avaliar os métodos CA e DU:

- Precisão;
- Limite de Detecção (LOD);
- Limite de Quantificação (LOQ);
- Exatidão.

### 4.2.5.1 Precisão

A precisão descreve a proximidade dos resultados em relação aos demais obtidos da mesma forma. Uma medida de precisão comumente utilizada para relatar a dispersão dos resultados em torno de uma média amostral é o desvio padrão relativo (RSD). Neste estudo, o RSD em porcentagem foi obtido através da razão entre o desvio padrão ( $s$ ) e a média de três determinações ( $\bar{x}$ ), multiplicada por 100, de acordo com a expressão (5) (SKOOG *et al.*, 2008):

$$RSD = \frac{s}{\bar{x}} \times 100\% . \quad (5)$$

#### 4.2.5.2 Limite de Detecção (LOD) e Limite de Quantificação (LOQ)

O LOD representa a concentração ou massa mínima do analito que pode ser detectada, em um nível de confiança conhecido (SKOOG *et al.*, 2008), o qual foi calculado por meio da razão entre a média de dez (10) determinações do desvio padrão do sinal do branco dos padrões ( $S_{br}$ ) e a inclinação da curva analítica ( $m$ ), multiplicado pelo fator 3, conforme a expressão (6):

$$LOD = \frac{3 \times S_{br}}{m} . \quad (6)$$

O LOQ representa a menor concentração em que determinações quantitativas podem ser realizadas, o qual foi calculado por meio de dez vezes a razão entre a média de dez (10) determinações do desvio padrão do sinal do branco das amostras ( $sbr$ ) e a inclinação da curva analítica ( $m$ ), conforme a expressão (7):

$$LOQ = \frac{10 \times sbr}{m} . \quad (7)$$

Os LODs e os LOQs para as espécies Ca, Cu, Fe, Mn, Ni e Zn foram determinados de acordo com as expressões (6) e (7) (BRITO *et al.*, 2003).

Uma vez que o fotômetro de chama utilizado não dispõe em seu sistema operacional a visualização do valor da intensidade de emissão, sendo observada apenas a concentração e, portanto, não sendo possível a construção da curva analítica para o K, Li e Na, os LOQs para estas espécies foram estimados por meio da diluição sucessiva das amostras.

Sendo assim, os LOQs foram determinados a partir das concentrações conhecidas das amostras em decrescentes diluições até o menor nível quantificável e que apresentasse um RSD inferior a 25 % para um número de determinações igual a 3.

#### 4.2.5.3 Exatidão

A exatidão do método indica a concordância entre o resultado de um ensaio e o valor de referência aceito como convencionalmente verdadeiro (SKOOG *et al.*, 2008). Foram utilizados dois processos para avaliar a exatidão dos métodos CA e DU:

(1) por meio de ensaios de adição e recuperação em dois níveis de concentrações, para um número de determinações igual a três, em que foram avaliadas as aplicabilidades dos métodos em função das amostras de **Fo**, **Fo-FI** e **FI** de jambú, sendo consideradas aceitas as recuperações obtidas na faixa de 90 a 110 %;

(2) por meio da comparação das concentrações obtidas do MR com o uso dos métodos desenvolvidos e os valores de suas concentrações declaradas. O MR (ARV 9: *Braquiária brizantha*) é uma gramínea comumente utilizada como pastagem na criação de bovinos que apresenta resistência a diversas condições ambientais, devido ao seu sistema radicular vigoroso e profundo. Os valores declarados das concentrações das espécies no MR são referentes a ensaios interlaboratoriais do Programa da Proficiência para Laboratório de Nutrição Animal.

A comparação foi feita utilizando o **Índice Z** (*z score*), de acordo com INMETRO (2003), em que se avaliou a aplicabilidade dos métodos CA e DU na digestão de outra matriz, bem como o desempenho do laboratório, conforme a expressão (8),

$$Z = \frac{|\bar{X}_{lab} - \bar{X}_{real}|}{s_{real}}, \quad (8)$$

em que  $\bar{X}_{lab}$  é a média das concentrações obtida neste trabalho,  $\bar{X}_{real}$  é o valor das concentrações aceito como verdadeiro ou o valor declarado para o MR e  $s_{real}$  é o desvio padrão declarado para o MR.

A avaliação do **Índice Z** segue a seguinte escala (INMETRO, 2003):

- $|Z| \leq 2$  o resultado é satisfatório;

- $2 < |Z| \leq 3$  o resultado é questionável;
- $|Z| > 3$  o resultado é insatisfatório.

#### 4.2.6 Comparação dos resultados entre os métodos

Com o objetivo de verificar as diferenças entre os resultados obtidos pelos métodos CA e DU, foram aplicados o teste **F** e o teste **t** emparelhado para avaliar, respectivamente, as precisões e os valores médios das suas concentrações, conforme descrito por Skoog *et al.* (2008).

#### 4.2.7 Avaliação nutricional do jambú

A avaliação nutricional das amostras de jambú estudadas foi feita tendo como base o Relatório Técnico do Ministério da Saúde (BRASIL, 1998), em que classifica um alimento como fonte em determinado mineral, quando 100 g deste apresentar de 15 a 29 % de sua IDR e um alimento de alto teor mineral quando apresentar mais que 30 % da sua IDR.

Deste modo, neste estudo a classificação mineral foi calculada para 50 g em massa úmida das amostras de **Fo** e **FI** de jambú, uma vez que geralmente sua ingestão não ultrapassa esta quantidade em massa.

#### 4.2.8 Tratamento dos resíduos gerados

Os resíduos das soluções de Ni foram estocados separadamente dos demais, a fim de realizar sua precipitação como  $\text{Ni(OH)}_2$  (COMITTEE ON HAZARDOUS SUBSTANCES IN THE LABORATORY, 1983).

As soluções das amostras utilizadas neste trabalho, em ambos os métodos, apresentaram acidez total máxima de 0,06 %, não havendo a necessidade de neutralização, e, portanto, podendo ser descartadas.

Os resíduos de ácidos oxidantes foram reaproveitados para a produção de solução de limpeza de frascos e vidrarias.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 CALCINAÇÃO (CA)

No desenvolvimento do método CA foram avaliados os efeitos da temperatura, do tempo de aquecimento para que fosse assegurado a oxidação eficaz da amostra, bem como a adição do  $Mg(NO_3)_2$  como fundente, em diferentes proporções e modos de homogeneização, para evitar a perda de espécies metálicas voláteis, tais como Ca, Li, K e Na, devido aos seus baixos pontos de ebulição (KRUG, 2001).

Os resultados das concentrações (mg/100g) e as recuperações (%) com seus RSDs, LODs e LOQs para as espécies metálicas, nas amostras de **Fo**, **Fo-FI** e **FI** de jambú em estudo, bem como os resultados das concentrações obtidas para o MR de *Braquiária brizantha* (mg/100g) em massas secas, quando submetido ao método CA e as suas concentrações declaradas pela EMBRAPA Pecuária Sudeste com seus respectivos desvios padrões são apresentados na Tabela 7.

Avaliando os resultados, observa-se que os valores dos RSDs estão na faixa de 0,02 a 10,83 %, indicando o método CA como preciso.

Os teores de Ni se mostram abaixo do LOQ ( $0,10 \text{ mg L}^{-1}$ ) em todas as amostras. Isto já era esperado, visto que o Ni é um micronutriente essencial para os vegetais, apresentando-se na faixa de  $0,05$  a  $5 \text{ mg Kg}^{-1}$  (AZEVEDO; CHASIN, 2003), participando da composição de enzimas e atuando em reações de oxi-redução (TAIZ; ZEIGER, 2004). Uma vez que em solos não contaminados, os teores de Ni, geralmente, apresentam-se em baixos níveis de concentrações (MALAVOLTA, 2006), concentrações elevadas desta espécie em vegetais pode indicar a contaminação do solo ou água, bem como, a aplicação indiscriminada de fertilizantes à base de cloreto e sulfato de níquel que podem provocar também a queda da produção vegetal (BERTON *et al.*, 2006).

