

Artigo

Determinação Direta de Cromo em Melado de Cana por GF AAS

Galvão, F.* Felsner, M. L.

Rev. Virtual Quim., 2021, 13 (1), 2-12. Data de publicação na Web: 23 de Outubro de 2020<http://rvq.s bq.org.br>**Direct Determination of Chromium in Cane Syrup by GF AAS**

Abstract: In this work, a slurry sampling method was used for chromium determination in cane syrup by GF AAS for the first time. The cane syrup slurries were prepared by dissolution of the samples with ultrapure water. Method validation was carried out by evaluating parameters such as linearity, detection and quantification limits, precision and accuracy. The analytical curve was prepared by external standardization and low values of detection and quantification limits were found (7.2 and 22.0 ng g⁻¹, respectively). The repeatability and intermediate precision estimates demonstrated that the method presents an adequate precision (RSD < 20%). The accuracy assessed by the recovery rates (102-113%) and the comparison with the reference method ($p = 0.562$) was also adequate. The validated method was applied to twenty cane syrup samples from different Brazilian states, whose chromium concentrations ranged from 29.8 to 254.1 ng g⁻¹.

Keywords: Cane syrup; chromium; slurry sampling; method validation.

Resumo

Neste trabalho, um método de amostragem em suspensão foi utilizado para a determinação de cromo em melado de cana por GF AAS de forma inédita. As suspensões de melado foram preparadas pela dissolução das amostras com água ultrapura. A validação do método foi realizada pela avaliação de parâmetros como linearidade, limites de detecção e de quantificação, precisão e exatidão. A curva analítica foi preparada por padronização externa e baixos valores de limites de detecção e de quantificação foram encontrados (7,2 e 22,0 ng g⁻¹, respectivamente). As estimativas de repetitividade e de precisão intermediária demonstraram que o método apresenta uma precisão adequada (RSD < 20%). A exatidão avaliada por meio das taxas de recuperação (102-113%) e da comparação com método de referência ($p = 0,562$) também foi adequada. O método validado foi aplicado a 20 amostras de melado de cana de diferentes estados brasileiros, cujas concentrações de cromo variaram de 29,8 a 254,1 ng g⁻¹.

Palavras-chave: Melado de cana; cromo; amostragem em suspensão; validação de métodos.

* Universidade Estadual do Centro-Oeste, Departamento de Química, Campus Cedeteg, CEP 85040-080, Guarapuava-PR, Brasil.

Determinação Direta de Cromo em Melado de Cana por GF AAS

Fernanda Galvão,*  Maria Lurdes Felsner

Universidade Estadual do Centro-Oeste, Departamento de Química, Campus Cedeteg, CEP 85040-080, Guarapuava-PR, Brasil.

[*fernandagalvao1999@gmail.com](mailto:fernandagalvao1999@gmail.com)

Recebido em 15 de Maio de 2020. Aceito para publicação em 21 de Setembro de 2020.

1. Introdução

2. Parte Experimental

- 2.1. Equipamentos e reagentes
- 2.2. Amostras de melado de cana
- 2.3. Otimização do método para determinação de Cr
- 2.4. Procedimento de digestão assistida por micro-ondas
- 2.5. Estudo de validação do método

3. Resultados e Discussão

- 3.1. Otimização do programa de aquecimento
- 3.2. Estudo de validação

4. Conclusão

1. Introdução

O melado é um alimento considerado natural e consiste em um xarope concentrado obtido a partir da evaporação do caldo de cana ou a partir da rapadura, por processos tecnológicos adequados.¹ É um alimento amplamente consumido em diversas regiões do Brasil, além de ser utilizado como ingrediente na indústria de alimentos e bebidas e no acondicionamento de alguns tipos de frutas em conserva.² O melado apresenta em sua composição um alto teor de carboidratos, além de sais minerais, vitaminas, niacina, folacina e ácido pantotênico.³

Os minerais são micronutrientes de grande importância para os seres vivos, pois desempenham diversas funções essenciais no

organismo, desde a construção dos ossos até a transmissão de impulsos nervosos.⁴ Elementos como Ca, Mg, Fe, Mn, Zn, Cu, Cr, entre outros são considerados essenciais e precisam ser ingeridos em níveis adequados para o bom funcionamento do organismo. Por outro lado, alguns desses elementos podem apresentar efeitos tóxicos quando ingeridos em concentrações elevadas.⁵ Dessa forma, a determinação do teor de minerais em alimentos faz-se necessária para avaliar sua qualidade e contribuição nutricional, além de garantir a segurança no consumo desses produtos.

O cromo é um exemplo de mineral essencial requerido em níveis traço pelo nosso organismo. Esse elemento apresenta um papel importante no metabolismo de gorduras e carboidratos, na síntese de ácidos graxos e de colesterol e na regulação dos níveis de glicose no sangue.^{4,5} Além disso, a

deficiência de cromo no organismo pode provocar desordem em atividades metabólicas e doenças como a diabetes mellitus.⁶ A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) recomenda uma ingestão diária de 35 µg de cromo para adultos.⁷

As técnicas de espectrometria de absorção atômica são bastante empregadas para a determinação de íons metálicos em alimentos, devido à sua simplicidade, seletividade e custo relativamente baixo.⁸ Entretanto, este tipo de técnica necessita muitas vezes de um preparo prévio da amostra, que possibilite a solubilização da mesma e a extração dos analitos de interesse. As técnicas convencionais de preparo de amostra, em geral, apresentam certas desvantagens, como o longo tempo de execução, a utilização de grandes volumes de reagentes e a aplicação de altas temperaturas, o que pode levar à contaminação da amostra ou perdas do analito, além de gerar resíduos tóxicos para o meio ambiente.⁹⁻¹¹ Esse fato tem despertado o interesse de pesquisadores no desenvolvimento de novas metodologias para a determinação de minerais em alimentos, buscando métodos mais simples, rápidos e que contribuam com a química verde.

