



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**DETERMINAÇÃO E AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO MINERAL DE  
RAÇÕES DE CÃES E GATOS DO ESTADO DE SERGIPE**

**Silvânio Silvério Lopes da Costa**

São Cristóvão/SE  
2013

**Silvânio Silvério Lopes da Costa**

**DETERMINAÇÃO E AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO MINERAL DE  
RAÇÕES DE CÃES E GATOS DO ESTADO DE SERGIPE**

**Dissertação de mestrado apresentada ao  
Programa de Pós-Graduação em Química  
como parte dos requisitos para a obtenção  
do grau de Mestre em Química.**

**Orientador: Prof. Dr. Rennan Geovanny Oliveira Araujo**

**Co-orientador: Prof. Dr. Carlos Alexandre Borges Garcia**

São Cristóvão/SE  
2013

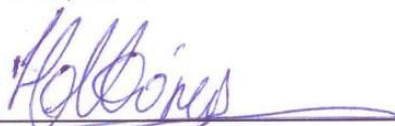
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

FOLHA DE APROVAÇÃO

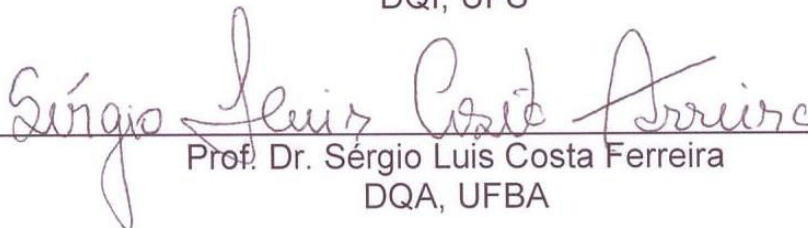
Membros da Comissão Julgadora da Dissertação  
de Mestrado de Silvânio Silvério Lopes da Costa  
apresentada ao Programa de Pós-Graduação em  
Química da Universidade Federal de Sergipe em  
05/02/2013.



Prof. Dr. Rennan Geovanny Oliveira Araujo  
DQI, UFS



Prof. Dr. Haroldo Silveira Dórea  
DQI, UFS



Prof. Dr. Sérgio Luis Costa Ferreira  
DQA, UFBA

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL**  
**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**

Costa, Silvânio Silvério Lopes da

C837d      Determinação e avaliação da composição mineral de  
rações de cães e gatos do Estado de Sergipe / Silvânio  
Silvério Lopes da Costa ; orientador Rennan Geovanny  
Oliveira Araujo. – São Cristóvão, 2013.  
94 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade  
Federal de Sergipe, 2013.

1. Química analítica. 2. Rações – Teor mineral. 3.  
Rações – Análise. 4. Cão – Alimentação e rações. 5. Gato –  
Alimentação e rações. I. Araujo, Rennan Geovanny Oliveira,  
orient. II. Título.

CDU 543.05/.06:636.085.1

Aos meus pais, Maria Aparecida (NINA) e Cícero Simão (CICINHO), à Maria das Graças (NENA) e José Benedito (DIDI), aos meus irmãos: Samuel, Sérgio e Henrique, a minha noiva Cristiane (CRIS), e a minha família,

Dedico.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, pela oportunidade de cursar o mestrado, por me dar forças, coragem e estímulo para nunca desistir de meus objetivos.

A minha família pelo apoio e incentivo. Especialmente a minha noiva Cristiane.

Ao professor Dr. Rennan Geovanny Oliveira Araujo (Orientador), pela orientação, atenção e dedicação demonstrada durante todo o mestrado. Isso era motivo suficiente para deixar as atividades sempre em dia. Além disso, sempre se mostrou amigo e à disposição para tantos blá blá blá. Obrigado professor!

Ao professor Dr. Carlos Alexandre Borges Garcia (Co-orientador), que diariamente passava em sua sala para conversar, tirar dúvidas, solicitar conserto de equipamento. Obrigado professor!

A Ana Cristina pela “malhação / macerando” as amostras e pelas desidratações. Desculpe aí pelas cobranças. Estuda menina!

À todos do LQA pelas boas conversas e pela colaboração nos trabalhos.

- Alunos e alunas do prof. Rennan: Jéssica Pinto, Dayane, Jersica (Carira), Mirna, Humberto, Denisson, Sidnei, Felipe, Dayara, Yslaine.

- Alunos e aluna da prof<sup>a</sup>. Elisangela: Jeferson, Samir, Fabiana, George.

- Alunas e aluno do prof. Carlos: Simonise, Dany, André, Vaniele e Ana Carla (técnica).

- Aluna da prof<sup>a</sup>. Lara: Suzanny.

Aos meus Amigos: Ronaldo, Magali, Deise, Charlysson, Wesley, Leandro, Cyntia, Ricardo, Jaciara, Danilo, Dárlisson, Genelane, Thalita, Eduardo, Gabi, pelos almoços, risadas, cervejas, congressos (viagens).

Aos meus amigos da UFAL: Marcos, Sivaldo, Livia, Wanderson, Ângela, Andrea, Rose, Prof. Márcio (diretor) e prof<sup>a</sup>. Eliane (diretora) – que todos estejam representados nessas pessoas.

Ao ITPS – laboratório de águas – Laudicéia, Tâmara e Adnivia. À direção representada pelo Prof. Dr. José do Patrocínio Hora Alves.

Aos professores do PPGQ-UFS, pelas aulas e orientações.

Aos funcionários do DQI – Amanda, Deise, Ricardo, Sr<sup>a</sup> Edinalva, Karina e aos bolsistas colaboradores.

A UFAL pela redução da carga horária, disponibilizando o tempo necessário para possibilitar a realização deste trabalho.

Ao CNPq pelo apoio financeiro.

*“Talvez esse homem seja mesmo um tolo. No entanto, é menos tolo que o rei, que o vaidoso, que o empresário, que o beerrão. Seu trabalho ao menos tem um sentido. Quando acende o lampião, é como se fizesse nascer mais uma estrela, ou uma flor. Quando o apaga, porém, faz adormecer a estrela ou a flor. É um belo trabalho. E, sendo belo, tem sua utilidade.”*

O Pequeno Príncipe.

## RESUMO

A indústria de rações destinadas a cães e gatos tem crescido amplamente. Este crescimento tem sido reflexo das exigências dos donos desses animais por produtos com características diferenciadas e que apresentem qualidade nutricional adequada, de acordo com a necessidade do animal. Diante disso, ressalta-se a importância na determinação da composição mineral desses alimentos, principalmente no sentido de possíveis contaminantes. Neste trabalho foi proposto um método analítico para determinação da composição mineral (S, Al, Ca, Cu, K, Mg, Mn, P, Zn, Sr, V, Fe, Ni, Ba e Cr) em rações de cães e de gatos por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES). As amostras foram digeridas por aquecimento assistido por micro-ondas utilizando  $\text{HNO}_3$  diluído ( $2,0 \text{ mol.L}^{-1}$ ) e  $\text{H}_2\text{O}_2$  (6% v/v). A condição da proporção entre os reagentes utilizados na digestão foi estabelecida por um planejamento fatorial em dois níveis. As condições ótimas para potência de radiofrequência foi de 1,2 kW e vazão do gás de nebulização da amostra, de  $1,0 \text{ L min}^{-1}$ , as quais foram estabelecidas por um planejamento fatorial  $3^2$  com duas variáveis, avaliando-se estas condições pela metodologia de análise de superfície de resposta. Para avaliar a precisão e a exatidão do método proposto foram analisados cinco materiais de referência certificados (MRC): farinha de trigo (NIST 1567a), fígado bovino (NIST 1547), folhas de pessegueiro (NBS 1577), tecidos de ostra (NIST 1566b) e proteínas de peixe (DORM-3). Após análise dos MRC, os valores encontrados foram concordantes com os valores certificados e informados variaram entre 80 (Cr) e 117% (Cd), com desvios padrão relativos (%RSD) menores do que 5%, exceto para Ni e Cr que excederam 15%. Os limites de quantificação (LQ) obtidos estiveram entre 0,075 (Ba, 233,527 nm) e  $87 \mu\text{g g}^{-1}$  (Ca, 373,690 nm). O método foi aplicado na análise de 17 amostras de rações de gatos, com concentrações variando entre  $2,3 \text{ mg Kg}^{-1}$  para o Ba e  $2,8 \text{ g Kg}^{-1}$  para o cálcio, e 24 amostras de rações de cães, variando entre  $3,8 \text{ mg Kg}^{-1}$  para o Cu e  $3,4 \text{ g Kg}^{-1}$  para o Ca, coletadas em municípios do Estado de Sergipe. A partir das técnicas exploratórias de dados utilizando PCA e HCA, pode-se concluir que as rações destinadas aos animais de estimação apresentaram uniformidade, uma vez que não houve tendência na formação de grupos distintos para uma possível classificação conforme a sua composição mineral, exceto a marca “F2”, que aglomerou-se através da presença das concentrações de alumínio e cobre na sua composição para cães.

**Palavras-chave:** Ração animal; Composição mineral; Preparo de amostra; ICP OES; Ferramentas quimiométricas.

## ABSTRACT

The pet food industry for dogs and cats has grown extensively. This growth has been reflected from the requirements of the owners of these animals by products with different characteristics and which are suitable nutritional quality, according to the need of the animal. Therefore, we emphasize the importance in determining the mineral composition of these foods, especially in the sense of possible contaminants. In this work, a method proposed for determination of mineral composition (S, Al, Ca, Cu, K, Mg, Mn, P, Zn, Sr, V, Fe, Ni, Cr and Ba) in dog and cat foods by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES). The samples were digested by microwave-assisted digestion method using dilute  $\text{HNO}_3$  ( $2.0 \text{ mol L}^{-1}$ ) and  $\text{H}_2\text{O}_2$  (6% m/v). The ratio of the reagents used in digestion was established by a full-two level factorial design. The optimum conditions for RF power was 1.2 kW and nebulization gas flow rate of  $1.0 \text{ L min}^{-1}$ , which were established by a  $3^2$  factorial design with two variables, evaluating these conditions the methodology of response surface analysis. To evaluate the precision and accuracy of the proposed method, five certified reference materials (CRM) were analyzed: wheat flour (NIST 1567a), bovine liver (NIST 1547), peach leaves (NBS 1577), oyster tissue (NIST 1566b) and fish proteins (DORM-3). The analysis of the CRM has shown that the values are in agreement with the certified values ranged between 80 (Cr) and 117% (Cd), with relative standard deviations (% RSD) lower than 5%, except for Ni and Cr which exceeded 15%. The limits of quantification (LOQ) were obtained between 0.075 (Ba, 233.527 nm) and  $87 \mu\text{g g}^{-1}$  (Ca, 373.690 nm). The method was applied to analysis of 17 cat food samples with concentrations varying between  $2.3 \text{ mg kg}^{-1}$  for Ba and  $2.8 \text{ g kg}^{-1}$  for Ca and 24 of dog food samples ranging between  $3.8 \text{ mg kg}^{-1}$  for Cu and  $3.4 \text{ g kg}^{-1}$  for Ca collected in supermarkets of cities the of State of Sergipe, Brazil. The exploratory techniques of data using hierarchical cluster analysis (HCA) and principal components analysis (PCA), can conclude that the ration for the pet foods were uniform, since there was no trend in the formation of distinct groups for possible rating, according to their mineral composition, except the brand "F2", which clustered with the presence of concentrations of aluminum and copper in feed composition for dog..

**Keywords:** Animal feed; mineral composition; sample preparation; ICP OES; Chemometrics tools.

# LISTA DE FIGURAS

|           |                                                                                                                                                                                                        |    |
|-----------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1  | Esquema do plasma para ICP OES                                                                                                                                                                         | 37 |
| Figura 2  | Gráfico de Pareto para o planejamento fatorial $2^2$ com três pontos centrais                                                                                                                          | 45 |
| Figura 3  | Gráfico de Pareto para potência de RF e vazão do gás de arraste de nebulização da amostra                                                                                                              | 48 |
| Figura 4  | Análise de regressão linear para as razões das intensidades de emissões do Mg II / Mg I encontradas a partir da matriz de planejamento e a análise da solução padrão e na solução da amostra digerida. | 51 |
| Figura 5  | Gráfico de Pareto para planejamento $3^2$ com duas variáveis.                                                                                                                                          | 52 |
| Figura 6  | Superfície de Resposta do Planejamento $3^2$ com duas variáveis.                                                                                                                                       | 53 |
| Figura 7  | Representação Linear de Ajuste do Modelo.                                                                                                                                                              | 55 |
| Figura 8  | Gráficos de quantificação de Ca nas amostras de rações de cães (a) e gatos (b).                                                                                                                        | 66 |
| Figura 9  | Gráficos de quantificação de Cu nas amostras de rações de cães (a) e gatos (b).                                                                                                                        | 67 |
| Figura 10 | Gráficos de quantificação de Fe nas amostras de rações de cães (a) e gatos (b).                                                                                                                        | 68 |
| Figura 11 | Gráficos de quantificação de K nas amostras de rações de cães (a) e gatos (b).                                                                                                                         | 69 |
| Figura 12 | Gráficos de quantificação de Mg nas amostras de rações de cães (a) e gatos (b).                                                                                                                        | 70 |
| Figura 13 | Gráficos de quantificação de Mn nas amostras de rações de cães (a)                                                                                                                                     | 71 |

e gatos (b).

|           |                                                                                                                            |    |
|-----------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 14 | Gráficos de quantificação de P nas amostras de rações de cães (a) e gatos (b).                                             | 72 |
| Figura 15 | Gráficos de quantificação de Zn nas amostras de rações de cães (a) e gatos (b).                                            | 73 |
| Figura 16 | Gráfico de escores para a projeção PC1 x PC2 x PC3, considerando o parâmetro sabor para as rações para cães.               | 76 |
| Figura 17 | Gráfico de escores para a projeção PC1 x PC2 x PC3, considerando a identificação dos fabricantes para as rações para cães. | 77 |
| Figura 18 | Gráfico de escores das amostras de rações para gatos para PC1 X PC2 X PC3: (a) sabores e (b) fabricantes.                  | 79 |
| Figura 19 | Dendograma para as rações de cães: cálculo da distância Euclidiana e método de ligação Ward's.                             | 81 |
| Figura 20 | Dendograma para as rações de gatos: cálculo da distância Euclidiana e método de ligação Ward's.                            | 82 |

# LISTA DE TABELAS

|           |                                                                                                                              |    |
|-----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1  | Trabalhos desenvolvidos utilizando as micro-ondas                                                                            | 32 |
| Tabela 2  | Programa de aquecimento em forno de micro-ondas                                                                              | 40 |
| Tabela 3  | Características e condições operacionais utilizadas no ICP OES com vista axial                                               | 42 |
| Tabela 4  | Matriz do planejamento fatorial $2^2$ completo com três pontos centrais                                                      | 44 |
| Tabela 5  | Matriz do planejamento fatorial $2^2$ com três pontos centrais para otimização das condições operacionais do ICP OES         | 47 |
| Tabela 6  | Matriz do planejamento fatorial $3^2$ com duas variáveis e com 3 pontos centrais                                             | 50 |
| Tabela 7  | Resultados da ANOVA                                                                                                          | 54 |
| Tabela 8  | Efeitos estimados do planejamento fatorial $3^2$ com duas variáveis                                                          | 55 |
| Tabela 9  | Valores para BEC, LD e LQ para análise de amostras de rações de cães e gatos por ICP OES                                     | 58 |
| Tabela 10 | Valores certificados, valores encontrados e concordâncias das análises dos materiais de referência certificados, por ICP OES | 60 |
| Tabela 11 | Concentrações dos elementos Al, Ba, Ca, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Ni, P, S, Sr, V e Zn em amostras de rações de cães, por ICP OES   | 62 |
| Tabela 12 | Concentrações dos elementos Al, Ba, Ca, Cd, Cu, Fe, K, Mg, Ni, P, S, Sr, V e Zn em amostras de rações de gatos, por ICP OES  | 63 |
| Tabela 13 | Resumo estatístico das concentrações dos elementos em rações para cães                                                       | 64 |

|           |                                                                         |    |
|-----------|-------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 14 | Resumo estatístico das concentrações dos elementos em rações para gatos | 64 |
| Tabela 15 | Valores de pesos para as três primeiras PCs em rações de cães           | 75 |
| Tabela 16 | Valores de pesos para as três primeiras componentes principais          | 78 |