As concentrações de Cu nas amostras de **Fo**, **Fo-FI** e **FI** se mostram próximas ao LOQ. Porém, uma vez que houve uma boa precisão para a determinação desta espécie, os resultados podem ser considerados semiquantitativos.

Tabela 7 - Resultados para o método CA, em massa seca, nas amostras de **Fo**, **Fo-FI** e **FI** de jambú e para o MR (n=3), com seus respectivos RSDs, acompanhados dos valores declarados para o MR pela EMBRAPA Pecuária Sudeste.

Espécies LOD (mg L <sup>-1</sup> ) LOQ (mg L <sup>-1</sup> )	Concentração mg/100g (RSD)	Recuperação % (RSD) Nível de concentração adicionada		Concentração do MR	
				Neste Trabalho mg/100g (RSD)	Valores Declarados mg/100g $\mu \pm \sigma$ , $ Z  = 1,96$
<b>Cu**</b> 0,08 0,20	<b>Fo:</b> 1,33 (8,45) <b>Fo-FI:</b> 1,60 (10,83) <b>FI:</b> 2,00 (10,76)	<b>0,2 mg L<sup>-1</sup></b>	<b>0,4 mg L<sup>-1</sup></b>	< LOQ	0,49 ± 0,29
		95,00 (7,44)	100,80 (3,79)		
		106,67 (6,63)	101,67 (5,12)		
<b>Ni**</b> 0,06 0,10	<b>Fo:</b> < LOQ <b>Fo-FI:</b> < LOQ <b>FI:</b> < LOQ	90,00 (5,56)	95,80 (1,51)	< LOQ	ND
		97,50 (3,63)	96,67 (5,38)		
		95,00 (7,44)	95,00 (2,63)		
<b>Zn**</b> 0,05 0,19	<b>Fo:</b> 3,16 (9,20) <b>Fo-FI:</b> 3,50 (4,95) <b>FI:</b> 4,21 (4,56)	95,00 (7,44)	90,00 (2,78)	1,83 (7,10)	2,35 ± 0,92
		101,67 (2,84)	97,50 (7,25)		
		100,00 (7,07)	90,83 (5,73)		
<b>Fe**</b> 0,10 0,43	<b>Fo:</b> 20,49 (1,76) <b>Fo-FI:</b> 19,38 (3,73) <b>FI:</b> 10,14 (4,18)	<b>1 mg L<sup>-1</sup></b>	<b>2 mg L<sup>-1</sup></b>	20,05 (3,29)	75,41 ± 20,46
		93,00 (1,08)	101,70 (2,48)		
		95,00 (2,98)	98,50 (4,26)		
<b>Li*</b> - 0,6	<b>Fo:</b> 18,07 (8,43) <b>Fo-FI:</b> 18,28 (7,73) <b>FI:</b> 16,62 (0,02)	90,33 (6,39)	106,00 (3,34)	< LOQ	ND
		102,00 (6,93)	106,00 (3,34)		
		95,00 (7,44)	90,00 (7,86)		
<b>Mn**</b> 0,03 0,14	<b>Fo:</b> 18,51 (4,04) <b>Fo-FI:</b> 18,03 (3,90) <b>FI:</b> 10,14 (7,33)	91,50 (0,77)	91,50 (1,55)	6,27 (1,91)	8,32 ± 2,11
		92,67 (8,72)	96,50 (4,24)		
		109,00 (6,49)	93,50 (1,60)		
<b>Na*</b> - 0,7	<b>Fo:</b> 32,94 (5,57) <b>Fo-FI:</b> 30,67 (5,95) <b>FI:</b> 30,55 (10,43)	95,00 (7,44)	105,00 (6,73)	< LOQ	20,00 ± 33,32
		95,00 (7,44)	100,00 (7,07)		
		98,00 (7,22)	91,50 (7,73)		
<b>K*</b> - 0,8	<b>Fo:</b> 3131,43 (1,40) <b>Fo-FI:</b> 2982,02 (2,39) <b>FI:</b> 3138,51 (1,58)	<b>10 mg L<sup>-1</sup></b>	<b>20 mg L<sup>-1</sup></b>	1858,28 (3,04)	1569,00 ± 311,64
		98,33 (5,87)	101,90 (9,84)		
		110,00 (9,09)	95,00 (7,44)		
<b>Ca**</b> 0,14 1,07	<b>Fo:</b> 998,37 (3,79) <b>Fo-FI:</b> 858,74 (2,47) <b>FI:</b> 556,31 (6,14)	107,00 (9,25)	105,00 (6,73)	557,88 (3,78)	439,00 ± 94,08
		101,00 (8,40)	102,50 (7,80)		
		107,37 (2,85)	96,35 (7,34)		

\* Determinação por FOC; \*\* Determinação por FAAS.

$\mu$  é a média da população;

$\sigma$  é o desvio padrão da população;

$|Z|$  é a razão entre o desvio da média e o desvio padrão da população.

Quanto às recuperações obtidas nos dois níveis de concentrações adicionados, os resultados estão na faixa de 90 a 110 % para todas as espécies em todas as amostras, indicando a eficiência do método CA.

Para a quantificação do Ca, a adição de  $\text{La}^{3+}$  a  $2.000 \text{ mg L}^{-1}$  como agente liberador é essencial, visto que previne a redução significativa do sinal, causada pela formação de óxido de cálcio na chama quando em presença de fosfatos e silicatos (OKUMURA, CAVALHEIRO, 2004), comumente presentes na composição química de vegetais (TAIZ; ZEIGER, 2004).

Apesar de estudos revelarem existir perdas por volatilização das espécies alcalinas (Ca, K, Li e Na) quando submetidas a tratamentos por calcinação (KRUG, 2001; ROWAN; ZAJICEK; CALABRESE, 1982; SCHWEDT, 1997), a quantidade e a forma do emprego do  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ , aliado ao programa de aquecimento utilizado, mostrou-se eficiente para todas as espécies.

Quando comparados os valores declarados das concentrações do MR com os obtidos pelo método CA, por meio do **Índice Z** (*z score*), verificou-se que os valores do **Índice Z** calculados se mostram satisfatórios. Isto é, menores que 2 para todas as espécies, exceto para o Fe que apresentou valor questionável (entre 2 e 3), porém não insatisfatório. A Tabela 8 apresenta os valores calculados do **Índice Z** para o MR.

Tabela 8 - Resultados do **Índice Z** (*z score*) calculado para as espécies metálicas obtidas para o MR pelo método CA.

<b>Espécies</b>	<b>Ca</b>	<b>Cu</b>	<b>Fe</b>	<b>K</b>	<b>Mn</b>	<b>Na</b>	<b>Zn</b>
<b><i>IZI</i></b>	1,26	1,35	<b>2,71</b>	0,93	0,97	0,55	0,56

Considerando que nas amostras do jambú o método CA apresentou boas recuperações para o Fe, o resultado questionável do **Índice Z** no MR se deve a, possivelmente, presença de espécies insolúveis ao  $\text{HNO}_3$  a 4 % (v/v) e/ou interferentes na composição química do resíduo da calcinação.

Aparentemente, a determinação do Fe por FAAS é livre de interferentes em condições instrumentais otimizadas. Entretanto, sabe-se que determinações do Fe por FAAS em alguns tipos de amostras, podem sofrer influências negativas que

dependem da sua composição. A literatura relata que a presença de Si na solução da amostra reduz o sinal do Fe, sendo recomendada a adição de  $\text{Ca}^{2+}$  a  $200 \text{ mg L}^{-1}$ , como agente liberador do Fe. A presença das espécies Al, Co, Cu, Mn, Ni,  $\text{SO}_4^{2-}$ , ácido cítrico e ácido tartárico também constituem influências negativas, as quais podem ser contornadas pela otimização das condições da atomização. Tal consideração é válida também para o Si (VARIAN, 1989; WELZ, 1985; GALLO; BATAGLIA; MIGUEL, 1971).