Nesse sentido, a técnica de amostragem em suspensão surgiu como uma alternativa para simplificar o preparo de amostras para análise elementar e evitar contaminações devido à manipulação excessiva da amostra.¹² A suspensão consiste na dispersão de uma amostra sólida em meio aquoso, permitindo a determinação direta do analito, sem a necessidade de abertura da amostra.¹³ Para obter uma suspensão estável e assegurar a precisão e exatidão do método, é necessária a otimização de alguns parâmetros como tamanho de partícula da amostra, razão massa/volume e adição de reagentes estabilizantes, como ácidos ou surfactantes.^{13,14} As vantagens da amostragem em suspensão frente aos métodos convencionais de preparo de amostra incluem a simplicidade, rapidez, menor risco de contaminação da amostra e perdas do analito e redução do volume de reagentes tóxicos.¹⁵⁻¹⁷

A técnica de espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GF AAS) é uma das mais utilizadas para a determinação de elementos traço em diversos tipos de amostras por apresentar elevada seletividade e sensibilidade.⁸ Além disso, esta técnica permite a realização de análises com o mínimo preparo de amostras devido à existência de uma etapa de pirólise no programa de aquecimento, a qual auxilia na remoção da matriz

orgânica da amostra.^{8,13} Por outro lado, alguns cuidados devem ser tomados para evitar o efeito de matriz nas análises por GF AAS. Sendo assim, a adição de ácidos e oxidantes às suspensões das amostras ou a utilização de modificadores químicos faz-se necessária muitas vezes para auxiliar na liberação do analito da matriz orgânica e evitar o acúmulo de resíduos no tubo de grafite.¹⁴

A amostragem em suspensão tem sido amplamente utilizada no preparo de diferentes tipos de amostra para a determinação de minerais, especialmente associada às técnicas de espectrometria de absorção atômica.¹⁴⁻¹⁸ Andolfatto¹⁹ utilizou a técnica de amostragem em suspensão para a determinação de Mn, Zn, Fe e Mg em melado de cana por FAAS, sendo que o método otimizado apresentou precisão e exatidão adequadas. Entretanto, a aplicação dessa técnica para a determinação de minerais em melado de cana ainda é escassa. Sendo assim, este trabalho teve como objetivo a otimização e validação de uma metodologia de amostragem em suspensão para a determinação de cromo em melado de cana por GF AAS.

2. Parte Experimental

2.1. Equipamentos e reagentes

Água ultrapura e reagentes de grau analítico foram utilizados em todos os procedimentos. As soluções padrão de Cr foram preparadas a partir de uma solução estoque de 1000 mg L⁻¹ (1000 mg L⁻¹ ± 5 mg L⁻¹, SpecSol). Ácido nítrico 65% (m/v) (Sigma-Aldrich) foi utilizado no preparo das suspensões de melado de cana e das soluções padrão para a curva analítica. Todas as vidrarias foram mantidas em solução de ácido nítrico (5%, v/v) por no mínimo 24 horas e enxaguadas com água ultrapura antes de serem utilizadas nos procedimentos para evitar possíveis contaminações.

As determinações de Cr em amostras de melado de cana foram realizadas por meio de espectrofotômetro de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite (Varian, modelo AA-240Z), equipado com amostrador automático modelo PSD 120, corretor de fundo por efeito Zeeman e tubo de grafite revestido com grafite pirolítico. Uma lâmpada de cátodo oco monoelementar (Photron) foi utilizada operando em um comprimento de onda de 357,9 nm com uma

corrente de 7 mA e largura da fenda espectral de 0,2 nm. Gás argônio com fluxo de $0,3 \text{ L min}^{-1}$ foi utilizado em todas as etapas, exceto na etapa de atomização. A absorvância foi obtida a partir da integração da área do pico de absorção atômica.

2.2. Amostras de melado de cana

Foram adquiridas 20 amostras de melado de cana produzidas em diferentes estados brasileiros, sendo três do Paraná (PR1, PR2 e PR3), seis de Santa Catarina (SC1, SC2, SC3, SC4, SC5 e SC6), seis do Rio Grande do Sul (RS1, RS2, RS3, RS4, RS5 e RS6), duas de Minas Gerais (MG1 e MG2), uma de São Paulo (SP1), uma do Rio de Janeiro (RJ1) e uma da Bahia (BA1). Cada amostra foi identificada de acordo com o estado de procedência e de acordo com a ordem de entrada no laboratório. Estas amostras foram mantidas em suas embalagens originais, sendo estas de plástico ou de vidro de acordo com o fabricante, e à temperatura ambiente até a realização das análises. A amostra SC1 foi utilizada para a otimização e validação da metodologia analítica devido à quantidade de amostra disponível e por apresentar uma concentração significativa de Cr em sua composição.