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

|                                                 |                                                                                                                                                              |
|-------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| AAFCO                                           | - Associação Americana de Controle Oficial de Alimentos (Association American Feed Control Officials).                                                       |
| NRC                                             | - Conselho Nacional de Pesquisa (National Research Council).                                                                                                 |
| ANFALPET                                        | - Associação Nacional dos Fabricantes de Alimentos para Animais de Estimação.                                                                                |
| Ba <sub>2</sub> Mn <sub>8</sub> O <sub>16</sub> | - Holandita.                                                                                                                                                 |
| RNA                                             | - Ácido Ribonucléico.                                                                                                                                        |
| W                                               | - Watt.                                                                                                                                                      |
| kW                                              | - Quilowatt.                                                                                                                                                 |
| ICP-MS                                          | - Espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (Inductively coupled plasma mass spectrometry).                                                  |
| ICP OES                                         | - Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (Inductively coupled plasma optical emission spectrometry).                             |
| FAAS                                            | - Espectrometria de absorção atômica por chama (Flame atomic absorption spectrometry).                                                                       |
| GF AAS                                          | - Espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica em forno de grafite (Graphite furnace atomic absorption spectrometry).                     |
| HPLC                                            | - Cromatografia líquida de alta eficiência (High performance liquid chromatographic).                                                                        |
| HR-CS FAAS                                      | - Espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte de chama contínua (High resolution continuous source flame atomic absorption spectrometry). |
| RMN                                             | - Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (Resonance magnetic nuclear).                                                                              |
| PTFE                                            | - Politetrafluoretileno.                                                                                                                                     |
| ITPS                                            | - Instituto Tecnológico e de Pesquisas do Estado de Sergipe.                                                                                                 |
| EDMO                                            | - Eficiência na Decomposição de Matéria Orgânica.                                                                                                            |
| CT                                              | - Carbono Total                                                                                                                                              |
| CR                                              | - Carbono Residual.                                                                                                                                          |
| RF                                              | - Radiofrequência.                                                                                                                                           |

|                     |                                                                                              |
|---------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|
| LD                  | - Limite de detecção.                                                                        |
| LQ                  | - Limite de quantificação.                                                                   |
| BEC                 | - Concentração Equivalente de radiação de fundo (background).                                |
| Csr                 | Concentração do elemento na solução multielementar.                                          |
| SBR                 | - Razão sinal analítico/sinal de fundo.                                                      |
| Isr                 | - Intensidade de emissão da solução de referência.                                           |
| I <sub>branco</sub> | - Intensidade de emissão do branco analítico.                                                |
| RSD                 | - Desvio Padrão Relativo.                                                                    |
| MRC                 | - Material de Referência Certificado.                                                        |
| NIST                | - Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (National Institute of Standards & Technology). |
| NRCC                | - Conselho Nacional de Pesquisa do Canadá (National Research Council Canada).                |
| DORM-3              | - Material de Referência Certificado de Proteína de Peixe.                                   |
| NIST 1547           | - Material de Referência Certificado de Folha de Pêssego.                                    |
| NIST 1567a          | - Material de Referência Certificado de Farinha de Trigo.                                    |
| NIST 1566b          | - Material de Referência Certificado de Tecido de Ostra.                                     |
| NIST 1577           | - Material de Referência Certificado de Fígado Bovino.                                       |
| MAPA                | - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.                                       |
| ANOVA               | - Análise de Variância.                                                                      |
| HCA                 | - Análise de agrupamento hierárquico (Hierarchical cluster analysis).                        |
| PCA                 | - Análise de componentes principais (Principal component analysis).                          |

## SUMÁRIO

|                                                                                                                |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1. Introdução                                                                                                  | 16 |
| 2. Objetivos                                                                                                   | 18 |
| 2.1. Geral                                                                                                     | 18 |
| 2.2. Específicos                                                                                               | 18 |
| 3. Fundamentação teórica                                                                                       | 19 |
| 3.1. Nutrição de cães e gatos                                                                                  | 19 |
| 3.2. Metais, metalóides e não-metais em ração animal                                                           | 21 |
| 3.2.1. Magnésio (Mg)                                                                                           | 22 |
| 3.2.2. Cálcio (Ca)                                                                                             | 22 |
| 3.2.3. Fósforo (P)                                                                                             | 23 |
| 3.2.4. Ferro (Fe)                                                                                              | 23 |
| 3.2.5. Alumínio (Al)                                                                                           | 23 |
| 3.2.6. Potássio (K)                                                                                            | 24 |
| 3.2.7. Cobre (Cu)                                                                                              | 24 |
| 3.2.8. Zinco (Zn)                                                                                              | 24 |
| 3.2.9. Cádmio (Cd)                                                                                             | 25 |
| 3.2.10. Manganês (Mn)                                                                                          | 25 |
| 3.2.11. Cromo (Cr)                                                                                             | 25 |
| 3.2.12. Enxofre (S)                                                                                            | 26 |
| 3.2.13. Cobalto (Co)                                                                                           | 26 |
| 3.2.14. Estrôncio (Sr)                                                                                         | 27 |
| 3.2.15. Níquel (Ni)                                                                                            | 27 |
| 3.2.16. Bário (Ba)                                                                                             | 28 |
| 3.2.17. Vanádio (V)                                                                                            | 28 |
| 3.3. Preparo de amostras para análise química                                                                  | 28 |
| 3.4. Ferramentas quimiométricas                                                                                | 33 |
| 3.4.1. Planejamento de experimento                                                                             | 33 |
| 3.4.2. Análise multivariada de dados                                                                           | 34 |
| 3.5. Técnicas espectroanalíticas para determinação de metais, metalóides e não-metais em amostras de alimentos | 35 |

|                                                                                                        |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 4. Parte experimental                                                                                  | 39 |
| 4.1. Amostragem                                                                                        | 39 |
| 4.2. Descontaminação do material                                                                       | 39 |
| 4.3. Pré-tratamento das amostras                                                                       | 39 |
| 4.3.1. Digestão assistida por microondas                                                               | 40 |
| 4.4. Materiais de referência certificados                                                              | 40 |
| 4.5. Reagentes e solução padrão                                                                        | 41 |
| 4.6. Análise dos dados                                                                                 | 41 |
| 4.7. Condições instrumentais de análise                                                                | 41 |
| 5. Resultados e discussão                                                                              | 43 |
| 5.1. Otimização do processo de digestão de amostra                                                     | 43 |
| 5.2. Otimização das condições operacionais do ICP OES                                                  | 46 |
| 5.3. Uso da metodologia de superfície de resposta para otimização das condições de operação do ICP OES | 49 |
| 5.4. Validação analítica                                                                               | 56 |
| 5.4.1 Limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ)                                                 | 56 |
| 5.4.2 Precisão e exatidão                                                                              | 59 |
| 5.5. Aplicação do método otimizado em amostras comerciais de ração para cães e gatos                   | 61 |
| 5.6. Análise das rações através das agências reguladoras                                               | 66 |
| 5.7. Análise exploratória de dados                                                                     | 74 |
| 6. Considerações finais                                                                                | 83 |
| 7. Perspectivas futuras                                                                                | 85 |
| Referências                                                                                            | 86 |

## 1. INTRODUÇÃO

Os animais de estimação ocupam um número cada vez maior nos domicílios do mundo inteiro. No Brasil, existem aproximadamente 27 milhões de cães e 11 milhões de gatos. Alimentos destinados a estes animais geralmente são específicos para o tipo de animal, como: raça, tamanho e idade [PETBR, 2011].

A indústria brasileira de alimentos para cães e gatos cresceu cerca de 8% em 2010, equivalendo a pouco mais de dois milhões de toneladas [SINDIRAÇÕES, 2010]. Este crescimento levou ao surgimento de uma diversidade enorme de alimentos, com diferentes formas e aspectos, os quais podem ser classificados em várias categorias [DZANIS, 2003]. Talvez o método mais adequado para classificar esses alimentos seja o adotado pela Association American Feed Control Officials (AAFCO), que define três categorias principais, de acordo com a umidade: menor que 20%, entre 20 e 65%, e maior que 65% [NOEL & KREBS, 2010]. Entretanto, segundo a National Research Council (NRC) a classificação dos alimentos se dá em secos ou úmidos [NRC, 2006].

Esse segmento industrial está tão desenvolvido que o termo “ração”, anteriormente utilizado para expressar “dieta balanceada”, foi substituído pela expressão “alimentos completos”. Esta nomenclatura é reconhecida pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) através da Instrução Normativa nº 9, que fixa padrões de identidade e qualidade de alimentos completos destinados a cães e gatos [MAPA, 2009].

Diante disso, ressalta-se a importância na determinação dos constituintes das rações, principalmente com relação a presença de contaminantes. Logo, metais, metalóides e não-metais constituintes são uma das preocupações no âmbito nutricional, sendo que eles são classificados em três formas distintas: essenciais, não essenciais e os que se enquadram nas duas formas. Os denominados elementos essenciais, como ferro, cálcio, potássio, zinco, sódio, magnésio, cobre e níquel, na ordem de miligrama, são necessários ao metabolismo dos organismos vivos [ULUOZLU et al., 2007]. O alumínio, estanho, chumbo, cádmio, mercúrio, titânio, tungstênio e arsênio são classificados como elementos não essenciais, por não serem necessários ao organismo. Prontamente, ferro, zinco, manganês, cobalto e níquel são considerados elementos essenciais e simultaneamente microcontaminantes, pois em níveis ultratraço, micrograma e nanograma, são necessários, os quais são potencialmente tóxicos ao excederem determinados valores de concentração [OGA et al., 2008].

Para tornar possível a determinação das espécies químicas em uma matriz, faz-se necessário que a amostra seja convertida em uma forma adequada para o procedimento analítico. A preparação de amostras sólidas sugere processos de digestão ou extração dos analitos antes de quantificar suas concentrações, sendo estes, diversificados e passíveis de aplicação nas mais diversas matrizes [OLIVEIRA, 2003].

A análise química teve um grande avanço nos últimos anos com o surgimento de equipamentos laboratoriais que permitem a obtenção rápida de dados com adequada precisão e exatidão. Considerando estes aspectos, o presente trabalho propõe a otimização de um método analítico para determinação da composição mineral em ração para cães e gatos – (categorizado como alimento seco), empregando a espectrometria de emissão óptica em plasma acoplado indutivamente (ICP OES).

Assim, considerando a importância no âmbito da segurança alimentar, bem como, a significativa expansão na produção de ração para animais domésticos, foi realizada a caracterização mineral de ração para cães e gatos, comercializadas no estado de Sergipe, com o objetivo de diferenciá-las de acordo com a marca (fabricante) e o sabor, usando ferramentas estatísticas de análise multivariada. Além disso, foi proposta a análise por ICP OES, por se tratar de uma técnica multielementar, que permite determinar em uma mesma medida diversos elementos em baixas e altas concentrações em diferentes comprimentos de onda de emissão atômica e/ou iônica.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Geral**

Este trabalho teve como objetivo geral, determinar e avaliar a composição mineral por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) em ração para cães e gatos após digestão assistida por micro-ondas.

### **2.2. Específicos**

- ✓ Estabelecer método analítico para determinação da composição química em ração para cães e gatos, por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES);
- ✓ Empregar técnicas quimiométricas para otimizar variáveis relacionadas aos sistemas químicos propostos;
- ✓ Avaliar a eficiência de digestão da amostra de ração usando reagentes diluídos e aquecimento assistido por micro-ondas;
- ✓ Avaliar o teor total dos analitos após digestão assistida por micro-ondas;
- ✓ Caracterizar a precisão e exatidão do método proposto;
- ✓ Aplicar técnicas exploratórias de dados como análise por componentes principais (PCA) e análise de agrupamento hierárquico (HCA) para avaliar o conjunto de dados obtidos
- ✓ Avaliar os teores dos minerais conforme as agências reguladoras de rações para cães e gatos.

### **3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

#### **3.1. Nutrição de cães e gatos**

Sabe-se que uma vida saudável está diretamente ligada à nutrição, sendo necessária uma alimentação adequada. Dessa maneira, há uma disponibilidade de diferentes tipos de alimentos, onde os proprietários de animais de estimação têm a sua disposição rações para os diferentes estágios de vida. As rações ainda podem ser escolhidas de acordo com seus ingredientes, tamanho e raça do animal, e predisposição do animal a doença.

Os alimentos secos contêm umidade final entre 10% e 12% e são formulados objetivando atingir uma quantidade específica de nutrientes. Os principais nutrientes incluem proteínas, fibras, carboidratos, gorduras e minerais necessários para sustentar a vida e melhorar o desempenho dos animais de estimação [ZICKER, 2008], obtidos principalmente a partir de grãos de cereais e produtos derivados de fonte animal.

O bom aproveitamento dos nutrientes pelo organismo pode ajudar os animais a ter boa saúde intestinal. É possível chegar a um equilíbrio alimentar graças à dosagem adequada de carnes, cereais e legumes para cada tipo e porte do animal, cuja composição pode influenciar na palatabilidade, digestibilidade e consistência de fezes, influência na aparência do animal (pele e revestimento) e no comportamento [MEEKER, 2006].

Um regime alimentar deficiente pode causar uma série de problemas à saúde dos animais, podendo afetar desde o metabolismo de proteínas, carboidratos, até fatores ligados a qualidade fecal e a questão da segurança alimentar, a qual pode ser um dos critérios adotados para avaliar a qualidade dos alimentos produzidos pela indústria de alimentos para animais.

Em um estudo realizado na Turquia para determinação de elementos traço em ração de cães e gatos, DURAN et al. (2010) aludem o quanto é importante a determinação desses elementos no âmbito da segurança alimentar e consequentemente para saúde desses animais de estimação.

A maioria dos alimentos secos disponível no mercado é processada por extrusão, que resulta na gelatinização do amido, aumentando sua digestibilidade [TWONEY et al., 2002], podendo ser mais bem aproveitado pelo organismo do animal. O conteúdo digestível de nutrientes na ração final é importante para assegurar que um animal pode absorver nutrientes suficientes. Esta digestibilidade pode variar, em alimentos semelhantes, como consequência

da qualidade ou das diferenças entre as formas de processamento de seus ingredientes [CAVALARI et al., 2006].

O amido dos cereais é a mais abundante fonte de energia para a maioria dos animais domésticos. Suas características nutritivas dependem da composição dos seus açúcares, do tipo de ligação química, de fatores físico-químicos de digestão e de seu processamento [CARCIOFI, 2008].

Os principais contaminantes de componentes utilizados na formulação de rações são as micotoxinas (substâncias químicas tóxicas produzidas por fungos) [ROCHA, 2008], que segundo a Associação Nacional dos Fabricantes de Alimentos para Animais de Estimação – ANFALPET (2011), os efeitos são severos para cães e gatos, podendo afetar o fígado, aparelho digestivo, rins, aparelho reprodutor e sistema nervoso central. Não obstante, estas toxinas não podem ser totalmente eliminadas, e são consideradas contaminantes inevitáveis.