Com relação ao Si, que é um macronutriente em tecidos vegetais, sua presença poderia interferir na determinação do Fe nas amostras sob estudo (TAIZ; ZEIGER, 2004). Todavia, avaliando os teores de Ca presentes nestas matrizes, a presença do Si não é problema (GALLO; BATAGLIA; MIGUEL, 1971). Quanto aos outros interferentes, citados anteriormente, estes são micronutrientes, cujas concentrações não causam depressão do sinal analítico do Fe, desde que as condições instrumentais sejam otimizadas.

Por outro lado, as cinzas formadas com o uso do método CA podem ser constituídas de óxidos de Fe estáveis de difícil dissolução, os quais podem retê-lo. Neste caso, o uso de outros ácidos minerais como o HCl ou até mesmo a água régia poderiam ser mais eficientes na dissolução das cinzas que o  $\text{HNO}_3$ , liberando o ferro iônico para a solução (KRUG, 2001).

Uma vez que, em sua grande maioria, as amostras reais são de natureza complexa, a determinação de espécies metálicas, geralmente, requer adaptações na utilização de métodos analíticos que dependem, dentre outros fatores, da espécie a ser determinada e da sua composição. Dessa maneira o método CA se mostra uma boa opção para digestão de outras amostras de tecidos vegetais.

De um modo geral, o método CA garante uma amostragem representativa, considerando a natureza heterogênea da matriz estudada, cujos resultados obtidos se mostram precisos e exatos na quantificação de todas as espécies em todas as amostras de jambú. Além disso, os resultados obtidos com o MR revelam o bom desempenho laboratorial, bem como, demonstram sua aplicabilidade em outras matrizes ambientais.

Avaliando a proximidade dos resultados obtidos para as amostras de **Fo** e **Fo-Fi** de jambú, foram aplicados os testes **F** e **t** emparelhado a 95 % de confiança para observar se estes apresentam diferenças significativas entre suas precisões e

concentrações médias, respectivamente. A Tabela 9 apresenta os valores de **F** e **t** calculados.

Tabela 9 - Valores de **F** e **t** calculados para os resultados nas amostras de **Fo** e **Fo-FI** de jambú.

<b>Espécies</b>	<b>Ca</b>	<b>Cu</b>	<b>Fe</b>	<b>K</b>	<b>Li</b>	<b>Mn</b>	<b>Na</b>	<b>Zn</b>
<b>Teste F</b>	3,2	2,4	4,0	2,7	1,2	1,1	1,0	2,7
<b>Teste t</b>	3,22*	1,31*	1,85**	2,39**	0,16***	0,63***	0,88*	1,03*

**F** crítico a 95 % de confiança para n graus de liberdade: **19,0 e n=2;**

**t** crítico a 95 % de confiança para n graus de liberdade: \* **4,3 e n = 2;** \*\* **3,18 e n = 3;** \*\*\* **2,78 e n = 4.**

Os resultados dos testes **F** e **t** demonstraram que não existem diferenças significativas entre as precisões e as concentrações obtidas nas amostras de **Fo** e **Fo-FI** para todas as espécies com 95 % de confiança. Considerando que na preparação da amostra de **Fo-FI** foi mantida a proporção de folhas e flores presentes nos maços de jambú comercializados nas Feiras de Boa Vista/RR e como existe uma maior quantidade de folhas em relação às flores, a amostra **Fo-FI** é formada em sua maioria por folhas, em que a quantidade e composição das flores presentes não influenciaram a composição desta amostra.

## 5.2 DIGESTÃO ÚMIDA EM BLOCO DIGESTOR (DU)

Para o desenvolvimento do método DU foram avaliadas diferentes proporções de misturas oxidantes de HNO<sub>3</sub>, HCl e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, em diferentes programas de aquecimento no bloco digestor.

Os resultados das concentrações (mg/100g) e as recuperações (%) com seus RSDs, LODs e LOQs para as espécies metálicas em estudo, nas amostras de **Fo** e **FI** de jambú, bem como os resultados das concentrações obtidas em massas secas do MR de *Braquiária brizantha* (mg/100g) quando submetido ao método DU e suas concentrações declaradas (mg/100g) pela EMBRAPA Pecuária Sudeste com seus desvios padrões são apresentados na Tabela 10.

Tabela 10 - Resultados para o método DU, em massa seca, nas amostras de **Fo** e **FI** de jambú e para o MR (n=3), com seus respectivos RSDs, acompanhados dos valores declarados para o MR pela EMBRAPA Pecuária Sudeste.

Espécies LOD (mg L <sup>-1</sup> ) LOQ (mg L <sup>-1</sup> )	Concentração mg/100g (RSD)	Recuperação % (RSD) Nível de concentração adicionada		Concentração do MR	
				Neste Trabalho mg/100g (RSD)	Valores Declarados mg/100g $\mu \pm \sigma$ , $ Z  = 1,96$
<b>Cu**</b> 0,08 0,16	<b>Fo:</b> 1,22 (9,37) <b>FI:</b> 1,57 (12,16)	<b>0,2 mg L<sup>-1</sup></b>	<b>0,4 mg L<sup>-1</sup></b>	< LOQ	0,49 ± 0,29
		110,00 (4,55)	95,00 (0,01)		
		91,67 (8,33)	90,00 (8,33)		
<b>Ni**</b> 0,12 0,26	<b>Fo:</b> <LOQ <b>FI:</b> <LOQ	110,00 (7,87)	92,50 (4,68)	< LOQ	ND
		105,00 (4,76)	95,83 (6,57)		
<b>Zn**</b> 0,05 0,09	<b>Fo:</b> 3,19 (4,00) <b>FI:</b> 3,91 (4,88)	110,00 (6,43)	110,00 (3,94)	1,83 (8,74)	2,35 ± 0,92
		95,00 (7,44)	105,83 (6,82)		
<b>Fe**</b> 0,10 0,25	<b>Fo:</b> 22,99 (5,11) <b>FI:</b> 14,16 (7,09)	<b>1,0 mg L<sup>-1</sup></b>	<b>2,0 mg L<sup>-1</sup></b>	59,40 (0,49)	75,41 ± 20,46
		109,33 (1,06)	106,00 (4,32)		
		108,00 (2,62)	96,17 (2,34)		
<b>Li*</b> - 0,6	<b>Fo:</b> 5,92 (0,29) <b>FI:</b> ND	80,00 (0,01)	78,30 (3,69)	< LOQ	ND
		110,00 (0,01)	83,33 (3,46)		
<b>Mn**</b> 0,03 0,16	<b>Fo:</b> 16,91 (4,24) <b>FI:</b> 9,65 (5,60)	96,00 (7,37)	99,20 (9,37)	6,61 (4,84)	8,32 ± 2,11
		97,33 (2,37)	92,00 (0,54)		
<b>Na*</b> - 1,2	<b>Fo:</b> 36,79 (10,15) <b>FI:</b> 32,72 (13,20)	105,00 (6,73)	100,00 (7,07)	< LOQ	20,00 ± 33,32
		100,00 (7,07)	110,00 (9,64)		
<b>K*</b> - 1,2	<b>Fo:</b> 3474,95 (2,31) <b>FI:</b> 3542,43 (3,78)	<b>10 mg L<sup>-1</sup></b>	<b>20 mg L<sup>-1</sup></b>	1976,24 (1,17)	1569,00 ± 311,64
		100,03 (5,77)	105,00 (5,50)		
		100,0 (10,00)	90,00 (7,86)		
<b>Ca**</b> 0,14 0,85	<b>Fo:</b> 1101,73 (2,72) <b>FI:</b> 682,74 (2,80)	94,00 (9,03)	93,50 (6,81)	457,96 (2,52)	439,00 ± 94,08
		97,30 (2,91)	103,15 (4,80)		

\* Determinação por FOC; \*\* Determinação por FAAS.