2.3. Otimização do método para determinação de Cr

A determinação de Cr nas amostras foi realizada por meio de suspensões preparadas com 50 g L^{-1} de melado de cana dissolvidos em água ultrapura. Também foram preparadas suspensões com 50 g L^{-1} de melado de cana dissolvidos em solução de HNO_3 1% (v/v) para verificar uma possível influência do ácido sobre o sinal analítico.

Para a otimização do programa de aquecimento do forno de grafite foram injetados $10 \mu\text{L}$ das suspensões no tubo de grafite e o sinal analítico foi avaliado com diferentes temperaturas de pirólise e de atomização. Também foi analisada uma solução padrão de Cr com concentração de $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$ para avaliar o comportamento do padrão aquoso comparado ao das suspensões das amostras.

2.4. Procedimento de digestão assistida por micro-ondas

A técnica de digestão assistida por micro-ondas foi aplicada a quatro amostras de melado de cana

(SC1, MG1, PR2 e SC6) e utilizada como referência para verificar a exatidão do método otimizado. Para isso pesou-se cerca de 1,00 g de amostra em um frasco de politetrafluoretileno (PTFE) próprio do equipamento de micro-ondas e em seguida foi adicionado 6,0 mL de HNO_3 65% (m/v). O frasco foi fechado e colocado em um forno de micro-ondas Anton Paar Multiwave GO. O programa de digestão utilizado consistiu em uma rampa de aquecimento de 10 minutos até atingir uma temperatura de 100°C , mantendo-se nessa temperatura por mais 10 minutos, seguida por uma rampa de aquecimento de 10 minutos até atingir 180°C , mantendo-se nessa temperatura por mais 10 minutos e por último o resfriamento e alívio de pressão por 10 minutos, totalizando 50 minutos de digestão. Em seguida, a solução foi transferida para um balão volumétrico de 25 mL, completando-se o volume com água ultrapura. O procedimento de digestão assistida por micro-ondas foi realizado em duplicata.

2.5. Estudo de validação do método

A validação da metodologia desenvolvida foi realizada de acordo com as recomendações de guias orientativos e artigos da literatura.²⁰⁻³¹ Foram avaliados os parâmetros linearidade, limites de detecção e de quantificação, precisão e exatidão. As análises estatísticas foram realizadas por meio do software Minitab for Windows versão 16.2.2.

As curvas analíticas foram analisadas utilizando dois métodos de calibração: padronização externa (PE), em solução aquosa, e adição de padrão (AP), em matriz de melado de cana. Essas análises foram realizadas com o intuito de verificar se existe interferência de matriz nas determinações de Cr.^{18,20} Para a obtenção de cada curva analítica foram preparadas soluções padrão em duplicata com concentrações de 2, 4, 6, 8 e $10 \mu\text{g L}^{-1}$. A linearidade das curvas analíticas foi verificada pela aplicação de regressão linear com análise de variância (ANOVA) e teste de falta de ajuste no nível de 95% de confiança.^{27,30} A homocedasticidade dos dados foi verificada por meio de teste de igualdade de variâncias, o qual demonstrou que não há diferença significativa entre as variâncias dos dados avaliados ($p > 0,05$).

Os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) foram calculados a partir de $3 \times \text{SD}/b$ e $10 \times \text{SD}/b$, respectivamente, onde b é o coeficiente angular da curva analítica e SD é o desvio padrão de 10 medidas consecutivas do branco analítico.^{21,23,25}

A precisão foi avaliada em termos de repetitividade, precisão intermediária e valor de Horrat.²⁴ Para isso suspensões de melado de cana preparadas em triplicata durante cinco dias consecutivos foram analisadas por GF AAS. Os dados foram analisados por meio de uma análise de variância (ANOVA) no nível de 95% de confiança, cujos resultados foram utilizados para o cálculo dos desvios padrão relativos (DPR) da repetitividade e da precisão intermediária e do valor de Horrat.^{24,26}

A exatidão do método foi avaliada por meio de ensaios de recuperação e pela comparação com um método de referência.^{22,25,29} Os ensaios de recuperação foram realizados em duplicata e em três níveis de fortificação, nos quais foram adicionadas à amostra SC1 concentrações de 40, 120 e 200 ng g⁻¹ de Cr. As taxas de recuperação foram analisadas por meio de um teste-t específico no nível de 95% de confiança, que foi calculado pela seguinte equação, $t = (\text{recuperação}-100) \times (N-1)^{1/2} / \text{SD}$, onde N é o número de medidas do ensaio de recuperação e SD o desvio padrão dos ensaios de recuperação em triplicata.³¹ Na comparação entre métodos a digestão assistida por micro-ondas foi utilizada como método de referência, a qual foi aplicada a quatro amostras de melado de cana e os resultados foram comparados com os obtidos utilizando a amostragem em suspensão por meio de um teste-t pareado no nível de 95% de confiança.