MORGANO et al. (2011), em seu trabalho de avaliação de peixes comercializados na cidade de São Paulo, detectaram que a maioria das espécies apresentaram níveis de cromo acima do permitido pela legislação nacional, sendo este resultado compatível com outros estudo. Estudos ainda ressaltam a importância de pesquisas para determinação de metais e metalóides em frutos do mar [BATISTA et al., 2011].

Tendo em vista a diversidade de nutrientes nessas rações, é possível descrever as principais fontes das classes dietéticas. As proteínas, advindas de origem animal (farinha de frango, farinha de ossos, vísceras, peixes e outros) [DURAN et al., 2010] e de origem vegetal (grão de ervilha, farelo de amendoim, grão de soja, farinha de milho e outros), são importantes na dieta de cães e gatos [BEDNAR et al., 2000]. Contudo, deve-se considerar a variabilidade na sua composição e sua qualidade nutricional, podendo haver divergências quanto à disponibilidade de seus nutrientes.

Os carboidratos, assimilados, principalmente, do amido dos cereais, são os componentes que mais influenciam no processo de digestão animal [SVIHUS et al., 2005]. Entre as principais fontes de carboidratos, é possível destacar os diversos tipos de farinhas de trigo, arroz, aveia, sorgo e batata, pois estas aparecem como fontes de carboidratos de fácil digestão [THOMPSON, 2008]. Já os lipídeos, desempenham pelo menos três funções: fornecem energia, ácidos graxos e flavor<sup>1</sup> em rações para carnívoros e devem ser observadas antes do início da formulação [ZORAN, 2002]. Por apresentarem alta densidade energética,

---

<sup>1</sup> Sensação fisiológica da interação do paladar e olfato.

quando comparados com carboidratos e proteínas, são os principais responsáveis pelo fornecimento de energia aos cães [NRC, 2003].

Há também os ingredientes com função dietética específica, que por sua vez, são utilizados para afetar a estrutura ou função corporal, mas cuja deficiência na dieta não ocasiona deficiência nutricional. Grande parte dessas substâncias desempenha importante papel no metabolismo animal, mas não podem ser consideradas essenciais, pois o corpo é capaz de sintetizá-las de outros componentes da dieta [DZANIS, 2003]. Alguns ingredientes podem ser citados: zeólitas, *Yucca schidigera*<sup>2</sup> [SANTOS et al., 2011<sup>a</sup>], taurina, arginina e uma série de alimentos funcionais, que incluem substâncias que variam em estrutura, função específica e local da função do organismo, inibindo a formação de radicais livres e prevenindo danos oxidativos no corpo [FRANÇA et al., 2011].

Dentre os diversos nutrientes que compõem a ração animal, destacam-se os minerais, que apesar de representarem uma pequena parcela da massa viva, são importantes nutrientes na manutenção dos processos metabólicos, ou seja, na conservação da vida. O fornecimento correto dos minerais pode contribuir para a prevenção de problemas de saúde, que aparecem com maior frequência em animais idosos [FRANÇA et al., 2011].

### **3.2. Metais, metalóides e não-metais em ração animal**

Na maioria dos animais apenas quatro elementos são responsáveis pela maior parte da massa corporal: carbono, oxigênio, hidrogênio e nitrogênio. Cerca de 40 outros compõem o restante desta massa corpórea, entre eles os minerais, que apesar da pouca quantidade necessária, são essenciais para manutenção dos processos metabólicos [AZEVEDO & CHASIN, 2003].

Baseado na qualidade das diferentes fontes de minerais para o organismo, o conhecimento acerca do metabolismo dos macro e microminerais e da nutrição dos animais tem avançado, mas ainda pouco se sabe sobre a exigência e disponibilidade desses minerais para espécies felinas [FASCETTI & MORRIS, 2002] e caninas [FRANÇA et al., 2011].

Sabe-se que a faixa de concentração que delimita a ação tóxica dos metais essenciais, é bem próxima de valores necessários ao metabolismo. Nesse cenário, os minerais são elementos de extrema importância. Sendo necessário discernir entre metais tóxicos, ou não

---

<sup>2</sup> Espécie de planta de flores pertencentes à família Agavaceae.

essenciais, e metais essenciais, ou melhor, identificar em termos de concentração a toxicidade dos metais, pois até mesmo os essenciais podem produzir efeitos tóxicos [CELIK & OEHLenschlager, 2007].

### **3.2.1. Magnésio (Mg)**

É um elemento essencial e participa de vários processos bioquímicos e fisiológicos. O intestino delgado é o local de maior absorção do mineral, que pode ocorrer por difusão passiva ou por um sistema mediado por carreadores no intestino delgado proximal [AZEVEDO & CHASIN, 2003]. Em gatos, sua absorção é reduzida com o aumento da concentração de cálcio e fósforo. Já em cães, a redução de pH facilitaria a absorção do mineral, entretanto, poucos dados estão disponíveis em relação a sua biodisponibilidade [MAPA, 2009].

Complexos formados e altos níveis de gordura, cálcio, fósforo, potássio e ferro na dieta reduzem sua biodisponibilidade, sendo o cálcio por competição pelos sítios de ligação da membrana e o fósforo, pela formação de complexos insolúveis. Em compensação, o sódio e a vitamina D aumentariam sua absorção [AZEVEDO & CHASIN, 2003].

### **3.2.2. Cálcio (Ca)**

É um elemento essencial que está envolvido em vários processos metabólicos, necessário para o crescimento e desenvolvimento do esqueleto e dentes dos animais. Entretanto, a ingestão elevada pode levar à calcificação excessiva dos ossos e de tecidos moles como os rins [BUENO & CZEPIELEWSKI, 2008].

A absorção do cálcio ocorre no duodeno por difusão passiva e por proteína carreadora. A sua liberação para o organismo ocorre quando a vitamina D interage na membrana plasmática, abrindo os canais de cálcio [BUENO & CZEPIELEWSKI, 2008]. Em estudo realizado com cães, foi constatado que animais que recebem baixo índice de cálcio aumentam sua absorção, comparados aos animais que receberam esse mineral em nível ideal. Já os animais que receberam elevada taxa de cálcio apresentaram falha no mecanismo de proteção de elevada absorção do mineral [TRYFONIDOU et al., 2002].

### **3.2.3. Fósforo (P)**

Os íons de cálcio, magnésio e fósforo são fundamentais para o metabolismo em seres humanos [OLIVEIRA, 2007] e em consequente, animal, atuando sempre em conjunto, um interagindo na concentração do outro. O fósforo apresenta maior absorção no jejuno, e seu transporte é realizado por difusão passiva ou cotransporte com sódio [AZEVEDO & CHASIN, 2003]. Em cães, a absorção de fósforo é reduzida com o aumento da concentração do mineral na dieta e apresenta grande variação em sua absorção. Em relação aos felinos, a redução nos níveis de cálcio levou ao aumento na absorção de fósforo [NRC, 2006].

A absorção do fósforo também é influenciada pela idade do animal e pH intestinal. Assim como sofre a interferência de outros minerais, ferro, magnésio e alumínio, pela formação de fosfatos insolúveis, que por sua vez se complexam ao cálcio, reduzindo sua biodisponibilidade [TRYFONIDOU et al., 2002].

### **3.2.4. Ferro (Fe)**

O ferro é um nutriente essencial presente em diversos alimentos. Grande parte do ferro total presente em seres humanos encontra-se associado à hemoglobina, essa situação também pode ser estendida aos mamíferos, por apresentarem metabolismo semelhante [AZEVEDO E CHASIN, 2003], além de participar de vários outros processos, tais como o transporte de oxigênio e como cofator nas reações de transferência e conservação de energia [SIQUEIRA et al., 2006].

A absorção deste mineral é influenciada por alguns fatores, dentre eles idade e fonte dietética. Ela pode ser reduzida pela presença do cálcio, por competição do sítio de absorção [NRC, 2006]. Em contrapartida, a redução de pH (entre 2 e 3,5), assim como o ácido ascórbico e a cisteína, aumentam a absorção do mineral [SIQUEIRA et al., 2006].

### **3.2.5. Alumínio (Al)**

Não há evidências confirmadas de que o alumínio possua alguma função essencial em animais ou seres humanos. É possível mencionar que pequenas quantidades do mineral ingeridas na dieta diária, são excretadas pelos rins de indivíduos saudáveis, de modo que nenhuma acumulação ocorra, porém, quando há deficiência em sua excreção pode acumular-

se afetando a formação óssea do esqueleto [AZEVEDO & CHASIN, 2003]. Logo, para cães e gatos, animais que apresentam esqueleto ósseo, a ocorrência desse metal deve ser de forma bastante similar aos seres humanos.

### **3.2.6. Potássio (K)**

É um elemento essencial que apresenta alta biodisponibilidade. Apresenta absorção por difusão passiva, ocorrendo principalmente no intestino delgado proximal. Por apresentar alto coeficiente de digestibilidade, sua excreção é principalmente por via urinária, sendo seus íons responsáveis por regular a pressão osmótica e a transmissão de impulsos nervosos [AZEVEDO & CHASIN, 2003]. Daí é possível mencionar que cães e gatos devem apresentar metabolismo similar ao exposto.

### **3.2.7. Cobre (Cu)**

O cobre é amplamente distribuído nos tecidos biológicos, formando principalmente complexos orgânicos. Atua principalmente na atividade catalítica enzimática, assim, em baixas concentrações é essencial ao metabolismo humano e animal, em especial cães e gatos, objeto de estudo desse trabalho. A absorção deste mineral se dá, principalmente, no duodeno através de difusão passiva e transporte por proteína carreadora. Alguns minerais, cálcio, ferro, cádmio e zinco, competem pela mesma proteína carreadora, reduzindo sua absorção [FASCETTI & MORRIS, 2002].

### **3.2.8. Zinco (Zn)**

É um micronutriente, intracelular, mais abundante, encontrado em todos os tecidos corpóreos, fazendo parte da atividade enzimática, sendo necessário para a síntese de RNA e para o desenvolvimento do esqueleto [FASCETTI & MORRIS, 2002]. Também está envolvido no processo de multiplicação celular, na espermiogênese e desenvolvimento dos órgãos sexuais do macho e em todas as fases do processo reprodutivo da fêmea.

A absorção do zinco ocorre, principalmente, no intestino delgado, sendo o transporte realizado por carreadores presentes na membrana e por difusão passiva. Sua absorção é

considerada baixa e pode ser reduzida com elevados níveis de fósforo, cálcio, cobre e cromo na dieta [FRANÇA et al., 2008].

### **3.2.9. Cádmio (Cd)**

O cádmio aparece na natureza associado ao zinco, cobre e chumbo. Íons desse metal podem ser absorvidos pela pele, por inalação e por via gastrointestinal. Essa absorção pode ser aumentada em uma dieta pobre em cálcio, ferro e proteínas. Quando absorvido, o cádmio acumula-se no fígado, onde se liga a uma proteína de baixo peso molecular, metalotionina, sendo transportado do fígado para os rins, chegando a provocar toxicidade renal [CELIK & OEHLenschlager, 2007], em animais de pequeno porte, causa um efeito bastante rápido, os levando à morte, a depender da concentração interferente.

Pois a excreção ocorre lentamente, principalmente através das vias urinárias e intestinal, tornando-se mais eficiente com o aumento da idade. Porém, uma exposição crônica, deve afetar o sistema cardiovascular e os ossos. Os últimos sendo afetados, principalmente, pelas alterações no metabolismo do cálcio, causando a desmineralização dos ossos, ou ainda interferência no metabolismo da vitamina D [CELIK & OEHLenschlager, 2007].

### **3.2.10. Manganês (Mn)**

O manganês é associado a muitas funções biológicas, como na formação dos tecidos conjuntivo e ósseo, auxiliando no crescimento, reprodução e metabolismo de carboidratos e lipídios, sendo assim um metal essencial [ULUOZLU et al., 2007].

A exposição tóxica ao manganês por via oral é menos comum, sendo a exposição por partículas inaláveis a mais significativa. Contudo, a exposição prolongada produz lesões nervosas, com sintomas de neurotoxicidade crônica, tremores e dificuldades nos movimentos, se assemelhando ao mal de Parkinson [ULUOZLU et al., 2007].

### **3.2.11. Cromo (Cr)**

O cromo é encontrado na natureza em diversas combinações com outras substâncias e em três estados de oxidação (+2, +3 e +6), sendo o  $\text{Cr}^{3+}$  a forma mais importante, essencial para o metabolismo. Por outro lado, o  $\text{Cr}^{6+}$  é potencialmente tóxico, considerado

carcinogênico e mutagênico [ULUOZLU et al., 2007], afetando a vida dos animais domésticos.

Como metal essencial, o cromo potencializa a ação da insulina (íon  $\text{Cr}^{3+}$ ), contudo, como para outros metais essenciais, os limites normais e tóxicos de cromo não são bem definidos para maioria dos seres vivos [OGA et al., 2008].

### **3.2.12. Enxofre (S)**

O enxofre está presente em diversas células, principalmente naquelas que compõe as unhas, a pele e os cabelos e nas moléculas protéicas, como íons sulfetos e sulfatos [NUTRIÇÃO EM FOCO, 2012]. Mas os sulfitos ou agentes sulfitantes são predominantes na composição alimentícia. A adição desses agentes permite a inibição dos efeitos causados por ações enzimáticas, fungos e leveduras. Também utilizados como agentes antioxidantes e redutores em aplicações tecnológicas [MACHADO et al., 2006].

Diversos efeitos adversos podem estar relacionados aos sulfitos, como crises asmáticas e distúrbios neurológicos, pois os mesmos precisam da ação da enzima sulfito oxidase, que os transforma em sulfato, que rapidamente é excretado pelo organismo. Estudos mencionam que a ingestão de alimentos que não necessitam de cozimento é o principal meio de ingestão de sulfitos, pois há um uso abusivo de agentes sulfitantes, responsáveis principalmente pela conservação dos alimentos [MACHADO et al., 2006].

De outro modo, os sulfetos e sulfatos participam de funções importantes como metabolismo de gorduras, compõe o colágeno, coagulação sanguínea e combate a micróbios e parasitas. Já a ausência do enxofre nessas formas pode causar ardor na garganta, dores nas articulações e debilidade física e psíquica [NUTRIÇÃO EM FOCO, 2012].

### **3.2.13. Cobalto (Co)**

O cobalto é considerado elemento traço essencial na alimentação de pessoas, animais e plantas. Sua deficiência pode causar anemia e distúrbios no sistema nervoso, pois é componente principal da formação da vitamina B12. Contudo, em concentrações elevadas pode ser tóxico para humanos, animais e plantas [MEDEIROS et al., 2012].

Este mineral é bem distribuído pelos tecidos apresentando maiores concentrações no fígado, ossos, músculos e rins, sendo excretado rapidamente, através das fezes. A absorção

deste elemento está no intestino delgado, seja na forma de vitamina B12 ou na forma inorgânica [GONÇALVES et al., 2009].

#### **3.2.14. Estrôncio (Sr)**

O estrôncio ocorre naturalmente em rochas e no solo e é incorporado por animais durante a alimentação, porém níveis excessivos desse mineral podem ser extremamente tóxico. Sabe-se que este metal é liberado em forma isotópica  $^{87}\text{Sr}^3$ , para o ciclo hidrológico, a partir do intemperismo rochoso<sup>4</sup> [KUCHENBECKER et al., 2011].

No metabolismo tem papel semelhante ao do cálcio, devendo-se ter cuidado na ingestão de seus isótopos naturais Sr-89 e Sr-90, pois ocupam o lugar do cálcio na estrutura óssea, podendo danificar a medula óssea e as células sanguíneas em formação. Já o cloreto e o brometo de estrôncio são utilizados na medicina para controlar distúrbios nervosos [NAUTILUS, 2012].