$\mu$  é a média da população;

$\sigma$  é o desvio padrão da população;

$|Z|$  é a razão entre o desvio da média e o desvio padrão da população.

Analisando os resultados apresentados na Tabela 10, observam-se:

- RSDs inferiores a 10 % para a maioria das espécies nas amostras estudadas, indicando o método DU como preciso;
- teores de Ni, como esperado, abaixo do LOQ ( $0,26 \text{ mg L}^{-1}$ ) em todas as amostras;
- concentrações de Cu nas amostras de **Fo** e **FI** próximas ao LOQ, sendo seus valores considerados apenas estimativas de suas reais concentrações;
- que não foram detectados sinais de emissão de Li nas amostras de **FI**. Além disso, as recuperações obtidas nas amostras de **Fo** e **FI** são insatisfatórias nos dois níveis de concentrações adicionados, indicando perdas desta espécie e/ou redução do seu sinal. Possivelmente, interferentes químicos, espectrais e/ou a complexação desta espécie em moléculas orgânicas contribuíram para estes resultados. Desse modo, o método DU demonstra a necessidade de otimizações para a quantificação de Li quanto a adições de supressores, reagentes, temperatura e tempo de digestão;
- recuperações obtidas nos dois níveis de concentrações adicionados para as demais espécies na faixa de 90 a 110 % em todas as amostras, indicando a eficiência do método DU.

As concentrações obtidas para o MR quando submetido ao método DU foram comparadas com os valores declarados por meio do cálculo do **Índice Z** (*z score*), cujos resultados apresentados na Tabela 11 se mostram satisfatórios (menores que 2) para todas as espécies, revelando o bom desempenho laboratorial.

Tabela 11 - Resultados do **Índice Z** (*z score*) quando comparadas as concentrações obtidas do MR pelo método DU.

<b>Espécies</b>	<b>Ca</b>	<b>Cu</b>	<b>Fe</b>	<b>K</b>	<b>Mn</b>	<b>Na</b>	<b>Zn</b>
<b><i>IZI</i></b>	0,20	1,24	0,78	1,31	0,81	0,41	0,56

De modo geral, o método DU é eficiente na quantificação de todas as espécies metálicas nas amostras de jambú estudadas, exceto para o Li. Além disso, apresenta-se como opção eficiente para o tratamento de amostras sem que haja a utilização de temperaturas muito elevadas, minimizando, assim, a possibilidade de

volatilização de algumas espécies. Os resultados obtidos para o MR por este método revelam o bom desempenho laboratorial, bem como a sua aplicabilidade em outras matrizes ambientais.

### 5.3 COMPARAÇÃO ENTRE OS MÉTODOS CA E DU

A fim de verificar se existem diferenças significativas entre as concentrações das amostras de **Fo** e **FI** obtidas através dos métodos CA e DU, foram empregados os testes estatísticos **F** e **t** emparelhado com 95 % de confiança.

Considerando que as determinações foram realizadas em triplicatas, os valores de **F** calculados foram para dois graus de liberdade, com valor crítico para **F** tabelado de 19,0 (SKOOG *et al.*, 2008). A Tabela 12 apresenta os valores de **F** calculados para as espécies determinadas nas amostras de jambú, exceto o Li e Ni, em que se observa que todos os resultados estão abaixo do valor de **F** tabelado, demonstrando que as precisões entre os dois métodos não diferem significativamente a 95 % de confiança.

Tabela 12 - Valores de **F** calculados para os resultados obtidos com o uso dos métodos CA e DU nas amostras de **Fo** e **FI** de jambú.

Espécies	F calculado	
	Fo	FI
Ca	1,6	3,2
Cu	1,0	3,0
Fe	10,6	5,6
K	3,4	7,2
Mn	1,1	1,9
Na	4,2	1,8
Zn	4,9	1,0

F crítico a 95 % de confiança para n graus de liberdade: **19,0 e n=2.**

Uma vez que as precisões entre os métodos CA e DU não apresentam diferenças significativas a 95 % de confiança, foi aplicado o teste **t** emparelhado

entre as médias das concentrações obtidas para estas amostras. A Tabela 13 apresenta os valores obtidos pelo teste  $t$  emparelhado para as concentrações, considerando o  $t$  crítico a 95 % de confiança nos graus de liberdade das quantificações.

Tabela 13 - Valores de  $t$  calculados para os resultados obtidos com o uso dos métodos CA e DU nas amostras de **Fo** e **FI** de jambú.

Espécies	$t$ calculado	
	Fo	FI
Ca	2,14*	3,23*
Cu	0,92**	1,43*
Fe	2,73**	3,69*
K	3,75*	2,74*
Mn	2,08**	0,93***
Na	1,89**	0,54**
Zn	0,13**	1,84***

$t$  crítico a 95 % de confiança para  $n$  graus de liberdade: \* 4,3 e  $n = 2$ ; \*\* 3,18 e  $n = 3$ ; \*\*\* 2,78 e  $n = 4$ .

Os resultados apresentados pelo teste  $t$  mostram que as concentrações obtidas nas amostras **Fo** e **FI** de jambú com o uso dos métodos CA e DU não diferem significativamente a 95 % de confiança para todas as espécies.

Comparando os LOQs obtidos nos métodos CA e DU, observa-se que apesar do método DU apresentar maior número de etapas de manipulação e de reagentes, mostra menores valores para Ca, Cu, Fe e Zn, enquanto que o método CA para K, Mn, Na e Ni e para as quantificações de Li os métodos apresentam LOQs semelhantes.

Em ambos os métodos e para todas as amostras são observados teores de Ni abaixo dos LOQs e concentrações de Cu próximas aos LOQs. Porém, uma vez que os métodos apresentaram boas precisões, bem como recuperações na faixa de 90 a 110 %, os resultados indicam baixos teores destas espécies nas amostras sob estudo.

Quanto ao Li, não foram detectados sinais de emissão nas determinações de **FI** pelo método DU, enquanto que, para as amostras de **Fo** seus teores se apresentam baixos em relação aos obtidos pelo método CA. Diante deste contexto, e considerando as baixas recuperações para esta espécie no método DU, pode-se concluir que o método CA apresenta melhor eficiência analítica para a determinação desta espécie.

De modo geral, a avaliação das concentrações de Ca, Cu, Fe, K, Li, Mn, Na, Ni e Zn nas amostras de jambú estudadas através dos métodos CA e DU, mostram que:

- O método CA é simples, preciso, sensível e exato para a determinação das concentrações de todas as espécies estudadas, podendo ser usado como referência para comparação com novos métodos de análise. Além disso, apresenta menores: número de reagentes; quantidades de resíduos; etapas de manipulação; riscos de contaminações da amostra. Por outro lado, apresenta baixa velocidade de destruição da matéria orgânica e elevado consumo de energia elétrica.
- O método DU é simples, preciso, sensível e exato para a determinação das concentrações de todas as espécies estudadas, exceto para o Li, em que é necessária a otimização. Outra vantagem do uso deste método é a utilização de baixas temperaturas que previne perdas de espécies voláteis. No entanto, para a sua aplicação é necessário o monitoramento periódico do processo pelo analista, apresentando também maiores: número de reagentes; quantidades de resíduos; etapas de manipulação; riscos de contaminações da amostra.

Quando avaliada a eficiência laboratorial e analítica por meio da aplicação dos métodos CA e DU no MR, observa-se que os resultados obtidos estão dentro do intervalo da incerteza dos valores declarados. Isto é, o desempenho laboratorial se mostrou satisfatório para todas as espécies metálicas nos dois métodos, exceto para o Fe no método CA, em que são necessárias adequações. Logo, os resultados obtidos com o método DU no MR para a quantificação do Fe corroboram com a justificativa, apresentada anteriormente, de que o uso do método CA proporciona a formação de espécies químicas de difícil solubilização em  $\text{HNO}_3$ .