3. Resultados e Discussão

A técnica de amostragem em suspensão foi aplicada para a determinação de Cr em melado

de cana por GF AAS com o intuito de minimizar os problemas relacionados ao preparo de amostra, uma vez que se trata de uma técnica simples, rápida e com menor risco de contaminações.³² Além disso, a determinação por GF AAS inclui uma etapa de pirólise que tem o objetivo de eliminar a matriz orgânica da amostra, o que favorece a utilização da amostragem em suspensão associada a esta técnica.¹³ Foram testadas duas suspensões preparadas pela dissolução da amostra de melado em água ultrapura e em solução de HNO₃ 1% (v/v). A utilização de HNO₃ pode auxiliar na extração e na liberação do analito durante a etapa de pirólise do programa de aquecimento do forno de grafite, além de prevenir a formação de resíduos carbonáceos no interior do tubo.^{15,33}

3.1. Otimização do programa de aquecimento

Para garantir uma melhor performance na determinação de Cr por GF AAS, com máxima eliminação da matriz orgânica e sem perdas do analito por volatilização, foi realizada a otimização do programa de aquecimento do forno de grafite. Os resultados estão representados na Figura 1. A Figura 1A representa os sinais de absorbância obtidos em diferentes temperaturas de pirólise e de atomização, enquanto a Figura 1B representa os sinais de fundo correspondentes.

Como pode ser observado nas curvas de pirólise e de atomização (Figura 1), as suspensões de melado de cana preparadas com ou sem adição de HNO₃ apresentaram comportamentos semelhantes em toda a faixa de temperatura avaliada, não havendo diferenças significativas sobre a intensidade do sinal analítico ou do sinal

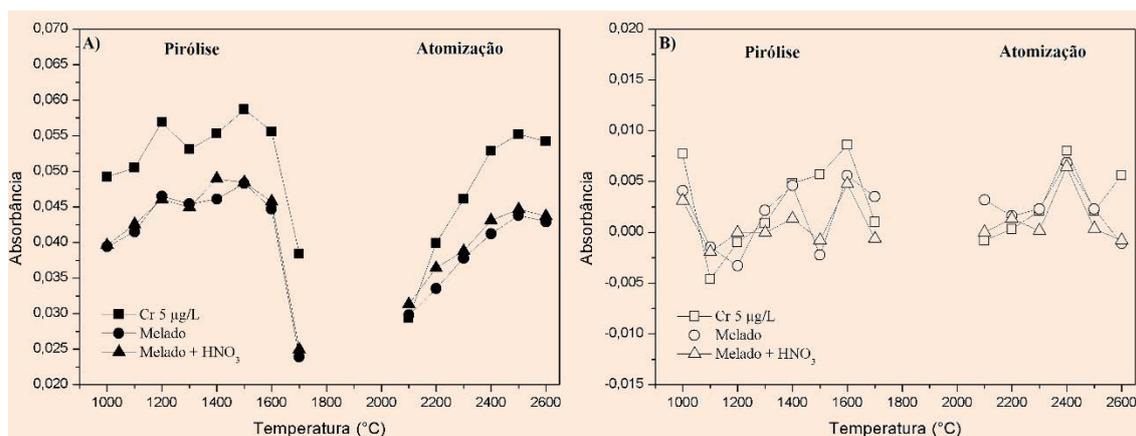


Figura 1. Resultados da otimização das temperaturas de pirólise e de atomização do programa de aquecimento para a determinação de Cr por GF AAS, incluindo os sinais de absorbância (A) e de *background* (B)

de fundo. Esse fato demonstra que os íons de Cr não estão fortemente ligados à matriz orgânica do melado de cana e por isso são facilmente liberados na etapa de pirólise do GF AAS, mesmo sem a adição de ácido. Dessa forma, optou-se por utilizar a suspensão aquosa de melado de cana, sem adição de HNO_3 , para a determinação de Cr por GF AAS, tornando a análise mais simples e com menor custo e menor risco de contaminações.¹⁸

Para a obtenção da curva de pirólise, foram avaliadas temperaturas entre 1000 a 1700°C, sendo que a temperatura de atomização foi fixada em 2600°C. Com temperaturas de pirólise a partir de 1200°C foi observado um aumento na intensidade do sinal analítico, o qual permaneceu praticamente constante até 1600°C. Contudo, foi observado um aumento do sinal de fundo nesta temperatura. Já em 1700°C houve uma diminuição significativa na absorvância, indicando perda do metal por volatilização. A temperatura de pirólise que resultou em um maior sinal analítico com menor sinal de fundo foi a de 1500°C. A obtenção de menores valores de sinal de fundo indicam maior eliminação da matéria orgânica e menor quantidade de resíduos carbonáceos no atomizador, o que diminui as interferências na análise e aumenta a vida útil do tubo de grafite.³⁴ Dessa forma, a temperatura de 1500°C foi considerada mais adequada para garantir a eliminação da matriz orgânica do melado de cana sem perdas do analito.

Para a otimização da etapa de atomização, foram avaliadas temperaturas entre 2100 e 2600°C, mantendo-se a temperatura de pirólise em 1500°C. Foram observados sinais de absorvância semelhantes com temperaturas de atomização entre 2400 e 2600°C. Porém, houve um aumento significativo do sinal de fundo em 2400°C. Com temperaturas abaixo de 2400°C houve uma diminuição do sinal analítico, indicando que

essas temperaturas não são suficientes para que ocorra a completa atomização do Cr. Com isso, a temperatura de 2500°C foi considerada mais adequada para a etapa de atomização. A Tabela 1 apresenta as condições otimizadas do programa de aquecimento do forno de grafite para a determinação de Cr.