#### **3.2.15. Níquel (Ni)**

O níquel é um elemento tóxico a nível traço. O acúmulo desse elemento no organismo dá-se, mais frequentemente, pela ingestão de alimentos aquáticos (peixes e frutos do mar), pois esses animais não conseguem excretar com facilidade esse metal, bioacumulando [KUCHENBECKER et al., 2011].

O acúmulo de níquel no organismo também está relacionado à sua biodisponibilidade de acordo com a forma disponível, ou seja, se o níquel estiver presente como compostos solúveis (hidróxidos, sulfatos, cloretos e nitratos), considera-se maior risco de acúmulo no organismo, já nas formas insolúveis (óxidos e sulfetos) [AZEVEDO & CHASIN, 2003] o risco é minimizado, pois será maior a possibilidade de excreção.

O níquel tem se apresentado em funções fisiológicas de animais e bactérias, contudo não há registro de deficiências de níquel em organismos, pois a quantidade desse metal requerida é muito pequena [AZEVEDO & CHASIN, 2003].

---

<sup>3</sup> Isótopo radiogênico proveniente do decaimento ( $\beta$ ) do  $^{87}\text{Rb}$ .

<sup>4</sup> Conjunto de fenômenos físico-químicos que levam ao enfraquecimento das rochas.

### **3.2.16. Bário (Ba)**

A presença de sais de bário na alimentação pode provocar diversas disfunções no organismo, como por exemplo, aumento da pressão arterial (hipertensão) e mau funcionamento dos rins e do coração [GONÇALVES et al., 2009].

Esse elemento encontra-se na natureza em forma de cátions divalentes em combinação com outros elementos. No solo, encontra-se principalmente como mineral holandita ( $\text{Ba}_2\text{Mn}_8\text{O}_{16}$ ), mas também pode ser encontrado em insetos, peixes, água potável e alimentos [WHO, 2001].

O bário pode ser adquirido por via oral ou por via respiratória, podendo ainda ser absorvido quando em contato direto com a pele, sendo excretado principalmente pelas fezes. A ingestão excessiva pode causar vômitos, cólicas fortes, diarreia, hemorragia e tremores musculares, irritação estomacal e até parada cardíaca [WHO, 2001].

### **3.2.17. Vanádio (V)**

O vanádio é um elemento tóxico, contudo é um microelemento essencial em alguns organismos. Uma variedade de sinais de toxicidade existe porque variam tanto em espécie química quanto em dose. Em humanos não está demonstrada a sua essencialidade, ainda que existam compostos de vanádio que imitam e potencializam a atividade da insulina. É encontrado em algumas enzimas de diferentes seres vivos. Na natureza se encontra um único isótopo estável,  $^{51}\text{V}$  [OEHEME, 1979].

Segundo Duke (1970), em gêneros alimentícios foram encontrados teores de vanádio material seco (parte por milhão): fruta-pão (0,1), coco (0,004), banana (0,01), arroz (0,2), abacate (0,1), feijão seco (0,5), milho (0,07), e outros. Vanádio tem afinidade natural por óleo e gorduras. Muitos óleos comestíveis têm grande concentração desse elemento [OEHEME, 1979].

## **3.3. Preparo de amostras para análise química**

Convencionalmente, para determinação da composição inorgânica de amostras sólidas, se faz necessário que as amostras sofram um processo de decomposição, que pode ser

realizado em meio seco por calcinação em forno mufla e em meio úmido através da adição de ácidos minerais ou misturas ácidas e com agentes oxidantes denominada digestão ácida.

Dentre as etapas do processo analítico (definição do problema, escolha do método, amostragem, preparação da amostra, calibração, medição, avaliação e ação), a etapa do pré-tratamento da amostra é a mais crítica, pois é a que demanda mais tempo e maior manipulação, conduzindo muitas vezes a contaminação e/ou ao erro [KRUG, 2006].

Este fato pode ser constatado em um estudo para detecção de espécies minerais em derivados de frango e peixe realizado por ULUOZLU et al. (2009), nos quais foram detectados elevados índices de chumbo. MENDIL et al. (2010) confirmaram a necessidade dos cuidados nas práticas e manuseios no processamento de matéria prima, uma vez que essa etapa de preparação é a mais suscetível à contaminação do material.

O procedimento de preparação de amostras deve ser simples, rápido, usar pequenas quantidades de reagentes e ser passível de aplicação em diferentes tipos de amostras. Entre os diversos tipos de procedimentos analíticos para digestão de amostras pode-se destacar o uso do ultrassom e radiação micro-ondas pela eficiência e rapidez [OLIVEIRA, 2003].

A digestão por via seca (calcinação) torna-se limitada devido a possíveis reações dos analitos com o material do cadinho, formação de resíduos de combustão de difícil dissolução, perdas de elementos voláteis e maior probabilidade de contaminação da amostra [KRUG, 2006].

Por sua vez, os processos de digestão ácida são empregados, a fim de converter o analito em uma forma adequada para a medida, podendo ocorrer em frascos fechados ou abertos, dependendo da amostra e das concentrações de analito. Entretanto, os procedimentos realizados em frascos fechados são mais rápidos e eficientes, enquanto que a utilização de sistemas abertos implica em etapas trabalhosas, possibilitando perda de analito por volatilização [OLIVEIRA, 2003].

A utilização da energia de micro-ondas em digestão ácida é uma metodologia bem estabelecida para o tratamento de amostras, tornando possível a redução do tempo de digestão, tendo como limitação o alto custo dos instrumentos empregados. Paralelamente à crescente utilização das micro-ondas, vem crescendo também o uso das ondas ultrassônicas, embora ainda não bem exploradas apresentem bons resultados, tornando-se uma boa alternativa nos procedimentos de abertura total de amostras [OLIVEIRA, 2003].

Estas técnicas podem ser utilizadas concomitantemente para obtenção de resultados mais eficientes na digestão de amostras complexas. Tornando possível a utilização de ácidos

diluídos, reduzindo a perda de analitos por volatilização e formação de vapores nocivos, além de despendar um menor tempo de processamento. [CASTRO et al., 2009; SANTOS et al., 2009; BIZZI et al., 2011<sup>a</sup>]

A decomposição de amostras biológicas e produtos alimentares, utilizando ácido nítrico ou a sua mistura com outros ácidos minerais ou com peróxido de hidrogênio, diluídos, têm sido utilizados para o preparo de amostras. O uso de ácido nítrico diluído é uma alternativa atrativa para os processos de decomposição de matéria orgânica. Este processo está bem estabelecido na literatura, o que permite o uso de soluções diluídas para decomposição e uma digestão eficiente de amostras com elevado teor de carbono, em sua composição, sendo claramente demonstrado o efeito do gradiente de temperatura dentro do vaso reacional e os benefícios da adição de oxigênio pressurizado para a regeneração de ácido nítrico no processo. [BIZZI et al., 2011<sup>a</sup>; BIZZI et al., 2011<sup>b</sup>; BIZZI et al., 2011<sup>c</sup>]

Como mostra NARDI et al. (2009), que investigaram um método para determinação de metais em diversos tipos de alimentos, utilizando a espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS). Santos et al. (2008) (2009) publicaram estudos utilizando um método analítico usando ICP OES como forma multielementar de determinação, dos quais dispõem de metodologias de preparo de amostras amplamente distintas, sendo a primeira através de moinho de bolas, detectando contaminação das amostras, e a segunda utilizando ondas ultrassônicas, a qual tem se mostrado bastante eficiente no processo de digestão de amostra de alimentos.

Os fundamentos para aplicação do ultrassom no preparo de amostras para fins analíticos estão relacionados às ondas de choque, acentuando a interação entre a fase líquida e a superfície dos sólidos, aumentando a concentração das espécies presentes na fase líquida. Essas ondas consistem de ciclos de compressão e expansão, os primeiros exercem uma pressão positiva sobre o líquido, juntando as moléculas, enquanto os segundos uma pressão negativa, afastando as moléculas [BRITO et al., 2012].

Além disso, o processo de digestão é facilitado em função das altas temperaturas e pressões geradas próximo a superfície em sistemas fechados. As altas temperaturas aumentam a solubilidade e altas pressões ajudam a penetração e o transporte, formadas na interface entre as soluções e as matrizes sólidas, submetidas à energia ultrassônica, combinadas com o poder oxidativo dos radicais formados, podem resultar em uma alta eficiência extrativa [SANTOS et al., 2008].

O tratamento de amostras mediante aquecimento assistido por micro-ondas tem demonstrado ser um processo mais eficiente e seguro em comparação com aquecimento convencional. É cabível propor que à medida que a temperatura é elevada, a migração iônica também aumente, tornando a contribuição da migração iônica mais importante. Desta forma, pode-se dizer que soluções diluídas absorverão menos, pois o aumento da temperatura reduz a absorção e soluções concentradas terão aumento da absorção devido ao fenômeno da migração iônica [SANTOS et al., 2008].

A **Tabela 1** apresenta trabalhos que empregaram a energia das micro-ondas e técnicas instrumentais para as determinações de elementos químicos.

**Tabela 1.** Trabalhos desenvolvidos utilizando as micro-ondas.

| Matriz                                                                               | Elemento                                                   | Técnica analítica                                | Referência                      |
|--------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|---------------------------------|
| Amostras biológicas (sangue e vísceras bovino, grãos de soja)                        | N, S, C, H, Ca, Fe, K, Mg, Na, P e Zn                      | RMN <sup>5</sup><br>HPLC <sup>6</sup><br>ICP OES | Gonzalez et al., 2009           |
| Tecidos de Cetaceae Delphinidae (golfinhos)                                          | Cd e Pb                                                    | GFAAS <sup>7</sup>                               | Korn et al., 2010               |
| Carnes (bovino e frango) e grãos (milho e soja)                                      | Fe, Mn e S                                                 | ICP-MS <sup>8</sup>                              | Amais et al., 2011              |
| Leite em pó                                                                          | Ca, Cd, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na, Pb e Zn                 | ICP OES<br>ICP MS                                | Bizzi et al., 2011 <sup>b</sup> |
| Óleos vegetais                                                                       | Cu, Fe, Ni e Zn                                            | HR-CS FAAS <sup>9</sup>                          | Nunes et al., 2011              |
| Leite em pó integral                                                                 | C                                                          | ICP OES                                          | Bizzi et al., 2011 <sup>a</sup> |
| Amostras botânicas (orégano, salsa, manjeriço, coentro, cebolinha)                   | Al, Ba, Ca, Co, Cr, Cu, Mg, Mn, Ni, Sr, V e Zn             | ICP-MS<br>ICP OES                                | Barin et al., 2012              |
| Tomate                                                                               | Al, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Se, Sn, Sr, V e Zn | ICP-MS<br>ICP OES                                | Bressy et al., 2012             |
| Molho de tomate                                                                      | Sn                                                         | ICP OES                                          | Morte et al., 2012              |
| Materiais de referência certificados (folha de macieira, fígado bovino, leite em pó) | Al, Cu, Fe, Mn, Mo, Rb, Se, Sr e Zn                        | ICP OES<br>ICP-MS                                | Nóbrega et al., 2012            |

Os trabalhos supracitados demonstram a eficiência na decomposição de amostras biológicas com elevado teor de carbono pelo processo de aquecimento por micro-ondas e, depois, a quantificação dessas soluções por técnicas de detecção multielementar, como ICP OES e ICP-MS.

A viabilidade do emprego das micro-ondas está na redução do tempo de análise e a redução de erros sistemáticos no tratamento de cada tipo de matriz e analito de interesse, além de permitir a utilização de agentes oxidantes diluídos. As técnicas instrumentais apresentadas

<sup>5</sup> Espectroscopia de ressonância magnética nuclear.

<sup>6</sup> Cromatografia líquida de alta eficiência.

<sup>7</sup> Espectrometria de absorção atômica com forno de grafite.

<sup>8</sup> Espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado.

<sup>9</sup> Espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua de chama.

são atrativas como técnicas rotineiras por permitirem a determinação multielementar e, algumas delas, determinações simultâneas.

Em face ao crescente mercado de ração animal, há interesse no desenvolvimento de métodos analíticos confiáveis para a determinação dos elementos químicos presentes nessas rações. Duran et al. (2010) determinaram Cu, Ni, Pb, Fe, Mn, Cr e Cd fazendo uso da mistura de  $\text{HNO}_3$  e  $\text{H}_2\text{O}_2$  concentrados sob aquecimento e determinação por espectrometria de absorção atômica por chama (FAAS), em rações para cães e gatos comercializadas em Kayseri, Turquia. Elias et al. (2012) determinaram 16 elementos químicos (As, Br, Ca, Co, Cr, Cs, Fe, K, La, Na, Rb, Sb, Sc, Se, U e Zn) por ativação com nêutrons em rações para cães comercializadas em São Paulo, Brasil. Em outro trabalho, realizado no Chile, Alomar et al. (2006) determinaram Ca, K, Mg, P, Fe, Cu, Mn e Zn em rações para cães por espectrometria de reflectância no infravermelho.

### **3.4. Ferramentas quimiométricas**

#### **3.4.1. Planejamento de experimento**

O planejamento de experimentos é uma ferramenta importante para estudar o efeito conjunto de vários fatores sobre uma variável resposta de interesse, pois baseado em princípios estatísticos, os pesquisadores podem extrair do sistema em estudo o máximo de informação, fazendo um número mínimo de experimentos [NETO et al., 2003].

Primeiramente, em um planejamento de experimentos, faz-se necessário determinar quais são os fatores e as respostas de interesse para o sistema que se deseja estudar [TEÓFILO & FERREIRA, 2006].

Uma das ferramentas estatísticas mais utilizadas é o planejamento fatorial completo em dois níveis. Este é empregado para verificar a significância preliminar das variáveis respostas no sistema em estudo. A otimização multivariada (planejamento fatorial) dos parâmetros experimentais como: temperatura, tempo, concentração de reagentes, dentre outros, facilita a melhor compreensão dos estudos de um método mais eficiente e adequado para cada trabalho [TEÓFILO & FERREIRA, 2006].

De forma geral, o planejamento fatorial pode ser representado por  $b^k$ , em que, “ $k$ ” é o número de fatores e “ $b$ ” é o número de níveis escolhidos. Isso só acontece com  $b$  igual para todos os fatores. Nos planejamentos fatoriais em que as variáveis são exploradas em 2 níveis é

comum codificá-los usando sinais (+) e (-), sendo (+) para valores de máximos e (-) para valores de mínimos, permitindo ilustrar o experimento sob forma de matriz de planejamento [NETO et al., 2003].

O planejamento fatorial determina que fatores têm efeitos relevantes na resposta e como o efeito de um fator varia com os níveis dos outros fatores, permitindo mensurar as interações entre diferentes fatores. Desse modo, os efeitos principais são diferenças médias entre valores situados em arestas opostas e perpendiculares ao eixo do fator em questão [NETO et al., 2003].

Em um planejamento composto central se observa a relação entre uma ou mais variáveis e um conjunto quantitativo de fatores experimentais, através de um método estatístico que utiliza dados de um desenho experimental adequado para determinar e simultaneamente solucionar equações matemáticas e obter valores críticos para as variáveis estudadas. Este tipo de planejamento é denominado como metodologia da superfície de resposta [TEÓFILO & FERREIRA, 2006].

Para ajustar ao modelo empírico mais adequado, a função de resposta é caracterizada em uma região de interesse, para tornar possível sua utilização na prática. Após o ajuste do modelo aos dados experimentais, é possível estimar a sensibilidade da resposta aos fatores, além de determinar o nível dos fatores nos quais a resposta é ótima [TAY & BUTLER, 1999].