Além disso, verifica-se que os métodos desenvolvidos são também promissores para a determinação de outras espécies metálicas em outras amostras de tecidos vegetais.

#### 5.4 AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DO JAMBÚ

O potencial terapêutico do jambú é reconhecido e utilizado tanto popularmente, como industrialmente, além de ser apreciado na culinária da região Norte, no entanto, o seu potencial nutricional ainda é pouco explorado.

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) do Ministério da Saúde, com base nos dados OMS, na Organização de Alimentos e Agricultura das Nações Unidas (FAO) e no Institute of Medicine dos Estados Unidos da América, regulamenta a IDR de nutrientes no Brasil, a qual está baseada no consumo mínimo/máximo admitido pelo organismo humano, a fim de prevenir deficiências que possam impedir o seu bom funcionamento e de evitar a toxicidade (BRASIL, 2005).

A Tabela 14 apresenta os valores da IDR de minerais ( $\text{mg dia}^{-1}$ ) para um adulto saudável (BRASIL, 2005; INSTITUTE OF MEDICINE, 2012; SCHRAUZER, 2002), a porcentagem da IDR contemplada quando ingeridos 50 g em massa úmida de amostras de **Fo** e **FI** de jambú, bem como suas classificações quanto fontes nutricionais.

Analisando os resultados da Tabela 14, observa-se que segundo a classificação nutricional feita por Brasil (1998), as amostras de **Fo** e **FI** de jambú possuem altos teores em Li e Mn, além das **FI** serem fontes em Cu. Diante dos resultados, recomenda-se a inclusão do jambú na dieta alimentar brasileira, por apresentar minerais em quantidades suficientes que podem contribuir para correções nutricionais.

Dessa forma, estes resultados apresentam novas informações de um alimento comum na região Norte brasileira que poderão ser úteis na formação de uma base de dados de composição mineral e na popularização desta hortaliça em outras regiões.

Comparações dos teores dos nutrientes inorgânicos nas amostras estudadas com valores reportados na literatura são complexas, devido a fatores inter-relacionados, tais como genéticos, solo, clima, estágio de maturidade do vegetal, períodos de coleta, biodisponibilidade de nutrientes, tratamento dado às amostras e etc (TELES, 2010 *apud* SILVA; SANTOS; PAIVA, 1998; HARDISSON *et al.* 2001). Mesmo assim, nas Tabelas 15 e 16 são confrontadas as concentrações das espécies inorgânicas estudadas nas **Fo** e **FI** de jambú, seus teores de cinzas (%) e umidade (%) com dados da literatura para esta espécie vegetal.

Tabela 14 - Valores da IDR em minerais, porcentagem da IDR contemplada em 50 g em massa úmida das amostras de **Fo** e **FI** de jambú e suas classificações quanto à fonte nutricional.

Elementos	IDR (mg dia <sup>-1</sup> )	Porcentagem da IDR no jambú*	Classificação das Amostras
<b>Ca</b>	1000 <sup>a</sup>	Fo: 8,55 FI: 4,76	-
<b>Cu</b>	0,9 <sup>a</sup>	Fo: 12,78 FI: 19,17	Fo: - FI: Fonte
<b>Fe</b>	14 <sup>a</sup>	Fo: 12,54 FI: 5,46	-
<b>K</b>	4700 <sup>b</sup>	Fo: 5,70 FI: 5,74	-
<b>Li</b>	1 <sup>c</sup>	Fo: 154,5 FI: 142,5	Fo: Alto teor FI: Alto teor
<b>Mn</b>	2,3 <sup>a</sup>	Fo: 68,91 FI: 37,72	Fo: Alto teor FI: Alto teor
<b>Na</b>	1500 <sup>b</sup>	Fo: 0,18 FI: 0,17	-
<b>Zn</b>	7 <sup>a</sup>	Fo: 3,86 FI: 5,14	-

FORNE: (a) BRASIL, 2005; (b) INSTITUTE OF MEDICINE, 2012; (c) SCHRAUZER, 2002.

\* 50 g em massa úmida.

Foram encontrados apenas dois trabalhos relatando a composição inorgânica das flores de jambú (BORGES, 2009; MAIGA *et al.*, 2005), em que na comparação (Tabela 15), observam-se que as concentrações de Ca, Cu e Mn nas amostras de **FI** em estudo estão próximas as determinadas por Borges (2009) e Cu, Fe e Mn por Maiga *et al.* (2005).

Quanto à comparação das amostras de **Fo** (Tabela 16), os teores em Ca apresentados por Pinheiro *et al.* (2003) e Villachicas *et al.* (1996); em Fe por Villachicas *et al.* (1996); em Mn por Borges (2009) e Sawaki (2000); em umidade por Nascimento-Jaehnke (2006) e Villachicas *et al.* (1996) mostram certa concordância com as concentrações obtidas neste estudo.

Não foram encontradas referências na literatura relacionadas ao teor de Li em amostras de jambú. No entanto, o Li é um nutriente essencial em humanos, uma vez

que é responsável pela síntese de neurotransmissores cerebrais, sendo usado freqüentemente no tratamento de enfermidades psiquiátricas como a síndrome do pânico, distúrbios bi-polares e desequilíbrios de humor (GUILHERME, 2007; SCHRAUZER, 2002).

Tabela 15 - Comparação entre as faixas de concentrações dos nutrientes (mg/100g) obtidos pelo método CA, cinzas (%) e a umidade (%) nas amostras de **FI** de jambú com valores da literatura.

REFERÊNCIAS	Ca	Cu	Fe	K	Li	Mn	Na	Ni	Zn	Umidade	Cinzas
<b>MÉTODO CA</b>											
Faixa de massa seca	522,13	1,79	9,48	3100,63	16,62	9,40	27,37	<LOQ	4,02	83,2	11,18
	590,49	2,21	10,14	3200,39	16,62	10,88	33,73		4,40	85,6	11,30
<b>Borges (2009)</b>											
Faixa de massa seca	<b>470,00</b>	<b>1,70</b>	59,96	2304,00	ND	<b>6,45</b>	ND	ND	2,83	ND	ND
	<b>590,00*</b>	<b>1,90*</b>	129,84			<b>27,32*</b>			3,34		
<b>Maiga et al. (2005)</b>											
Faixa de massa seca	ND	<b>1,65</b>	<b>0,0</b>	ND	ND	<b>10,67</b>	ND	0,24	6,20	ND	8,8
		<b>1,77*</b>	<b>130,0*</b>			<b>10,88*</b>		0,48	6,36		9,2

ND: Não Determinado

\*Valores próximos aos deste trabalho.

Tabela 16 - Comparação entre as faixas de concentrações dos nutrientes (mg/100g) obtidos pelo método CA, cinzas (%) e a umidade (%) nas amostras de **Fo** de jambú com valores da literatura.

REFERÊNCIAS	Ca	Cu	Fe	K	Li	Mn	Na	Ni	Zn	Umidade	Cinzas
<b>MÉTODO CA</b>											
Faixa de massa úmida	164,44	0,21	3,45	528,60	2,83	3,04	5,33	<LOQ	0,49	81,80	15,63
	177,40	0,25	3,57	543,60	3,35	3,30	5,33		0,59		
Faixa de massa seca	960,50	1,22	20,13	3097,98	16,55	17,76	31,11	<LOQ	2,87	94,00	15,87
	1036,24	1,44	20,85	3175,22	19,59	19,26	34,77		3,45		
<b>Borges (2009)</b>											
Faixa de massa seca	1216,00	1,68	97,97	6120,00	ND	<b>16,49</b>	ND	ND	4,54	ND	ND
		3,40	129,90						<b>59,45*</b>		
<b>Rahman et al. (2007)</b>											
Faixa de massa seca	ND	ND	ND	4143,00	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
<b>Nascimento-Jaehnke(2006)</b>											
Faixa de massa seca	ND	ND	61,56	ND	ND	31,32	ND	ND	67,14	<b>84,00</b>	ND
		75,24	38,28			82,06					
Faixa do chá	ND	0,55	5,80	ND	ND	2,55	ND	0,048	4,51	<b>93,00*</b>	ND
		0,65	6,20			2,75		0,052	5,49		
<b>Pinheiro et al. (2003)</b>											
Faixa de massa úmida	<b>157,00*</b>	ND	1,00	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
<b>Sawaki (2000)</b>											
Faixa de massa seca	1830,00	3,00	27,83	2215,00	ND	<b>15,83</b>	ND	ND	5,38	ND	ND
	2685,00	3,43	37,68	2535,00		<b>23,70*</b>					
<b>Villachicas et al. (1996)</b>											
Faixa de massa úmida	<b>162,00*</b>	ND	<b>4,00*</b>	ND	ND	ND	ND	ND	ND	<b>89,00*</b>	1,60

ND: Não Determinado

\*Valores próximos aos deste trabalho.