3.2. Estudo de validação

A validação da metodologia desenvolvida foi realizada por meio da avaliação de parâmetros considerados importantes para garantir a confiabilidade dos resultados (linearidade, limites de detecção e de quantificação, precisão e exatidão), utilizando-se para isso as ferramentas estatísticas mais adequadas.

As curvas analíticas foram construídas na faixa de concentração de 2 a 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ utilizando os métodos de padronização externa (PE) e adição de padrão (AP), as quais foram comparadas para verificar uma possível interferência da matriz da amostra nas determinações de Cr por GF AAS. Cada curva analítica foi analisada utilizando a técnica de regressão linear, teste de falta de ajuste e o cálculo do intervalo de confiança das inclinações a 95% de confiança. Esses resultados são apresentados na Tabela 2.

As curvas de padrão externo (PE) e de adição de padrão (AP) apresentaram coeficientes angulares semelhantes, com sobreposição dos respectivos intervalos de confiança, o que indica que esses valores não apresentam diferença significativa entre si. Esse resultado sugere que não há efeito de matriz na determinação de Cr em suspensões de melado de cana. Dessa forma, a calibração por padronização externa pode ser utilizada para a determinação de Cr em suspensões de melado por GF AAS, o que aumenta a frequência analítica e diminui os

Tabela 1. Programa de aquecimento do GF AAS otimizado para a determinação de Cr

Etapa	Temperatura (°C)	Tempo (s) Rampa	Fluxo de ar (L min^{-1})	Leitura do sinal
Secagem 1	85	5	0,3	Não
Secagem 2	95	40	0,3	Não
Secagem 3	120	10	0,3	Não
Pirólise	1500	8	0,3	Não
Atomização	2500	3,2	0	Sim
Limpeza	2500	2	0,3	Não

Estudo de validação

Tabela 2. Parâmetros de calibração e de linearidade na determinação de Cr por GF AAS

Tipo de calibração	Parâmetros de Regressão		Linearidade			
			Regressão*		Falta de Ajuste**	
	Coefficiente angular \pm IC	R ²	F _{regressão}	p	F _{faj}	p
PE	0,00894 \pm 0,00102	0,98064	405,14	0,000	0,11	0,950
AP	0,00889 \pm 0,00127	0,96999	258,54	0,000	1,30	0,370

*F_{crítico(0,05;1,8)} = 5,32; **F_{crítico(0,05;3,5)} = 5,41; PE, Padronização externa; AP, Adição de padrão; IC, Intervalo de confiança das inclinações; R², Coeficiente de determinação

custos da análise.¹⁵ Quanto à linearidade, o valor do coeficiente de determinação (R²) da curva de padrão externo sugere que 98,1% da variação das respostas pode ser explicada pelo modelo linear, sendo o restante atribuído aos resíduos. Além disso, os resultados apresentados na Tabela 2 sugerem que a regressão linear é significativa para os dados analisados ($F_{regressão} \gg F_{crítico}$ e $p < 0,05$). Também foi aplicado um teste de falta de ajuste a 95% de confiança, cujo valor de F_{faj} obtido foi menor do que o valor de $F_{crítico}$, indicando que a falta de ajuste não é significativa. Portanto, pode-se afirmar que o modelo linear é adequado para explicar os dados dentro da faixa de concentração de Cr estabelecida.

A Tabela 3 apresenta os resultados para sensibilidade, precisão e exatidão do método proposto de amostragem em suspensão, os quais foram avaliados de acordo com as recomendações da literatura.

A sensibilidade do método foi avaliada por meio dos limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ), cujos valores obtidos, 0,36 $\mu\text{g L}^{-1}$ (7,2 ng g⁻¹) e 1,10 $\mu\text{g L}^{-1}$ (22,0 ng g⁻¹), respectivamente, foram relativamente baixos e ficaram abaixo do primeiro ponto da curva analítica (2,0 $\mu\text{g L}^{-1}$). Dos Santos e colaboradores¹⁴ obtiveram valores de LD e de LQ de 9,8 ng g⁻¹ e 32,8 ng g⁻¹, respectivamente, para

a determinação de Cr em suspensões de açúcar mascavo por GF AAS, os quais foram semelhantes aos valores obtidos no presente estudo. Dessa forma, pode-se dizer que o método proposto apresenta uma sensibilidade adequada para a determinação de Cr nas amostras de melado de cana.

A precisão do método foi avaliada por meio de estudos de repetitividade e de precisão intermediária e os resultados foram expressos em termos de desvio padrão relativo (RSD). Os valores de RSD obtidos para a repetitividade e para a precisão intermediária (Tabela 3) estão abaixo dos limites estabelecidos para a faixa de concentração investigada (< 20%), o que indica uma boa precisão do método para a determinação de Cr.^{24,28} A precisão foi ainda confirmada pelo cálculo do valor de Horrat, sendo que o valor obtido (0,48) é inferior ao limite de 1,3 estabelecido na literatura.²⁶ Estes resultados indicam que o método proposto apresenta uma ótima precisão para a determinação de Cr por GF AAS.