Com o uso de planejamento experimental usando a metodologia de superfície de resposta é possível otimizar as condições de processo, maximizando rendimentos e minimizando custos e tempo, ou mesmo conduzindo o processo a obtenção de um produto com as especificações desejadas, obtendo resultados com altos índices de confiabilidade em experimentos envolvendo ferramentas estatística em métodos analíticos [LOPES et al., 2009].

### **3.4.2. Análise multivariada de dados**

Além da utilização das ferramentas computacionais mencionadas tem sido frequente o uso de ferramentas matemáticas que torne possível, de modo mais criterioso, extrair um maior número de informações de um conjunto de dados [MATOS et al., 2003; HOPKE, 2003; TEÓFILO & FERREIRA, 2006]. Entre estas ferramentas estão à análise de agrupamento hierárquico (HCA) e a análise de componentes principais (PCA). Estes dois métodos permitem encontrar uma propriedade de um conjunto de amostras que não é diretamente

mensurável, mas que se relacionam a partir das determinações analíticas [CORDELLA et al., 2002; LEES, 2003]

A PCA visa reduzir a dimensionalidade de informações, tornando possível efetuar uma simplificação, seleção de variáveis, importantes em determinado sistema [CORREIA & FERREIRA, 2007; WOLD et al., 1992; NASCIMENTO et al., 2010]. Já a HCA busca agrupar as amostras em classes, baseando-se nas semelhanças e diferenças de componentes de uma mesma classe e entre classes diferentes, respectivamente, obtendo-se uma representação gráfica denominada de dendograma<sup>10</sup> [CORREIA & FERREIRA, 2007].

Assim, a análise multivariada é uma importante ferramenta que permite a extração de uma maior quantidade de informações, a qual tem sido amplamente explorada com a finalidade de garantir a autenticidade de produtos agroindustriais [NASCIMENTO et al., 2010; TEIXEIRA et al., 2012, TORMEN et al., 2011]. Possivelmente, podem-se descrever algumas metas passíveis de serem alcançadas com a utilização de análise estatística multivariada: (i) redução de dados e simplificação estrutural, (ii) classificação e agrupamento de objetos, (iii) investigar a dependência entre as variáveis, (iv) predição e (v) a construção da tese [NASCIMENTO et al., 2010].

### **3.5. Técnicas espectroanalíticas para determinação de metais, metalóides e não-metais em amostras de alimentos**

Um dos maiores desafios para quantificação de espécies químicas em amostras de alimentos está na complexidade destas matrizes por poderem apresentar espécies em concentração abaixo do nível de detecção das técnicas empregadas.

Várias técnicas analíticas instrumentais têm sido utilizadas para determinação da composição mineral dos alimentos. Dentre as técnicas espectroanalíticas, as espectrometrias de absorção atômica com chama (FAAS) e com atomização eletrotérmica em forno de grafite (GFAAS), assim como as espectrometrias de emissão óptica (ICP OES) e de massas (ICP-MS), ambas acopladas indutivamente ao plasma (ICP), têm se destacadas [LOPES et al., 2009].

A análise por FAAS é utilizada para determinação de metais com baixo potencial de excitação e concentrações geralmente na ordem de  $\text{mg.L}^{-1}$ , permitindo a realização de um

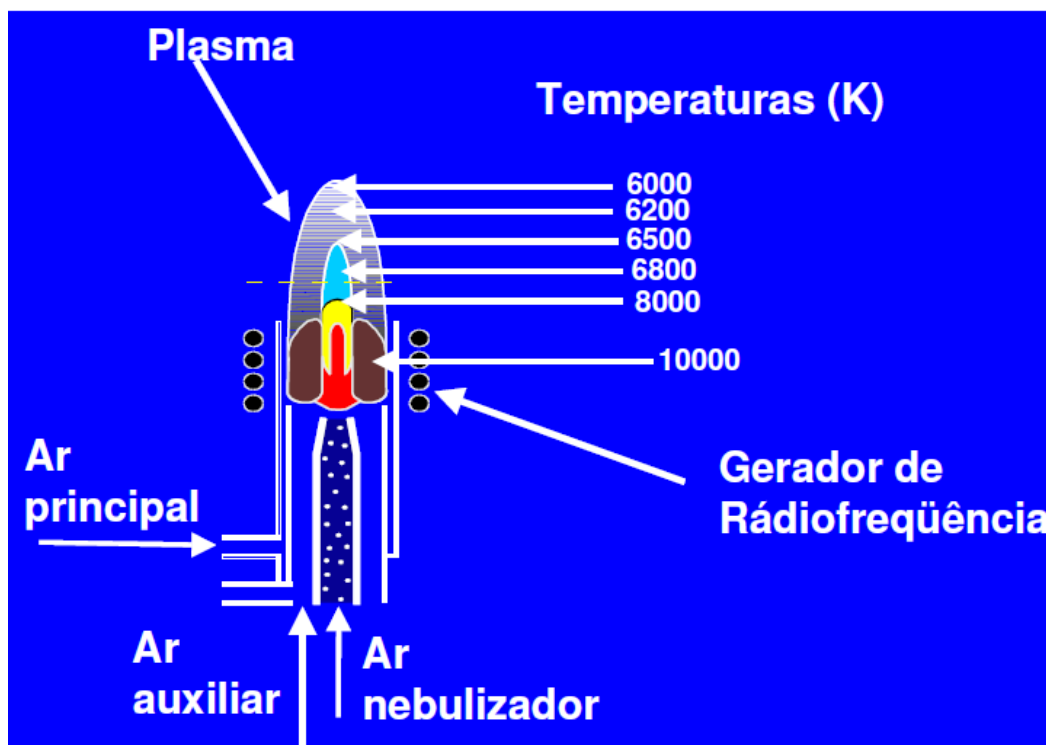
---

<sup>10</sup> Gráfico bidimensional independente do número de variáveis do conjunto de dados.

grande número de determinações em pouco tempo. Por outro lado, GFAAS permite determinações da ordem de  $\mu\text{g.L}^{-1}$ , sendo assim uma técnica mais sensível quando comparada com FAAS [HARRIS, 2001].

Por outro lado, à análise por ICP-MS, pode-se dizer que é uma técnica robusta e capaz de multideterminação em uma única varredura do espectro de massa, permitindo determinações da ordem de  $\mu\text{g.L}^{-1}$  ou até em  $\text{ng.L}^{-1}$  dependendo do analito de interesse. Para tornar possível a detecção elementar, os íons gerados no plasma são transferidos para uma região de alto vácuo através de uma interface de cones, os quais são focalizados empregando lentes iônicas e direcionados para o espectrômetro de massas (analisador de massa), onde são separados em função da razão massa/carga [OLIVEIRA, 2006].

As determinações por ICP OES permitem concentrações dos elementos geralmente na ordem de  $\text{mg.L}^{-1}$ . É uma técnica sensível e seletiva para detecção de vários elementos de modo sequencial ou simultâneo, se baseando nas observações de emissões de radiação dos elementos constituintes da amostra, atomizados ou ionizados em um plasma, geralmente de argônio. A Figura 1 mostra o esquema de geração do plasma, que consiste de um gerador de radiofrequência, um sistema para introdução da amostra, uma tocha, um sistema de gás argônio para formação e sustentação do plasma [BOSS & FREEDEN, 2007; BOUSMANS, 1987].

**Figura 1.** Esquema do plasma para ICP OES.

**Fonte:** [CAVA-MONTESINOS et al., 2004].

O plasma pode ser definido como um gás parcialmente ionizado, no qual coexistem cátions  $\text{Ar}^+$ , elétrons e átomos neutros de Ar. Os íons argônio, uma vez formados no plasma, são capazes de absorver potência suficiente de uma fonte externa para manter a temperatura do plasma, no qual o nível de ionização mantém-se indefinidamente [SANTOS et al., 2009].

Um plasma robusto tende a minimizar as interferências causadas pelos elementos de fácil ionização e pode ser obtido quando for estabelecida uma baixa vazão de nebulização do gás e uma potência da fonte de radiofrequência alta, acima de  $0,6 \text{ L min}^{-1}$  e  $1,2 \text{ kW}$ , respectivamente. O termo robustez foi proposto para representar a eficiência da transferência de energia e a resposta do plasma na troca das condições de atomização e excitação e a composição química da solução aspirada [SILVA et al., 2002].

As fontes de plasma oferecem uma série de vantagens, quando comparadas com outras fontes de atomização, espectros de emissão de boa qualidade para vários elementos, possibilitando uma determinação simultânea e curvas de calibração com até nove ordens de grandeza [CASTRO et al, 2009].

Desta forma, objetivando a determinação do maior número possível de constituintes inorgânicos (metais, metalóides e não-metais) em ração de cães e gatos por ICP OES, este

trabalho teve como finalidade o estabelecimento da proporção da mistura reacional para decomposição das amostras de ração assistida por micro-ondas e das condições operacionais de compromisso do ICP OES, ambas otimizadas por planejamento de experimento simultâneo. A precisão e a exatidão do método analítico otimizado foram estabelecidas pelo cálculo do desvio padrão relativo (RSD) entre as medidas e a análise de cinco materiais de referência certificados presentes na composição das rações.

## **4. PARTE EXPERIMENTAL**

### **4.1. Amostragem**

Vinte e quatro (24) amostras de rações de cães e dezessete (17) amostras de rações de gatos foram coletadas em supermercados e lojas revendedoras de rações de animais localizadas em municípios do Estado de Sergipe [Aracaju (9), Itabaiana (8), Carmópolis (8), Lagarto (4), Carira (8) e São Cristóvão (4)], sendo respeitado regras para preservação da amostra: coletá-las em recipientes plásticos, mantidos em local fresco e ao abrigo da luz, evitando exposição a cheiros fortes ou ação de gases.

As amostras foram coletadas a partir de embalagens lacradas e também em sacos abertos, dispostos em estabelecimentos comerciais. As massas coletadas foram compreendidas entre 500 g e 1,0 Kg de ração [AAFCO, 2000], sendo constituídas de variados sabores e composição nutricional para os animais domésticos (cães e gatos).

### **4.2. Descontaminação dos materiais**

Os materiais utilizados nas análises foram previamente descontaminados em solução de  $\text{HNO}_3$  a 10% (v/v) por no mínimo 24h. Em seguida, foram lavados com água ultrapura e secos à temperatura ambiente [MORTE et al., 2012].

### **4.3. Pré-tratamento das amostras**

As amostras foram trituradas com o auxílio de almofariz e pistilo, produzindo uma maior superfície de contato, promovendo assim, a maior homogeneidade da amostra [SANTOS et al., 2008]. Vale ressaltar que os grãos de rações foram triturados aleatoriamente, independentes de coloração e formato geométrico. A determinação da umidade foi realizada por análise gravimétrica após procedimento de liofilização de 1,0 g de amostra. A percentagem de massa foi calculada pela diferença de massa após liofilização da amostra (análise gravimétrica).

#### 4.3.1. Digestão assistida por micro-ondas

Alíquotas de 0,25g de amostra, previamente trituradas foram colocadas em tubos de politetrafluoretileno (PTFE). Em seguida, foram adicionados 1,4 mL de HNO<sub>3</sub> 65% (MERCK) e 2,0 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30% (MERCK), deixando agir durante 30 minutos em sistema aberto. Após esse intervalo de tempo, os tubos foram fechados e levados ao forno de micro-ondas, conforme a Tabela 2, para que houvesse a digestão completa do material em estudo.

**Tabela 2.** Programa de aquecimento em forno de micro-ondas.

| Etapa | Potência (W) | Tempo (min) | Temperatura (°C) | Rampa (min) |
|-------|--------------|-------------|------------------|-------------|
| 1     | 400          | 5           | 180              | 15          |
| 2     | 800          | 5           | 180              | 5           |

A digestão ácida das amostras de ração animal foi realizada em um forno de micro-ondas Mars X Press (Technology Inside, modelo CEM 3100, EUA). Este equipamento tem capacidade para 40 frascos de PTFE (politetrafluoretileno) com sistema de monitoramento de pressão e temperatura para os frascos durante a aplicação do programa de aquecimento. A total digestão das amostras de rações foram realizadas utilizando 18 frascos por vez.

É importante ressaltar que todo procedimento de digestão foi realizado em triplicata, inclusive a digestão dos materiais de referência certificados e os brancos das amostras para controle dos reagentes.

#### 4.4. Materiais de referência certificados

Os materiais de referência certificados foram adquiridos do National Institute of Standards & Technology (NIST) e do National Research Council Canada (NRCC). Foram utilizados cinco materiais de referência para avaliar a qualidade dos resultados: tecido de ostra (NIST 1566b), folha de pessegueiro (NIST 1547), farinha de trigo (NIST 1567a) e fígado bovino (NIST 1577) do National Institute of Standards & Technology, e proteína de peixe (DORM-3) do National Research Council Canada. Por apresentarem composição semelhante aos ingredientes utilizados na produção das ração, uma vez que não dispunha de MRC para rações de cães e gatos.

#### **4.5. Reagentes e soluções padrão**

Os reagentes utilizados foram de grau analítico e as soluções foram preparadas usando água ultrapura (18.2 MΩ cm resistividade) obtida a partir de um sistema de purificação Milli-Q (Millipore, USA). O ácido nítrico e o peróxido de hidrogênio foram de qualidade suprapura (Merck, USA). As soluções para a calibração externa instrumental foram preparadas a partir de soluções padrão multielementar Specsol<sup>®</sup> em concentrações de 100 mg.L<sup>-1</sup> (para Ag, Al, B, Ca, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, P, Pb, Si, Sn, Sr, Ti, V e Zn) até 1000 mg.L<sup>-1</sup> para os elementos presentes em elevadas concentrações nas amostras (C, Ca, K, Mg, Al, Fe, Na, P e S).

#### **4.6. Análise dos dados**

As determinações foram realizadas em triplicata e os dados estão apresentados como média ± desvio padrão. As técnicas multivariadas análise de componentes principais (PCA) e análise de agrupamento hierárquico (HCA) foram executadas em dados previamente auto escalonados, uma vez que existe grande variação das respostas das diversas variáveis. A análise dos dados do planejamento fatorial, PCA e HCA foram executadas no software Statistica 8.0<sup>®</sup>.

#### **4.7. Condições instrumentais de análise**

Para determinação da concentração dos constituintes das rações foi utilizado um espectrômetro de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) com configuração axial modelo ES-720 (Varian, Mulgrave, Austrália). O equipamento encontra-se instalado no Instituto Tecnológico e de Pesquisas do Estado de Sergipe (ITPS), que fica localizado na Rua Campo do Brito, 371, em Aracaju/SE. O gás utilizado para formação do plasma foi o argônio (99,9999%, White Martins, São Paulo/SP). A Tabela 3 apresenta as condições operacionais do espectrômetro.