## 6. CONCLUSÕES

Os métodos desenvolvidos CA e DU se mostraram simples, precisos, sensíveis e exatos para as determinações das concentrações de todas as espécies metálicas estudadas no jambú, exceto para o Li no método DU que necessita de otimizações.

Em ambos os métodos e para todas as amostras de jambú observam-se que os teores de Ni estão abaixo dos LOQs e as concentrações de Cu próximas aos LOQs.

As amostras de **Fo** e **Fo-FI** do jambú não apresentam diferenças significativas (95 % de confiança) entre as precisões e as concentrações obtidas para todas as espécies estudadas.

Os resultados obtidos, precisões e concentrações médias, com o uso dos dois métodos desenvolvidos nas amostras **Fo** e **FI** do jambú mostraram não diferir significativamente (95 % de confiança) para todas as espécies metálicas estudadas.

Quanto aos LOQs, o método DU mostrou melhores resultados para as espécies Ca, Cu, Fe e Zn, enquanto o método CA para K, Mn, Na e Ni; para o Li os resultados foram semelhantes.

Quando avaliada a eficiência laboratorial e analítica por meio da aplicação dos métodos CA e DU no MR, observa-se que os resultados obtidos estão dentro do intervalo da incerteza dos valores declarados, exceto para o Fe no método CA, em que são necessárias adequações. Portanto, o desempenho laboratorial se mostrou satisfatório para as demais as espécies metálicas estudadas nos dois métodos, sendo promissores para a determinação de outras espécies metálicas em outras amostras de tecidos vegetais.

De modo geral, o método CA apresenta menores: número de reagentes; quantidade de resíduo; etapas de manipulação; riscos de contaminações da amostra. Por outro lado, apresenta baixa velocidade de destruição da matéria orgânica e elevado consumo de energia elétrica. Enquanto o método DU utiliza baixas temperaturas que previne perdas de espécies voláteis, entretanto para a sua aplicação é necessário o monitoramento periódico do processo pelo analista, apresentando em relação ao método CA maiores: número de reagentes; quantidades de resíduos; etapas de manipulação; riscos de contaminações da amostra.

Quanto ao potencial nutricional, os resultados mostram que a ingestão de 50 g em massa úmida de jambú contribui com altos teores em Li e Mn, sendo suas **FI** uma fonte em Cu, recomendando-se a inserção desta hortaliça na dieta humana.

Os resultados obtidos para as espécies metálicas, cinzas e umidade nas amostras de jambú se mostram próximos ao de alguns dados da literatura.

Os resultados apresentam novas opções de métodos de tratamento de amostras para quantificações de espécies metálicas em tecidos vegetais, bem como assinalam novas informações sobre alimentos consumidos nacionais que poderão ser úteis na complementação de bases de dados de composição mineral e na popularização do jambú.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, V. F. de; PETRY, A. C.; ECHEVERRIA, R. M.; FERNANDES, E. C.; PASTORE, F. Jr. **Plantas da Amazônia para produção cosmética: uma abordagem química - 60 espécies do extrativismo florestal não-madeireiro da Amazônia**. Projeto ITTO - Organização Internacional de Madeiras Tropicais - PD 31/99 Rev.3 (I). Universidade de Brasília – UnB: Brasília, 2007.

ARMOND, C. **Indicadores químicos, crescimento e bioeletrografias de plantas de jambu (*Acmella oleracea* L.), capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC) e folha da fortuna (*Bryophyllum pinnatum* (Lam) Oken) submetidas a tratamentos homeopáticos**. Viçosa, 2007. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa.

ARRUDA, M. A. Z. **Trends in Sample Preparation**. New York: Nova Science Publishers, p.53-86, 2006.

AZEVEDO, F. A. de; CHASIN, A. A. da M. **Metais: Gerenciamento da toxicidade**. São Paulo: Atheneu, p.127-142, 2003.

BALCERZAK, M. Sample digestion methods for the determination of traces of precious metals by spectrometric techniques. **Analytical Sciences**, Warsaw, v.18, p.737-750, jul. 2002.

BERTON, R. S.; PIRES, A. M. M.; ANDRADE, S. A. L. de; ABREU, C. A. de; AMBROSANO, E. J.; SILVEIRA, A. P. D. da. Toxicidade do níquel em plantas de feijão e efeitos sobre a microbiota do solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v.41, n.8, p.1305-1312, ago. 2006.

BORGES, L. S. **Biomassa, teores de nutrientes, espilantol e atividade antioxidante em plantas de jambu (*Acmella ciliata* kunth) sob adubações mineral e orgânica**. Botucatu, 2009. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Horticultura) - Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista.

BOSCH, C.H. *Acmella oleracea* (L.) R. K. Jansen. **Record from Protabase**. Wageningen, Netherlands. PROTA (Plant Resources of Tropical Africa/Ressources végétales de l'Afrique tropicale), 2004. Disponível em: <http://database.prota.org/search.htm>. Acesso em: 27 jan. 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Coordenação Geral da Política da Alimentação e Nutrição. **Ações de Incentivo ao Consumo de Frutas e Hortaliças do Governo Brasileiro**. Brasília: 2009.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. **Política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos**. Brasília: Ministério da Saúde, 2006.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Regulamento Técnico sobre a Ingestão Diária Recomendada (IDR) de Proteína, Vitaminas e Minerais. Resolução de Diretoria Colegiada - RDC - N° 269 de 2005.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Regulamento técnico referente à informação nutricional complementar. Portaria N° 27 de 13 de jan. 1998.

BRAZ, T., BEBER, T. C., NOVAES, A., ESTEVES, S. S., OLIVEIRA, A. P. **Influência do revestimento da embalagem na estabilidade química de uma emulsão óleo em água contendo espilantol**. Anais do 21° Congresso Brasileiro de Cosmetologia, São Paulo, p.15-17, 2007.

BRITO, N. M.; AMARANTE JUNIOR, O. P.; POLESE, L.; RIBEIRO, M. L. Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v 13, p.129-146, jan./dez. 2003.

CARLINI, E.A.; RODRIGUES, E.; MENDES, F.R.; TABACH, R.; GIANFRATTI, B. Treatment of drug dependence with brazilian herbal medicines. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v.16, p.690-695, 2006.

CARNEIRO, C.; REISSMANN, C. B.; MARQUES, R. Comparação de métodos de análise química de K, Ca, Mg e Al em folhas de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). **Cerne**, v. 12, n.2, p.113-122, abr./jun. 2006.

CAVALCANTI, V. M. S. **Extração de espilantol de *Spilanthes acmella* var *oleraceae* com dióxido de carbono supercrítico**. Campinas, 2008. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Universidade Estadual de Campinas.

CHUNG, K. F.; KONO, Y.; WANG, C. M.; PENG, C. Notes on *Acmella* (*Asteraceae: Heliantheae*) in Taiwan. **Botanical Studies**, v. 49, p.73-82, jun./dez. 2008.

CIENFUEGOS, F.; VAITSMAN, D. **Análise Instrumental**. Rio de Janeiro: Interciência, 2000.