Para avaliar a exatidão foram realizados ensaios de recuperação com a adição de padrão em três níveis de concentração (Tabela 3). As taxas de recuperação obtidas variaram de 102 a 113% e estão dentro dos limites recomendados na literatura (60-115%) para a faixa de concentração investigada.²⁴ Um teste-t específico foi aplicado

Tabela 3. Parâmetros de validação (sensibilidade, precisão e exatidão) da determinação de Cr por GF AAS

Sensibilidade		Precisão			Exatidão						
LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	r	PI	Valor de Horrat	Concentração de melado de cana (ng g ⁻¹)				Recuperação (%)	t _{calculado} *	
		RSD (%)	RSD (%)		Inicial	Adicionada	Total	Determinada			
						40	107	111 \pm 3	108	1,00	
0,36	1,10	3,04	11,28	0,48	67	120	187	203 \pm 5	113	3,47	
						200	267	272 \pm 4	102	1,18	

*t_{crítico(0,025;1)} = 12,706; LD, limite de detecção; LQ, limite de quantificação; r, repetitividade; PI, precisão intermediária

para confirmar se as taxas de recuperação obtidas são adequadas e todos os valores de $t_{\text{calculado}}$ (Tabela 3) foram inferiores ao valor de $t_{\text{crítico}}$. Isso indica que os valores de recuperação obtidos são estatisticamente iguais a 100% em um nível de 95% de confiança.

A exatidão também foi avaliada por meio da comparação com um método de referência (digestão assistida por micro-ondas) aplicando-se um teste- t pareado aos resultados obtidos para quatro amostras de melado de cana. O resultado do teste- t pareado (Tabela 4) indica que não há diferenças significativas entre as concentrações de Cr obtidas pelo método proposto e pelo método

utilizado como referência, pois o valor de $t_{\text{calculado}}$ foi inferior ao valor de $t_{\text{crítico}}$ a 95% de confiança. Isso indica que o método de amostragem em suspensão apresenta uma exatidão adequada para a determinação de Cr por GF AAS.

3.3. Aplicação do método validado

Após o estudo de validação, o método de amostragem em suspensão foi aplicado à 20 amostras de melado de cana provenientes de diferentes estados brasileiros. As análises foram realizadas em duplicata e as concentrações médias de Cr obtidas para cada amostra são apresentadas na Tabela 5.

Tabela 4. Comparação entre métodos de preparo de amostras de melado de cana para a determinação de Cr por GF AAS

Amostra	Concentração de Cr (ng g ⁻¹)		Teste- t pareado	
	Amostragem em suspensão	Digestão assistida por micro-ondas	$t_{\text{calculado}}^*$	p
SC1	75,57 ± 1,95	73,28 ± 0,17	0,61	0,562
MG1	68,17 ± 3,14	69,17 ± 0,91		
PR2	53,77 ± 2,80	48,80 ± 0,61		
SC6	38,55 ± 2,83	41,58 ± 2,70		

$$*t_{\text{crítico}(0,025;7)} = 2,365$$

Tabela 5. Concentração de Cr em amostras de melado de cana de diferentes procedências

Amostra	Concentração Média ± Desvio Padrão (ng g ⁻¹)
PR1	< LQ
RS1	38,4 ± 4,0
SC1	75,6 ± 1,9
SC2	31,2 ± 1,3
SC3	32,8 ± 0,7
SC4	97,2 ± 6,7
MG1	68,2 ± 3,1
RS2	137,6 ± 6,0
RS3	29,8 ± 0,2
SC5	92,6 ± 8,1
PR2	53,8 ± 2,8
RJ1	65,5 ± 4,5
PR3	94,1 ± 0,2
RS4	< LQ
SC6	38,5 ± 2,8
MG2	254,1 ± 7,2
RS5	30,7 ± 1,8
BA1	47,0 ± 2,3
SP1	114,0 ± 2,0
RS6	46,3 ± 1,6

As amostras de melado analisadas apresentaram concentrações de Cr variando de 29,8 a 254,1 ng g⁻¹, exceto pelas amostras PR1 e RS4 que apresentaram concentrações abaixo do limite de quantificação para esse elemento (22,0 ng g⁻¹). A grande variação na concentração de Cr observada entre as amostras pode ser atribuída às diferenças nas condições de cultivo da cana de açúcar e no processo de produção do melado de cana.³⁵ Além disso, a produção de melado de cana no Brasil é em grande parte artesanal, realizada por pequenos produtores, e por isso não há uma padronização na composição desses produtos.

De acordo com a ANVISA,⁷ a ingestão diária recomendada de Cr para adultos é de 35 µg, sendo que alimentos que contém um mínimo de 15% desse valor em uma porção de 100 g podem ser considerados fontes desse mineral. Dessa forma, os resultados da Tabela 5 indicam que 50% das amostras de melado de cana analisadas podem ser consideradas fontes de Cr.

Até o momento, não foram encontrados outros trabalhos relacionados à determinação de Cr em melado de cana. Dos Santos *et al.*¹⁴ analisaram os teores de Cr em quatro amostras de açúcar mascavo, os quais variaram de 85 a 160 ng g⁻¹, com exceção de uma amostra que apresentou concentração abaixo do limite de quantificação para esse elemento (32,8 ng g⁻¹).