**Tabela 3.** Características e condições operacionais utilizadas no ICP OES com vista axial.

| Parâmetros                                      | Valor Experimental           |                  |
|-------------------------------------------------|------------------------------|------------------|
| Potência de radiofrequência (W)                 | 1200                         |                  |
| Vazão de gás no plasma (L.min <sup>-1</sup> )   | 15,0                         |                  |
| Vazão de gás auxiliar (L.min <sup>-1</sup> )    | 1,5                          |                  |
| Vazão do gás nebulizador (L.min <sup>-1</sup> ) | 1,0                          |                  |
| Tipo de nebulizador                             | Concêntrico (tipo Sea Spray) |                  |
| Câmara de nebulização                           | Tipo ciclônica               |                  |
| Replicatas                                      | 3                            |                  |
| Diâmetro do tubo injetor (mm)                   | 2,4                          |                  |
| Tempo do sinal de integração (s)                | 1,0                          |                  |
| Comprimentos de onda (nm)                       | Ca I (373,690)               | Cr II (267, 716) |
|                                                 | C I (193,027)                | Mo II (202,030)  |
|                                                 | Al I (309,271)               | Ni II (231,604)  |
|                                                 | Mg I (285,213)               | Sr II (407,771)  |
|                                                 | Zn I (213,856)               | Hg II (194,164)  |
|                                                 | Cu I (324,754)               | Pb II ( 220,353) |
|                                                 | K I (766,491)                | Ba II (233,527)  |
|                                                 | Cd I (226,502)               | Fe II (238,204)  |
|                                                 | P I (178,222)                | Mn II (260,569)  |
|                                                 | S I (181,972)                | Co II (230,786)  |
|                                                 | V I (311,837)                |                  |

(I) – linha atômica

(II) – linha iônica

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Otimização do processo de digestão de amostra

Foi usada uma amostra comercial de ração de cão para realizar a otimização do método analítico para digestão da amostra. Para o preparo das amostras de ração para cães e gatos foi realizado um planejamento fatorial em dois níveis ( $2^k$ ). Visando minimizar a utilização de reagentes, concomitante a utilização de ácido diluído, que tem se apresentado como uma alternativa eficiente na decomposição de matéria orgânica conforme Castro et al. (2009).

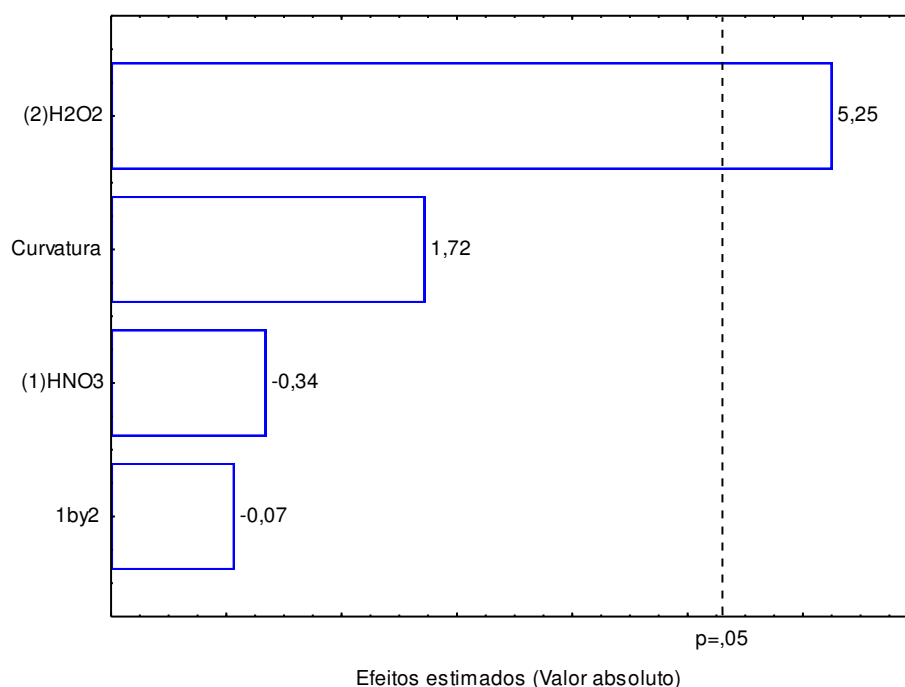
A Tabela 4 mostra as combinações utilizadas através da matriz de planejamento, com as duas variáveis,  $\text{HNO}_3$  e  $\text{H}_2\text{O}_2$  diluídos, tendo como resposta a eficiência na decomposição de matéria orgânica (EDMO). Sendo assim, a eficiência do processo de digestão está relacionada à EDMO, já que este parâmetro pode ser utilizado para misturas homogêneas ou quando houver apenas silicatos como resíduos após a digestão. Os valores de EDMO foram calculados pela diferença entre carbono total (CT) e residual (CR), dividida por CT, isso multiplicado por 100 [CASTRO et al., 2009], como mostra a Equação 1. Foi considerada a massa total de amostra como a quantidade de carbono total (CT), ou seja, a massa igual a 0,25 g. O carbono residual foi determinado nas soluções dos experimentos do planejamento por ICP OES usando a linha de emissão do carbono em 193,027 nm. Os experimentos foram realizados de forma aleatória.

$$EDMO = \left( \frac{CT - CR}{CT} \right) \times 100 \quad \text{Equação 1}$$

**Tabela 4.** Matriz do planejamento fatorial  $2^2$  completo com 3 pontos centrais

| Medidas  | Níveis Codificados |                               | Valores Reais                           |                                   | EDMO (%) |
|----------|--------------------|-------------------------------|-----------------------------------------|-----------------------------------|----------|
|          | HNO <sub>3</sub>   | H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | HNO <sub>3</sub> (mol.L <sup>-1</sup> ) | H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (%) |          |
| <b>1</b> | -1                 | -1                            | 2,0                                     | 3,0                               | 84,4     |
| <b>2</b> | +1                 | -1                            | 5,0                                     | 3,0                               | 84,2     |
| <b>3</b> | -1                 | +1                            | 2,0                                     | 6,0                               | 87,6     |
| <b>4</b> | +1                 | +1                            | 5,0                                     | 6,0                               | 87,4     |
| <b>5</b> | 0                  | 0                             | 3,5                                     | 4,5                               | 87,3     |
| <b>6</b> | 0                  | 0                             | 3,5                                     | 4,5                               | 86,6     |
| <b>7</b> | 0                  | 0                             | 3,5                                     | 4,5                               | 86,1     |

Os ensaios foram realizados com o objetivo de investigar quais fatores (variáveis) influenciavam no processo de digestão. Logo, é possível analisar tais respostas no gráfico de Pareto (Figura 2) calculado em função das concentrações de HNO<sub>3</sub> e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> diluídos, onde a magnitude dos efeitos é representada pelas colunas enquanto que a linha transversal às colunas representa a magnitude dos efeitos com significado estatístico para  $p=0,05$ , ou seja, os fatores que são estatisticamente significativos ao nível de 95% de confiança.

**Figura 2.** Gráfico de Pareto para o planejamento fatorial  $2^2$  com três pontos centrais

O gráfico de Pareto sugere que a concentração de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> foi uma variável significativa, sendo que direcionada para uma maior proporção. Já a concentração de HNO<sub>3</sub> mostrou-se como uma variável não significativa. A combinação das duas variáveis mostrou-se também não significativa com tendência a uma menor proporção das concentrações. Foi observado um valor não significativo para avaliação da estimativa da curvatura, isto é, indicativo de ausência de curvatura para o modelo linear.

A Tabela 4 indica que o percentual para eficiência não diverge entre os experimentos propostos. Desta forma, visando a obtenção de uma melhor resposta quanto ao processo de digestão, e, conseqüentemente, à detecção dos analitos, o experimento 3 será a utilizada para a digestão das amostras. Essa escolha é enfatizada devido ao menor concentração de HNO<sub>3</sub>, proporcionando assim uma menor acidez residual, e também por demonstrar maior porcentagem para a EDMO, 87,6% m/m.

As amostras apresentaram valores para acidez residual foi de aproximadamente 2,0 mol.L<sup>-1</sup> para todos os pontos do planejamento fatorial. É importante lembrar que esse valor expressa uma acidez elevada, contudo a diluição das amostras levaria a perda da sensibilidade na determinação dos analitos, pois alguns deles se encontram em concentrações em nível ultratraço, dificultando sua detecção.

## 5.2. Otimização das condições operacionais do ICP OES

Como descrito anteriormente (seção 3.5.) o ICP OES depende do ajuste de parâmetros, como por exemplo: potência de radiofrequência (RF) e vazão do gás de arraste de nebulização da amostra, que precisam ser otimizados para garantir uma maior precisão e robustez do plasma na detecção dos analitos. Esta otimização foi realizada pelo planejamento fatorial apresentado na Tabela 5, na qual os valores da razão de intensidade [Mg II(280,265nm)/Mg I(285,213nm)] foram usados como resposta do planejamento [MERMET, 1991], por ser um parâmetro utilizada para aferir a robustez do método, tendo como variáveis dependentes a potência de RF e a vazão do gás de arraste da nebulização da amostra.

Para realizar os cálculos da razão Mg II/Mg I foram preparadas duas soluções contendo magnésio. A primeira solução foi preparada com uma amostra de ração comercial para cães, na qual a concentração de magnésio foi de 10 mg.L<sup>-1</sup>. A segunda foi uma solução padrão preparada na concentração de 10 mg.L<sup>-1</sup> de magnésio, sendo acrescentada 0,2 mg.L<sup>-1</sup> de Ag, Al, B, Co, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb, Si, Sn, Sr, Ti, V, Zn, As, Mo, Li, Cd, Ba, Hg e 2 mg.L<sup>-1</sup> de Ca, Fe, K, Mg e P para simular as condições da amostra digerida de ração de cão (solução multielementar).

Na Tabela 5 estão apresentados a matriz de planejamento com os valores codificados, valores reais e as razões Mg II/Mg I. As replicatas dos pontos centrais foram usadas para estimar o erro experimental. Os experimentos foram realizados em ordem aleatória. A avaliação final foi feita usando resposta múltipla da função, a fim de obter uma condição simultânea para a razão Mg II/Mg I na solução padrão e na amostra de ração comercial para cães digerida. O cálculo da resposta múltipla foi feito utilizando a equação 2:

$$Resposta\ Global = \frac{(Razão\ Mg\ II / Mg\ I)\ solução\ padrão}{10,84} + \frac{(Razão\ Mg\ II / Mg\ I)\ solução\ digerida}{11,19} \quad \text{Equação 2}$$

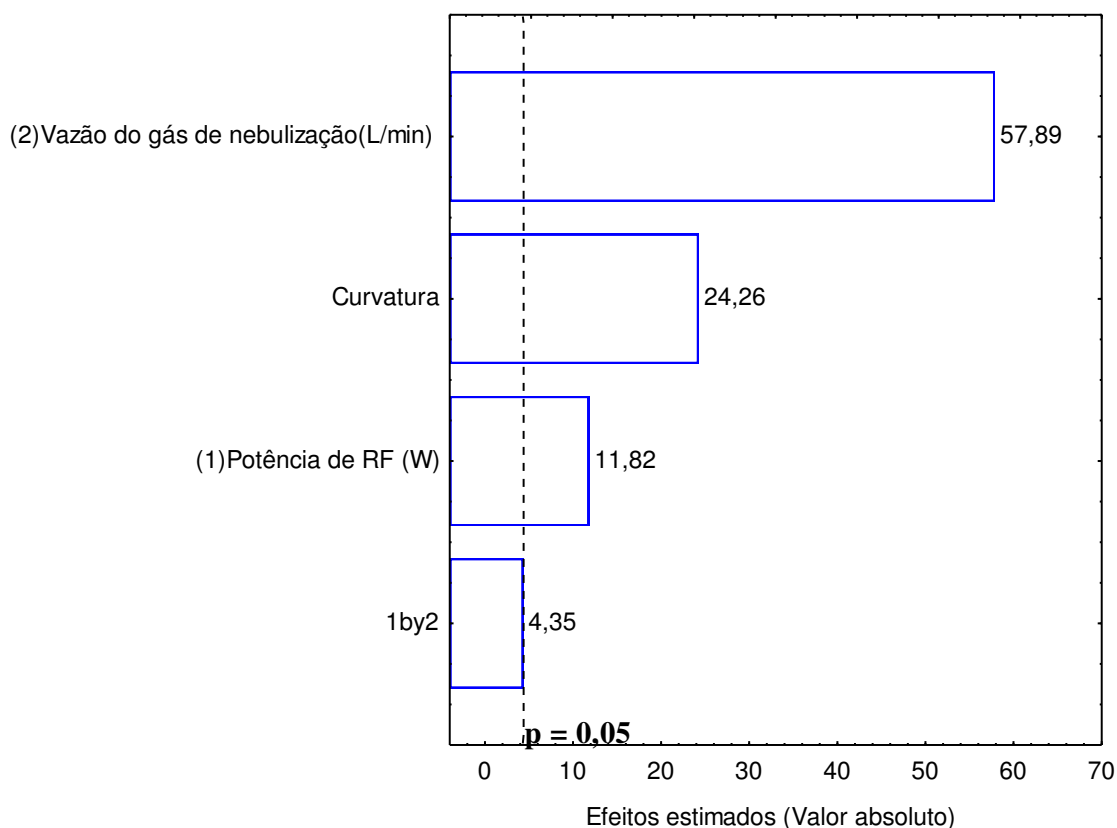
em que a razão MgII/Mg I é o cálculo da condição de robustez do plasma [FERREIRA et al., 2007; SANTELLI et al., 2012]; os valores 10,84 e 11,19 foram as razões Mg II/Mg I máximas encontradas para a solução padrão e a solução digerida, respectivamente, durante o planejamento experimental.

**Tabela 5.** Matriz de planejamento fatorial  $2^2$  com três pontos centrais para otimização das condições operacionais do ICP OES.

| Experimentos | Níveis Codificados |                                                    | Valores Reais      |                                                    |                             |                            |                 |
|--------------|--------------------|----------------------------------------------------|--------------------|----------------------------------------------------|-----------------------------|----------------------------|-----------------|
|              | Potência de RF (W) | Vazão do gás de nebulização (L.min <sup>-1</sup> ) | Potência de RF (W) | Vazão do gás de nebulização (L.min <sup>-1</sup> ) | Razão Mg II / Mg I (padrão) | Razão MgII / MgI (amostra) | Resposta Global |
| 1            | -1                 | -1                                                 | 1000               | 0,6                                                | 1,63                        | 1,52                       | 0,29            |
| 2            | +1                 | -1                                                 | 1400               | 0,6                                                | 2,66                        | 2,51                       | 0,47            |
| 3            | -1                 | +1                                                 | 1000               | 1,0                                                | 8,72                        | 8,93                       | 1,60            |
| 4            | +1                 | +1                                                 | 1400               | 1,0                                                | 10,84                       | 11,19                      | 2,00            |
| 5            | 0                  | 0                                                  | 1200               | 0,8                                                | 8,95                        | 8,28                       | 1,57            |
| 6            | 0                  | 0                                                  | 1200               | 0,8                                                | 8,54                        | 8,17                       | 1,52            |
| 7            | 0                  | 0                                                  | 1200               | 0,8                                                | 8,98                        | 8,1                        | 1,55            |

O número de experimentos necessários para otimização é menor quando comparado à abordagem univariada. Outra vantagem do planejamento multivariado é a possibilidade de avaliar as interações entre as variáveis experimentais como pode ser visto pelo gráfico de Pareto, conforme Figura 4.

**Figura 3.** Gráfico de Pareto para potência de RF e vazão do gás de arraste de nebulização da amostra.



Analisando o gráfico de Pareto (Figura 4), é possível verificar que a vazão do gás de nebulização da amostra é um parâmetro mais importante em relação a potência de RF aplicada para condições robustas de operação. Tendo um valor 4,9 vezes maior que a potencia de RF. Este resultado é corroborado por Mermet (1991), que informa que a vazão do gás de nebulização e o diâmetro interno do tubo central da tocha são os parâmetros mais críticos que afetam as condições do plasma robusto [MERMET, 1991]. O efeito positivo para a interação entre as duas variáveis também foi significativa para nível de 95% de confiança, mostrando que ambas variáveis aumentam diretamente proporcionais.

A partir do planejamento fatorial  $2^2$  com três pontos centrais e usando o cálculo da razão Mg II/Mg I com resposta para avaliar os efeitos principais e de interações, é possível verificar que condições robustas do plasma [Razão (Mg II/Mg I) > 8] foram obtidas sob elevada potência de RF e alta vazão do gás de nebulização do planejamento experimental, sendo influenciada pela quantidade de aerossol que atinge o plasma [MERMET, 1991].