COMITTEE ON HARZARDOUS 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 D, p.247-249, 1983.

COUTINHO, L. N.; APARECIDO, C. C.; FIGUEIREDO, M. B. Galls and deformation on jambu (*Spilanthes oleraceae*) caused by *Tecaphora spilanthes* (Ustilaginales). **Summa Phytopathologica**, v.32, n.3, p.283-285, 2006.

CROSBY, N. T. Determination of metals in foods: a review. **The Analyst**, v.102, p.225-268, abr. 1977.

DELARCINA, S.; CAGNON, J.; SILVA, A. R.; FUKUSAWA, V. E. N. Process of Preparing Jambu Extract, Use of Said Extract, Cosmetic Compositions Comprising Thereof and Cosmetic Products Comprising Said Cosmetic Compositions. 2008. Disponível em: <http://www.freepatentsonline.com/y2008/0171003.html>. Acesso em: 02 jan. 2010.

DEMARNE, F.; PASSARO, G. **Use of an *Acmella oleracea* extract for its botox-like effect in an antiwrinkle cosmetic composition**. FR Pat. 286513; ago. 2005.

EWING, G. W. **Métodos Instrumentais de Análise Química**. Rio de Janeiro: Edgard Blucher LTDA, 5ª reimpressão. 1989.

FABRY, W., OKEMO, P. O.; ANSORG, R. Antibacterial activity of East African medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v.60, n.1, p.79–84, 1998.

FAO/OMS – Organização de Alimentos e de Agricultura das Nações Unidas, OMS - Organização Mundial de Saúde. **Manual Das Necessidades Nutricionais Humanas**, Organização de Alimentos e de Agricultura das Nações Unidas, Relatório sobre as necessidades mínimas de calorias dos nutrientes e de consumo alimentar. São Paulo: Atheneu, 2003.

FERREIRA, S. da C.; CARVALHO-OKANO, R. M. de; NAKAJIMA, J. N. A família Asteraceae em um fragmento florestal, Viçosa, Minas Gerais, Brasil. **Rodriguésia**, v.60, n.4, p.903-942, 2009.

GALLO, J. R.; BATAGLIA, O. C.; MIGUEL, P T. N. A determinação do cobre, ferro, manganês e zinco num mesmo extrato de plantas, por fotometria de chama de absorção. **Bragantia**, V.30, p.65-77, 1971.

GASQUET, M., DELMAS, F., TIMON-DAVID, P., KEITA, A., GUINDO, M., KOITA, N., DIALLO, D.; DOUMBO, O. Evaluation in vitro and in vivo of a traditional antimalarial, "Malarial 5". **Fitoterapia**, v.64, n.5, p.423–426, 1993.

GUILHERME, M. C. G. **Carbonato de lítio: utilização da espectrofotometria de absorção atômica em bioequivalência e perfil de uso na pediatria**. São Paulo, 2007. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade de São Paulo.

GUSMÃO, S. A. L.; GUSMÃO, M. T. A.; VELASCO, W.; SILVESTRE, D.; LOPES, P. R. A. Caracterização do cultivo de jambú nas áreas produtoras que abastecem a grande Belém. **Associação Brasileira de Horticultura**. 2006. Disponível em: [www.abhorticultura.com.br/Biblioteca/Default.asp](http://www.abhorticultura.com.br/Biblioteca/Default.asp). Acesso em: 15 jan. 2010.

HARDISSON, A.; RUBIO, C.; BAEZ, A.; MARTIN, M.; ALVAREZ, R. Mineral composition of the banana (*Musa acuminata*) from the island of Tenerife. **Food Chemistry**, n.73, p.153-161, 2001.

HIND, N.; BIGGS, N. *Acmella oleracea*: Compositae. **Curtis's Botanical Magazine**, v.20, n.1, p.31–39, 2003.

HOENIG, M.; KERSABIEC, A. M. Sample preparation steps for analysis by atomic spectroscopy methods: present status. **Spectrochimica Acta**, Part B, v.51, p.1297-1307, 1996.

INMETRO - INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL. **Orientações sobre validação de Métodos de Ensaio Químicos**. DOQ-CGCRE-008. Revisão: 01, mar. 2003.

INSTITUTE OF MEDICINE. **Dietary Reference Intakes (DRIs): Recommended Dietary Allowances and Adequate Intakes, Elements**. Food and Nutrition Board, National Academies. Disponível em: <http://www.nap.edu>. Acesso em: abr. 2012.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (IAL). (São Paulo). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. Coordenadores: Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea -- São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 4 ed., 1ª edição Digital, 2008.

KINUPP, V. F. **Plantas alimentícias não-convencionais (PANCs): uma riqueza negligenciada**. Anais da 61ª Reunião Anual da SBPC - Manaus, AM - Julho/2009.

KINUPP, V. F.; BARROS, I. B. I. de. Teores de proteína e minerais de espécies nativas, potenciais hortaliças e frutas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.28, n.4, p.846-857, out./dez. 2008.

KRUG, F. J. **Métodos de Decomposição de Amostras**. 11º Encontro Nacional de Química Analítica. São Paulo: Campinas, 2001.

KRUG, F. J.; NÓBREGA, J. A.; OLIVEIRA, P. V. **Espectrometria de absorção atômica**. Parte 1: fundamentos e atomização com chama. São Paulo: CENA-USP, 2004.

LENNON, P.; SCHUBNEL, L. *Acmella oleracea* extract evaluated. Personal Care Magazine. **Gattefossé**: França, 2007. Disponível em: [www.personalcaremagazine.com](http://www.personalcaremagazine.com). Acesso em: Nov. 2011.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais do Brasil: nativas e exóticas cultivadas**. São Paulo: Nova Odessa, Instituto Plantarum, p.396, 2002.

MAIGA, A.; DIALLO, D.; BYE, R.; PAULSEN, B. S. Determination of some toxic and essential metal ions in medicinal and edible plants from Mali. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Bamako, v.53, n.6, p.2316-2321, jan. 2005.

MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Ceres, 2006.

MALOSSO, M. G. **Micropropagação de *Acmella oleracea* (L.) R. K. Jansen e estabelecimento de meio de cultura para a conservação desta espécie em de banco de germoplasma *in vitro***. Coari, 2007. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Amazonas.

MANHÃES, L. R. T.; MARQUES, M. M.; SABAA-SRUR, A. U. O. Composição química e do conteúdo de energia do cariru (*Talinum esculentum*, Jacq.). **Acta Amazônica**, v.38, n.2, p.307-310, 2008.

MONDIN, C. A.; MAGENTA, M.; NAKAJIMA, J. *Acmella* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/FB015913>. Acesso em: mar. 2010.

MORENO, S. C.; CARVALHO, G. A.; PICANÇO, M. C.; MORAIS, E. G. F.; PEREIRA, R. M. Bioactivity of compounds from *Acmella oleracea* against *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) and selectivity to two non-target species. **Pest Management Science**; 68, p.386-393, 2011.

NAGAI, K.; KISHIMOTO, A. **Manejo do solo e adubação**. Equilíbrio Nutricional. Melhoramento do Solo. Saúde da Planta. Guatapará: IPTDA, JATAK, p.71, 2008.

NASCIMENTO-JAEHNKE, S. K. **Trace elements and in particular manganese in three Brazilian medicinal plants studied in tea and in hydropony grown plants**. Mainz, 2006. Tese (Doutorado em Ciências Naturais) - Mainz Universität.

OHWEILER, O. A. **Química Analítica Quantitativa**. Rio de Janeiro: Livros Técnicos Científicos SA, v.3, 1974.

OKUMURA, F.; CAVALHEIRO, E. T. G.; NÓBREGA, J. A. Experimentos simples usando fotometria de chama para ensino de princípios de espectrometria atômica em cursos de química analítica. **Química Nova**, São Paulo, v.27, n.5, p.832-836, 2004.

OLIVEIRA, E. Sample preparation for Atomic Spectroscopy: Evolution and future trends. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v.14, n.2, p.174-182, 2003.