4. Conclusão

A técnica de amostragem em suspensão mostrou-se adequada para a determinação de Cr em melado de cana por GF AAS. A otimização do programa de aquecimento do forno de grafite proporcionou maior eficiência nas etapas de pirólise e de atomização. Sendo assim, foi possível realizar a determinação de Cr em suspensões de melado de cana sem a adição de HNO₃ ou outros reagentes, obtendo-se um sinal analítico adequado com baixo sinal de fundo. A metodologia de amostragem em suspensão também apresentou uma boa confiabilidade nos resultados, uma vez que os parâmetros de validação avaliados foram concordantes com os critérios estabelecidos na literatura. Dessa forma, a metodologia desenvolvida representa uma alternativa simples, rápida e de baixo custo para a determinação de Cr em melado de cana, sem geração de resíduos tóxicos para o meio ambiente e com baixo consumo de energia.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Universidade Estadual do Centro-Oeste (UNICENTRO), à CAPES, à Fundação Araucária, ao CNPq e à FINEP pela infraestrutura e suporte financeiro.

Referências Bibliográficas

- ¹de Carvalho, R. F.; *Beneficiamento dos derivados da cana de açúcar (melado e açúcar mascavo)*, Rede de Tecnologia da Bahia: Salvador, 2007. [\[Link\]](#)
- ²Ducat, G.; Felsner, M. L.; Quináia, S. P.; Neto, P. R. da C. Isothermal thermogravimetry and factorial design applied to development and validation of an oven drying method for cane syrups. *Orbital* **2018**, *10*, 247. [\[CrossRef\]](#)
- ³ABIMAQ Solução Técnica: Rapadura, Melado e Açúcar Mascavo, 2009. [\[Link\]](#)
- ⁴Gharibzahedi, S. M. T.; Jafari, S. M. The importance of minerals in human nutrition: Bioavailability, food fortification, processing effects and nanoencapsulation. *Trends in Food Science and Technology* **2017**, *62*, 119. [\[CrossRef\]](#)
- ⁵Al-fartusie, F. S.; Mohssan, S. N. Essential Trace Elements and Their Vital Roles in Human Body. *Indian Journal of Advances in Chemical Science* **2017**, *5*, 127. [\[Link\]](#)
- ⁶Iqbal, M.; Afzal Qamar, M.; Bokhari, T. H.; Abbas, M.; Hussain, F.; Masood, N.; Keshavarzi, A.; Qureshi, N.; Nazir, A. Total phenolic, chromium contents and antioxidant activity of raw and processed sugars. *Information Processing in Agriculture* **2017**, *4*, 83. [\[CrossRef\]](#)
- ⁷RDC 269/2005; *Regulamento Técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais*, Brasil, 2005. [\[Link\]](#)
- ⁸Caldas, N. M.; Raposo, J. L.; Gomes Neto, J. A.; Barbosa, F. Effect of modifiers for As, Cu and Pb determinations in sugar-cane spirits by GF AAS. *Food Chemistry* **2009**, *113*, 1266. [\[CrossRef\]](#)
- ⁹Rocha, D. L.; Batista, A. D.; Rocha, F. R. P.; Donati, G. L.; Nóbrega, J. A. Greening sample preparation in inorganic analysis. *Trends in Analytical Chemistry* **2013**, *45*, 79. [\[CrossRef\]](#)
- ¹⁰Szymczycha-Madeja, A.; Welna, M. Evaluation of a simple and fast method for the multi-elemental analysis in commercial fruit juice samples using atomic emission spectrometry. *Food Chemistry* **2013**, *141*, 3466. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