As replicatas dos pontos centrais foram usadas para estimar o erro experimental, sendo os experimentos realizados em ordem aleatória. A avaliação final foi feita usando a resposta

múltipla da função, a fim de obter uma condição simultânea para razão Mg II/Mg I na solução padrão e na amostra digerida [NETO et al., 2003].

### **5.3. Uso da metodologia de superfície de resposta para otimização das condições de operação do ICP OES**

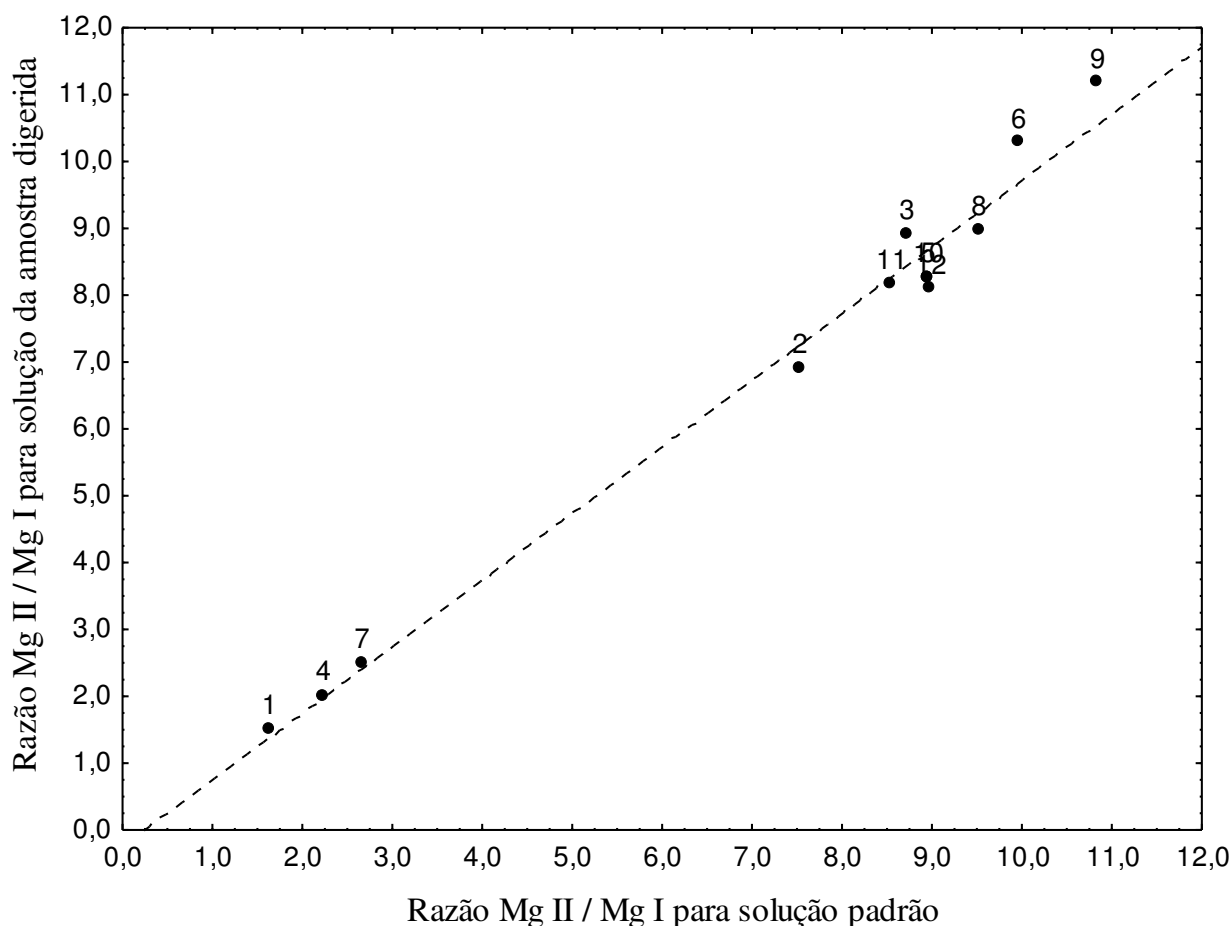
Com o intuito de otimizar o uso de materiais para realização do procedimento analítico e visando a durabilidade do equipamento, optou-se pela realização da otimização das condições operacionais do ICP OES utilizando um planejamento fatorial  $3^2$  com duas variáveis. Tornando possível investigar se há ou não falta de ajuste para um modelo (linear ou quadrático) [LOPES et al., 2009], o que não seria possível para um planejamento em apenas três níveis com um número reduzido de experimentos. De acordo com a Tabela 6, a matriz de planejamento fatorial  $3^2$  com duas variáveis totalizou 12 experimentos, considerando os três pontos centrais adicionados para estimar o erro experimental. Foram investigadas as influências da potência de RF e da vazão do gás de nebulização sobre a resposta do experimento que foi relacionada à razão Mg II/Mg I. Na Tabela 6 está apresentada a matriz de planejamento com os valores codificados, valores reais e as razões Mg II/Mg I para a solução aquosa e a solução com amostra digerida [FERREIRA et al., 2008].

**Tabela 6.** Matriz de planejamento fatorial  $3^2$  com duas variáveis e com três pontos centrais.

| Medidas   | Níveis Codificados |                                                    | Valores Reais      |                                                    |                             |                              | Resposta Global |
|-----------|--------------------|----------------------------------------------------|--------------------|----------------------------------------------------|-----------------------------|------------------------------|-----------------|
|           | Potência de RF (W) | Vazão do gás de nebulização (L.min <sup>-1</sup> ) | Potência de RF (W) | Vazão do gás de nebulização (L.min <sup>-1</sup> ) | Razão Mg II / Mg I (padrão) | Razão Mg II / Mg I (amostra) |                 |
| <b>1</b>  | -1                 | -1                                                 | 1000               | 0,6                                                | 1,63                        | 1,52                         | 0,29            |
| <b>2</b>  | -1                 | 0                                                  | 1000               | 0,8                                                | 7,53                        | 6,92                         | 1,31            |
| <b>3</b>  | -1                 | +1                                                 | 1000               | 1,0                                                | 8,72                        | 8,93                         | 1,60            |
| <b>4</b>  | 0                  | -1                                                 | 1200               | 0,6                                                | 2,23                        | 2,02                         | 0,39            |
| <b>5</b>  | 0                  | 0                                                  | 1200               | 0,8                                                | 8,95                        | 8,28                         | 1,57            |
| <b>6</b>  | 0                  | +1                                                 | 1200               | 1,0                                                | 9,96                        | 10,29                        | 1,84            |
| <b>7</b>  | +1                 | -1                                                 | 1400               | 0,6                                                | 2,66                        | 2,51                         | 0,47            |
| <b>8</b>  | +1                 | 0                                                  | 1400               | 0,8                                                | 9,52                        | 8,98                         | 1,68            |
| <b>9</b>  | +1                 | +1                                                 | 1400               | 1,0                                                | 10,84                       | 11,19                        | 2,00            |
| <b>10</b> | 0                  | 0                                                  | 1200               | 0,8                                                | 8,95                        | 8,28                         | 1,57            |
| <b>11</b> | 0                  | 0                                                  | 1200               | 0,8                                                | 8,54                        | 8,17                         | 1,52            |
| <b>12</b> | 0                  | 0                                                  | 1200               | 0,8                                                | 8,98                        | 8,10                         | 1,55            |

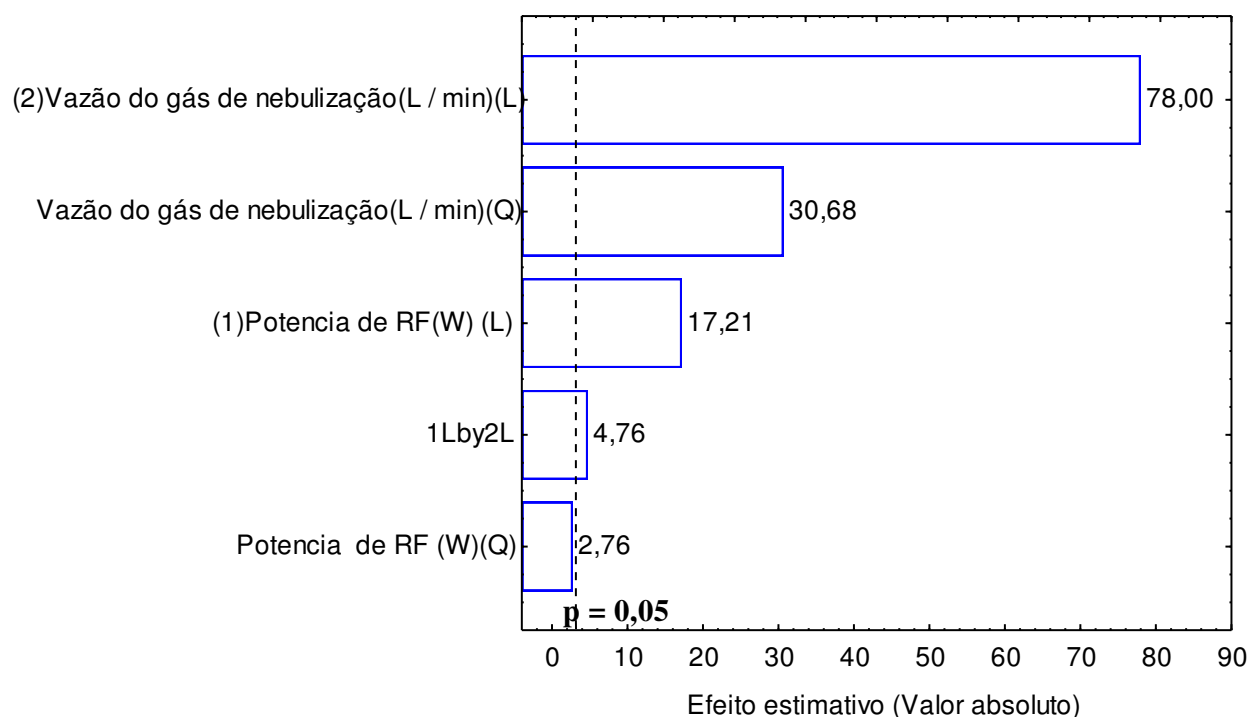
Na Figura 5 mostra a análise de regressão linear entre as razões das intensidades de emissões do Mg II / Mg I encontradas na solução padrão e as razões das intensidades de emissões do Mg II / Mg I da solução da amostra digerida, obtendo um valor de inclinação da reta e coeficiente de correlação próximos dos valores ideais ( $a=r=1,0$ ) e o intercepto da reta próximo a zero ( $b=0$ ). Estas condições mostram que as razões Mg II / Mg I em ambas soluções comportam-se de forma semelhante quando são submetidas as variações de potência de RF e a vazão do gás de nebulização, confirmando a falta de efeito de matriz, sendo um bom indicativo para exatidão e precisão dos dados obtidos.

**Figura 4.** Análise de regressão linear para as razões das intensidades de emissões do Mg II / Mg I encontradas a partir da matriz de planejamento e a análise da solução padrão e na solução da amostra digerida



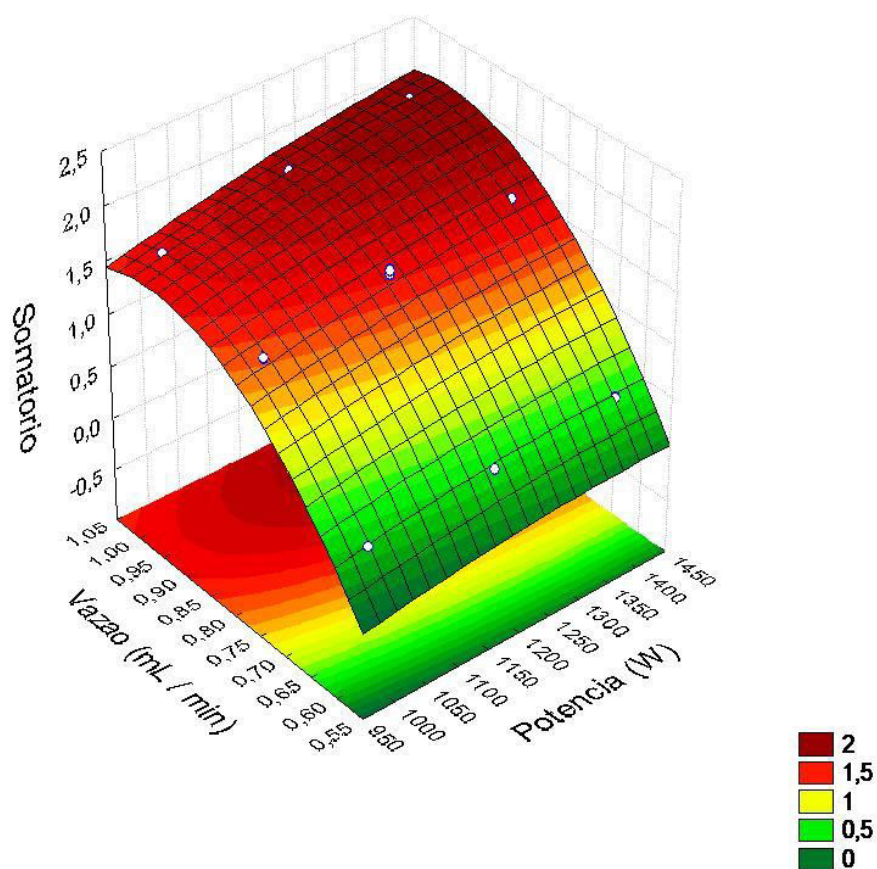
Para possibilitar a comparação entre os fatores, e para proporcionar melhor visualização, o gráfico de Pareto está apresentado na Figura 6. Neste gráfico, é possível verificar que a vazão do gás de nebulização da amostra foi significativa para ambos os modelos, linear e quadrático, enquanto que a potência de RF foi significativa apenas para o modelo linear e a interação entre elas (potência de RF e vazão do gás de nebulização da amostra) também apresentou significância para o nível de confiança de 95%.

É plausível mencionar que a utilização de baixa vazão do gás de nebulização da amostra reflete em respostas globais baixas, sugerindo que em baixa vazão a amostra não consegue alcançar o sistema de detecção. E quando esta utilizada concomitante a baixa potência de RF, os resultados obtidos tendem a ser mais baixos ainda.

**Figura 5.** Gráfico de Pareto para planejamento  $3^2$  com duas variáveis.

Logo, os resultados apresentados no gráfico de Pareto podem ser expressos como uma superfície de resposta gerada por uma função matemática conforme mostra a Figura 7. O aumento da vazão do gás de nebulização da amostra é proporcional ao aumento da potência de RF para o aumento da condição robusta do plasma (razão  $Mg\ II/Mg\ I > 8$ ), sendo 4,5 vezes maior em proporção para o modelo linear. Por outro lado, é válido ressaltar que a utilização do equipamento com valores elevados de potência de RF acelera o desgaste do sistema, além de exigir o uso de vazões elevadas do argônio para resfriar o sistema, tornando o custo do experimento bastante alto.

Sendo assim, visando um melhor aproveitamento do equipamento e a minimização dos custos das análises, sem que haja perda de potencial analítico, o presente trabalho propõe a utilização da vazão de gás de nebulização de  $1,0\ L \cdot min^{-1}$  e uma potência de RF de 1,2 kW.