OLIVEIRA, M. A. S.; INNECCO, R.; MATTOS, S. H. **Rendimento e biomassa de capítulos florais de jambú em função de diferentes espaçamentos e adubação orgânica**. Horticultura Brasileira. Campo Grande: Congresso Brasileiro de Olericultura, 2005.

OLIVEIRA, M. F. S. de. **Bebendo na raiz: um estudo de caso sobre saberes e técnicas medicinais do povo brasileiro**. Brasília, 2008. Tese (Doutorado em Desenvolvimento Sustentável) – Universidade de Brasília.

PHRUTIVORAPONGKUL, A.; CHAIWON, A.; VEJABHIKUL, S.; NETISINGHA, W.; CHANSAKAOW, S. An anesthetic alkalamide and fixed oil from *Acmella oleracea*. **Thai Journal of Health Research**, v.22, n.2, p.97-99, 2008.

PINHEIRO, M. H. T.; ROSA, M. I. S. **Determinação de Cálcio, Fósforo e Ferro nas Folhas de Jambú**. 43º Congresso Brasileiro de Química, 2003, Ouro Preto. Livro de Resumos do 43º CBQ, 2003.

POF-IBGE. . Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2008-2009 Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pof/2002/default.shtm>. Acesso em: nov. 2010.

PRACHAYASITTIKUL, S.; SUPHAPONG S.; WORACHARTCHEEWAN, A.; LAWUNG, R.; RUCHIRAWAT, S.; PRACHAYASITTIKUL, V. Bioactive metabolites from *Spilanthes acmella* Murr. **Molecules**, v.14, p.850-867, 2009.

RAHMAN, M. M.; HAOLIANG, L; CHONGLING, Y.; HOQUE, S. Heavy metal hyper-accumulation in plants and metal distribution in soil on tannery and dyeing industries polluted area in Bangladesh. **Academic Open Internet Journal**, v.21, 2007.

RAMOS, M. G. M. **Determinação dos teores de metais pesados em plantas típicas dos mangues do rio Cubatão, SP**. São Paulo, 2005. Dissertação (Mestrado em Saúde Coletiva) - Pontifícia Universidade Católica de Santos.

RAMSEWAK, R. S.; ERICKSON, A. J.; NAIR, M. G. Bioactive N-isobutylamides from the flower buds of *Spilanthes acmella*. **Phytochemistry**, v.51, p.729-732, jul./Nov.1999.

REGADAS, R. P. **Efeito do creme de jambú (*Acmella oleracea*) sobre a função sexual masculina e feminina**. Curitiba, 2008. Dissertação (Mestrado em Cirurgia). Universidade Federal do Paraná.

ROCHA, J. C., ROSA, A. H., CARDOSO, A. A. **Introdução à química Ambiental**. Porto Alegre: Bookman, 2004.

ROWAN, C. A.; ZAJICEK, O. T.; CALABRESE, E. J. Dry ashing vegetables for the determination of sodium and potassium by Atomic Absorption Spectrometry. **Analytical Chemistry**, n.54, p.149-151, 1982.

SANCHEZ-CASTLLO, C. P.; DEWEY, P. J. S.; AGUIRRE, A.; LARA, J. J.; VACA, R.; BARRA, P. L.; ORTIZ, M.; ESCAMILLA, I.; JAMES, P. T. The mineral content of mexicans fruits and vegetables. **Journal of Food Composition and Analysis**, n.11, p.340-356, 1998.

SANTOS, M. R. A.; LIMA, M. R. Levantamento dos recursos vegetais utilizados como fitoterápicos no município de Cujubim, Rondônia, Brasil. **Saber Científico**, Porto Velho, v.1, n.1, p.38-57, jan./jun. 2008.

SAWAKI, H. K. **Estudo de sintomas de deficiências de macro e micronutrientes em plantas de jambu (*Spilanthes oleracea* L.) variedade Branco ou Jambuarana.** Belém, 2000. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias do Pará.

SCHRAUZER, G. Lithium: occurrence, dietary intakes, nutritional essentiality. **Journal of the American College of Nutrition**, v.21, n.1, p.14-21, 2002.

SCHWEDT, G. **The essential guide to Analytical Chemistry.** 2 ed. Library of Congress Cataloging-in-Publication Data, 1997.

SHILS, M. E.; OLSON, J. A.; SHIKE, M. **Modern nutrition in health and disease.** 8 ed. Philadelphia: Lea & Fibiger, v.2, 1994.

SILVA, F. D. B. da; MOREIRA, F. J. C.; BEZERRA, A. M. E.; FILHO, S. M. Crescimento inicial de jambú. In: 46º Congresso Brasileiro de Olericultura, Goiânia, 2006.

SKOOG, D. A., WEST, D. M., HOLLER, F. J., CROUCH, S.R. **Fundamentos de Química Analítica.** 8 ed. São Paulo: Thomson Learning, 2008.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de análise instrumental.** 5 ed. Porto Alegre: Bookman, 2002.

SOUZA, D. M. de; BASSINELLO, P. Z.; NÓBREGA, L. N. N. **Metodologia científica: aperfeiçoamento metodológico para digestão assistida via micro-ondas na análise mineral de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.).** Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, Comunicado técnico, 196, 2010.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.. **Fisiologia vegetal.** 3 ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.

TANGKANAKUL, P.; TRAKOONTIVAKORN, G.; AUTTAVIBOONKUL, P.; NIYOMVIT, B.; WONGKRAJANG, K. Antioxidant activity of northern and northeastern Thai foods containing indigenous vegetables. Kasetsart. **Journal Natural Science**, v.40, p.47-58, 2006.

TELES, V. de L. das G.. **Espécies metálicas nas polpas das frutas cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* Schum), dão (*Ziziphus mauritiana* Lam), ingá (*Inga***

**edulis Mart) e folhas do d**o. Boa Vista, 2010. Dissertação (Mestrado em Química Ambiental). Universidade Federal de Roraima.

TWYMAN, R. M. Sample dissolution for elemental analysis: Wet digestion. In: Worsfold P, Townshend A, Poole C (eds) Encyclopedia of Analytical Science 2 ed., v.8. **Elsevier Science**, London UK, p.146-153, 2005.

VARIAN. **Analytical Methods**. Flame Atomic Absorption Spectrometry, Manual da Varian, 1989.

VILLACHICA, H. L.; CARVALHO, J. E. U.; MULLER, C. H.; CAMILO DIAZ, J.; ALMANZA, M. **Frutales y hortalizas promissórios de la Amazônia**. Lima: TCA; Secretaria Protempore, p.322- 327, 1996.

VOGEL, A. **Análise Química Quantitativa**. 6 ed. Rio de Janeiro: LTC-Livros Técnicos e Científicos, 2002.

WELNA, M.; SZYMCZYCH-MADEJA, A.; POHL, P. **Quality of the trace element analysis: sample preparation steps**. Wide Spectra of Quality Control, Intech Open Access Publisher, p.53-70, 2011.

WELZ, B. **Atomic Absorption Spectrometry**. 2 ed. Weinheim: VCH Publishers, FRG and Deerfield Beach, FL USA (1985).

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases: report of a joint WHO/FAO expert consultation**. WHO Technical Report Series n.916. Geneva, Witzerland: WHO, 2003.

WONGSAWATKUL, O.; PRACHAYASITTIKUL, S.; ISARANKURA-NA-AYUDHYA, C.; SATAYAVIVAD, J.; RUCHIRAWAT, S.; PRACHAYASITTIKUL, V. Vasorelaxant and antioxidant activities of *Spilanthes acmella* Murr. **International Journal of Molecular Science**, v.9, p.2724-2744, jun./dez. 2008.

YADAV, R.; YADAV, N.; KHARYA, M. D.; SAVADI, R. Preliminary studies on diuretic effect of *Spilanthes acmella* leaves extracts in rats. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v.3, p.245-247, abr./mai. 2011.