- ¹¹ Korn, M. das G. A.; Da Boa Morte, E. S.; Dos Santos, D. C. M. B.; Castro, J. T.; Barbosa, J. T. P.; Teixeira, A. P.; Fernandes, A. P.; Welz, B.; Dos Santos, W. P. C.; Dos Santos, E. B. G. N.; Korn, M. Sample Preparation for the Determination of Metals in Food Samples Using Spectroanalytical Methods—A Review. *Applied Spectroscopy Reviews* **2008**, *43*, 67. [[CrossRef](#)]
- ¹² Peng, Y.; Guo, W.; Zhang, P.; Jin, L. Heat-assisted slurry sampling GFAAS method for determination of lead in food standard reference materials. *Journal of Food Composition and Analysis* **2015**, *42*, 78. [[CrossRef](#)]
- ¹³ Ferreira, S. L. C.; Miró, M.; Da Silva, E. G. P.; Matos, G. D.; Dos Reis, P. S.; Brandao, G. C.; Dos Santos, W. N. L.; Duarte, A. T.; Vale, M. G. R.; Araujo, R. G. O. Slurry Sampling—An Analytical Strategy for the Determination of Metals and Metalloids by Spectroanalytical Techniques. *Applied Spectroscopy Reviews* **2010**, *45*, 44. [[CrossRef](#)]
- ¹⁴ Dos Santos, J. M.; Quináia, S. P.; Felsner, M. L. Fast and direct analysis of Cr, Cd and Pb in brown sugar by GF AAS. *Food Chemistry* **2018**, *260*, 19. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁵ De Andrade, C. K.; De Brito, P. M. K.; Dos Anjos, V. E.; Quináia, S. P. Determination of Cu, Cd, Pb and Cr in yogurt by slurry sampling electrothermal atomic absorption spectrometry: A case study for Brazilian yogurt. *Food Chemistry* **2018**, *240*, 268. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁶ Souza, S. O.; Costa, S. S. L.; Brum, B. C. T.; Santos, S. H.; Garcia, C. A. B.; Araujo, R. G. O. Determination of nutrients in sugarcane juice using slurry sampling and detection by ICP OES. *Food Chemistry* **2019**, *273*, 57. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁷ Amorim, F. A. C.; Costa, V. C.; Silva, E. G. P. d.; Lima, D. de C.; Jesus, R. M. de; Bezerra, M. de A. Multivariate optimization of simple procedure for determination of Fe and Mg in cassava starch employing slurry sampling and FAAS. *Food Chemistry* **2017**, *227*, 41. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁸ De Andrade, C. K.; Dos Anjos, V. E.; Felsner, M. L.; Torres, Y. R.; Quináia, S. P. Direct determination of Cd, Pb and Cr in honey by slurry sampling electrothermal atomic absorption spectrometry. *Food Chemistry* **2014**, *146*, 166. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ¹⁹ Andolfatto, S.; De Andrade, C. K.; Felsner, M. L. *Em As Ciências Exatas e da Terra no Século XXI 2*; Ribeiro, J. C.; Dos Santos, C. A., orgs.; Atena Editora: Ponta Grossa, 2019, cap. 3. [[CrossRef](#)]
- ²⁰ RDC N° 166; *Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências*, Brasil, 2017. [[Link](#)]
- ²¹ Ribani, M.; Grespan Bottoli, C. B.; Collins, C. H.; Fontes Jardim, I. C. S.; Costa Melo, L. F. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. *Química Nova* **2004**, *27*, 771. [[CrossRef](#)]
- ²² Thompson, M.; Ellison, S. L. R.; Wood, R. Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry* **2002**, *74*, 835. [[CrossRef](#)]
- ²³ INMETRO; *Orientação Sobre Validação de Métodos Analíticos*, DOQ-CGCRE-008, 2016, [[Link](#)]
- ²⁴ AOAC; *Em AOAC Official Methods of Analysis* 2016, Appendix F.
- ²⁵ NATA; *Guidelines for the validation and verification of quantitative and qualitative test methods*, 2013.
- ²⁶ González, A. G.; Herrador, M. Á.; Asuero, A. G. Intra-laboratory assessment of method accuracy (trueness and precision) by using validation standards. *Talanta* **2010**, *82*, 1995. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²⁷ Araujo, P. Key aspects of analytical method validation and linearity evaluation. *Journal of Chromatography B* **2009**, *877*, 2224. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²⁸ Stöckl, D.; D'Hondt, H.; Thienpont, L. M. Method validation across the disciplines—Critical investigation of major validation criteria and associated experimental protocols. *Journal of Chromatography B* **2009**, *877*, 2180. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ²⁹ Ribeiro, F. A. D. L.; Ferreira, M. M. C.; Morano, S. C.; Da Silva, L. R.; Schneider, R. P. Planilha de validação: Uma nova ferramenta para estimar Figuras de mérito na validação de métodos analíticos univariados. *Química Nova* **2008**, *31*, 164. [[CrossRef](#)]
- ³⁰ Rozet, E.; Ceccato, A.; Hubert, C.; Ziemons, E.; Oprean, R.; Rudaz, S.; Boulanger, B.; Hubert, P. Analysis of recent pharmaceutical regulatory documents on analytical method validation. *Journal of Chromatography A* **2007**, *1158*, 111. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- ³¹ Van der Voet, H.; (Hans) van Rhijn, J. A.; Van de Wiel, H. J. Inter-laboratory, time, and fitness-for-purpose aspects of effective validation. *Analytica Chimica Acta* **1999**, *391*, 159. [[CrossRef](#)]

³² Dobrowolski, R.; Pawlowska-Kapusta, I.; Dobrzynska, J. Chromium determination in food by slurry sampling graphite furnace atomic absorption spectrometry using classical and permanent modifiers. *Food Chemistry* **2012**, *132*, 597. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

³³ Rodríguez García, J. C.; Barciela García, J.; Herrero Latorre, C.; García Martín, S.; Peña Crecente, R. M. Comparison of palladium–magnesium nitrate and ammonium dihydrogenphosphate modifiers for lead determination in honey by electrothermal atomic absorption spectrometry. *Food Chemistry* **2005**, *91*, 435. [[CrossRef](#)]

³⁴ De Andrade, J. K.; De Andrade, C. K.; Felsner, M. L.; Dos Anjos, V. E. Ultrasound-assisted emulsification microextraction combined with graphite furnace atomic absorption spectrometry for the chromium speciation in water samples. *Talanta* **2019**, *191*, 94. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

³⁵ Generoso, W. C.; Borges, M. T. M. R.; Ceccato-Antonini, S. R.; Marino, A. F.; Silva, M. V. M.; Nassu, R. T.; Verruma-Bernardi, M. R. Avaliação microbiológica e físico-química de açúcares mascavo comerciais. *Revista do Instituto Adolfo Lutz* **2009**, *68*, 259. [[Link](#)]