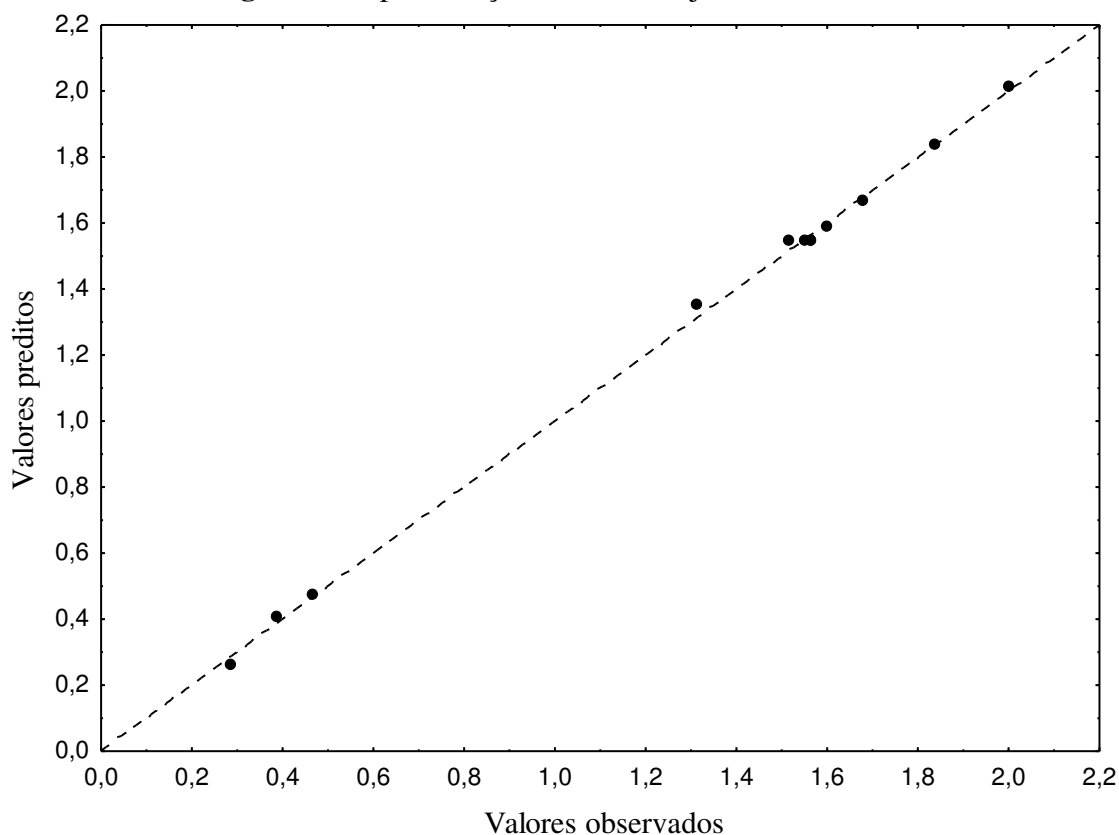
**Figura 6.** Superfície de Resposta do Planejamento  $3^2$  com duas variáveis.

Para a avaliação numérica da qualidade de ajuste dos modelos desenvolvidos, foi utilizada a Análise de Variância (ANOVA) conforme a Tabela 7, tornando possível a determinação de quais efeitos eram estatisticamente significativos, além de permitir a avaliação da significância estatística da regressão e da qualidade do ajuste do modelo, no nível de confiança escolhido.

**Tabela 7.** Resultados da ANOVA.

| <b>Fator</b>                                      | <b>Soma dos Quadrados</b> | <b>Graus de Liberdade</b> | <b>Média dos Quadrados</b> | <b>Valor - F</b> | <b>Valor - p</b> |
|---------------------------------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|------------------|------------------|
| (1)Potência de RF (W)(L)                          | $1,5 \cdot 10^{-1}$       | 1                         | $1,5 \cdot 10^{-1}$        | $3 \cdot 10^2$   | 0,0004           |
| Potência de RF (W)(Q)                             | $3,9 \cdot 10^{-3}$       | 1                         | $3,9 \cdot 10^{-3}$        | 7,6              | 0,0699           |
| (2)Vazão de nebulização (L min <sup>-1</sup> )(L) | $3,1 \cdot 10^1$          | 1                         | $3,1 \cdot 10^1$           | $6,1 \cdot 10^3$ | 0,000005         |
| Vazão de nebulização (L min <sup>-1</sup> )(Q)    | $4,8 \cdot 10^{-1}$       | 1                         | $4,8 \cdot 10^{-1}$        | $9,4 \cdot 10^2$ | 0,0001           |
| Interação (1L x 2L)                               | $1,1 \cdot 10^{-2}$       | 1                         | $1,1 \cdot 10^{-2}$        | $2,3 \cdot 10^1$ | 0,0176           |
| Falta de Ajuste                                   | $2,9 \cdot 10^{-3}$       | 3                         | $9,6 \cdot 10^{-4}$        | 1,9              | 0,3051           |
| Erro Puro                                         | $1,5 \cdot 10^{-3}$       | 3                         | $5,1 \cdot 10^{-4}$        |                  |                  |
| Total SS                                          | $3,8 \cdot 10^1$          | 11                        |                            |                  |                  |

O modelo quadrático foi significativo ( $F_{\text{calculado};2,9} = 24,58$ ;  $F_{\text{tabelado};2,9} = 4,26$ ; p-valor =  $2,26 \cdot 10^{-4}$ ). Observando-se o p-valor para o parâmetro falta de ajuste (0,3051), percebe-se que este foi maior que 0,05, sugerindo que modelo não apresenta falta de ajuste usando a função da multipla resposta, ou seja, não é significativa para nível de confiança de 95%. Nesse sentido, a verificação e comparação da influência das variáveis, potência de RF aplicada e vazão do gás de nebulização, podem ser observadas na Figura 8, na qual os valores preditos, representados pela reta, estão praticamente alinhados aos valores observados, representados pelos pontos, evidenciando uma boa adequação do modelo ( $r=0,999$ ), ou seja, não apresenta erros sistemáticos ou falta de ajuste em relação aos valores experimentais em função dos valores preditos.

**Figura 7.** Representação Linear de Ajuste do Modelo.

Desse modo, o modelo empírico é representado pelos valores a serem aplicados, organizados na Tabela 8.

**Tabela 8.** Efeitos estimados do planejamento fatorial  $3^2$  com duas variáveis.

| Parâmetros                                                     | Efeito            | Erro Puro     | t (n=3)           | p                    |
|----------------------------------------------------------------|-------------------|---------------|-------------------|----------------------|
| <b>Média / Interação</b>                                       | $1,238 \pm 0,022$ | $7.10^{-3}$   | $1,8 \times 10^2$ | $1 \times 10^{-7}$   |
| <b>(1)Potência de RF (W)(L)</b>                                | $0,316 \pm 0,057$ | $1,8.10^{-2}$ | $1,7 \times 10^1$ | $4,3 \times 10^{-4}$ |
| <b>Potência de RF (W)(Q)</b>                                   | $0,038 \pm 0,044$ | $1,4.10^{-2}$ | $2,8 \times 10^0$ | $7 \times 10^{-2}$   |
| <b>(2) Vazão do gás de nebulização (L min<sup>-1</sup>)(L)</b> | $1,433 \pm 0,057$ | $1,8.10^{-2}$ | $7,8 \times 10^1$ | $1 \times 10^{-7}$   |
| <b>Vazão do gás de nebulização (L min<sup>-1</sup>)(Q)</b>     | $0,423 \pm 0,044$ | $1,4.10^{-2}$ | $3,1 \times 10^1$ | $8 \times 10^{-5}$   |
| <b>Interação (1L e 2L)</b>                                     | $0,107 \pm 0,073$ | $2,3.10^{-2}$ | $4,8 \times 10^0$ | $1,8 \times 10^{-2}$ |

Observando as informações da Tabela 8, é possível afirmar que o modelo apresentado é adequado ao método proposto, em que os valores estabelecidos para potência de RF e vazão

do gás de nebulização da amostra foram adotados visualmente com base nos dados obtidos experimentalmente (Figura 7 e Tabela 6), considerando-se 1,2 kW e 1,0 L.min<sup>-1</sup>, respectivamente, como condição de compromisso para análise das amostras de rações de cães e gatos por ICP OES.

#### 5.4. Validação analítica

##### 5.4.1. Limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ)

Um conjunto de parâmetros pode ser usado para caracterizar um método analítico, entre eles, limite de detecção, limite de quantificação, precisão e exatidão.

O limite de detecção (LD) é definido como a menor quantidade do analito presente em uma amostra que pode ser detectado, porém não necessariamente quantificado, sob as condições experimentais estabelecidas [SKOOG et al., 2002]. Para o cálculo do LD em ICP OES, deve-se considerar o conceito de concentração equivalente ao sinal de fundo (BEC), que é a concentração do analito que produz sinal equivalente à intensidade de emissão do fundo na linha medida. Dessa maneira, o cálculo de LD mostra mais claramente qualquer mudança nas condições operacionais [NAOZUKA et al., 2011; MONTASER & GOLIGHTLY, 1992; SILVA et al., 2002]. É possível calcular LD a partir das Equações 3, 4 e 5:

$$BEC = \frac{C_{sr}}{SBR} \quad \text{Equação 3}$$

$$SBR = \frac{I_{sr} - I_{branco}}{I_{branco}} \quad \text{Equação 4}$$

$$LD = \frac{3 \times BEC \times RSD}{100} \quad \text{Equação 5}$$

em que, C<sub>sr</sub> é a concentração do elemento na solução multielementar; SBR é a razão sinal analítico / sinal de fundo; I<sub>sr</sub> é a intensidade de emissão da solução de referência e I<sub>branco</sub> é a intensidade de emissão da solução do branco analítico, e RSD é o desvio padrão relativo para 10 medidas das intensidades da solução do branco analítico.

O limite de quantificação (LQ) é a menor quantidade do analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis sob as condições experimentais estabelecidas. O LQ pode ser expresso como sendo 3,3 vezes o limite de detecção. O valor de LQ deve ser o primeiro ponto da curva de calibração, teoricamente [SILVA et al., 2002]. Na Tabela 9 estão apresentados os valores de BEC, LD e LQ para determinação de elementos em amostras de rações de cães e gatos por ICP OES, provenientes da digestão assistida por micro-ondas.

A utilização do cálculo de LD e LQ a partir do BEC e do SBR permite a obtenção de valores mais representativos da detectabilidade do método de análise. Observando-se a Tabela 9, percebe-se que os LD tiveram ampla variação, porém vale ressaltar que os valores obtidos estão aproximados daqueles descritos na literatura [BOSS & FREEDEN, 1997; CASTRO et al., 2009; NAOZUKA et al., 2011]. No entanto, estes valores são dependentes das condições experimentais aplicadas, tornando essa comparação puramente relativa.

Como a concentração dos íons nas soluções é maior do que os LQs calculados, os micro e macro constituintes, apresentados na Tabela 9, nos materiais de referência certificados de fígado bovino, proteínas de peixe, tecidos de ostra, folhas de pessegueiro e farinha de trigo puderam ser determinados com confiabilidade por ICP OES [NAOZUKA et al., 2011, SANTOS et al., 2011<sup>b</sup>].

**Tabela 9.** Valores para BEC, LD e LQ para análise de amostras de rações de cães e gatos por ICP OES.

|                                     | <b>Ca</b> | <b>P</b> | <b>S</b> | <b>Zn</b> | <b>Ni</b> | <b>Ba</b> | <b>K</b> | <b>Sr</b> | <b>Mn</b> | <b>Mg</b> | <b>Al</b> | <b>Cd</b> | <b>Co</b> | <b>Cr</b> | <b>Cu</b> | <b>Fe</b> | <b>V</b> |
|-------------------------------------|-----------|----------|----------|-----------|-----------|-----------|----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|----------|
| <b>BEC</b><br>(mg.L <sup>-1</sup> ) | 0,372     | 0,157    | 0,303    | 0,017     | 0,017     | 0,001     | 0,092    | 0,0004    | 0,001     | 0,011     | 0,543     | 0,002     | 0,002     | 0,001     | 0,009     | 0,001     | 0,002    |
| <b>LD</b><br>(µg.g <sup>-1</sup> )  | 26        | 9        | 6        | 0,61      | 0,17      | 0,023     | 0,83     | 0,026     | 0,084     | 0,54      | 2,0       | 0,037     | 0,11      | 0,026     | 0,082     | 0,26      | 0,064    |
| <b>LQ</b><br>(µg.g <sup>-1</sup> )  | 87        | 31       | 18       | 2,0       | 0,56      | 0,075     | 2,7      | 0,086     | 0,28      | 1,8       | 7         | 0,12      | 0,38      | 0,084     | 0,27      | 0,87      | 0,21     |

**Nota:** Foram utilizadas 0,25 g de amostra para determinação destes parâmetros.

#### 5.4.2. Precisão e exatidão

A precisão é a avaliação da repetitividade do método e pode ser determinada pelo desvio padrão relativo (%RSD) [INMETRO, 2003; ANVISA, 2003] de um conjunto de medidas. O cálculo para obtenção da precisão pode ser realizado segundo a Equação 6:

$$\%RSD = (s/média\ das\ medidas) \times 100 \quad \text{Equação 6}$$

A exatidão é a aproximação entre o valor medido experimentalmente e o valor convencionalmente verdadeiro. Os processos normalmente utilizados para avaliar a exatidão de um método são: uso de materiais de referência certificados, participação em comparações interlaboratoriais e ensaios de adição e recuperação do analito. Neste trabalho foram utilizados cinco materiais de referência certificados (MRC): proteína de peixe (DORM-3), folha de pêssgo (NIST 1547), farinha de trigo (NIST 1567a), tecido de ostra (NIST 1566b) e fígado bovino (NIST 1577) para confirmar a exatidão do método analítico proposto [NAOZUKA et al., 2011; SILVA et al., 2002].

No qual foram determinadas partindo-se das condições otimizadas neste trabalho, isto é, considerando-se o preparo de amostra usando ácido nítrico 2,0 mol L<sup>-1</sup> e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 6% v/v e das condições operacionais estabelecidas do ICP OES potência de RF de 1,2 kW e vazão do gás de nebulização da amostra de 1,0 L min<sup>-1</sup>.

Os resultados podem ser observados na Tabela 10, a qual apresenta os valores certificados e o percentual de concordância dos resultados, que variaram entre 80±4 (Cr) e 117±5 (Cd). Com isso, é possível verificar que o método proposto mostrou-se exato, para determinação multielementar por ICP OES. A precisão que foi expressa pelos valores dos desvios padrão relativos foram menores do que 5%, exceto para Co (15%) e Ni (10%). Os valores de precisão baixos para estes elementos deve-se a baixa concentração deles nos MRC analisados. Logo, os valores obtidos indicam uma boa exatidão e precisão para o método proposto [BRITO et al., 2003].

**Tabela 10.** Valores certificados, valores encontrados e as concordâncias para a análises dos materiais de referência certificados por ICP OES.

| VALORES    |                | S             | Al        | Ca              | Cu        | K              | Mg             | Mn         | P             | Zn         | Sr        | Cd          | Co          | Fe         | Ni        | Ba    | Cr        | V         |
|------------|----------------|---------------|-----------|-----------------|-----------|----------------|----------------|------------|---------------|------------|-----------|-------------|-------------|------------|-----------|-------|-----------|-----------|
| NIST 1567a | Encontrado     | 0,168 ± 0,003 | 5,2 ± 1,4 | 0,0192 ± 0,0008 | 2,2 ± 0,1 | 0,126 ± 0,0005 | 0,037 ± 0,0004 | 8,8 ± 0,05 | 0,139 ± 0,005 | 11,0 ± 0,7 | ***       | ***         | ***         | ***        | ***       | ***   | ***       | ***       |
|            | Certificado    | 0,165 ± 0,002 | 5,7 ± 1,3 | 0,0191 ± 0,0004 | 2,1 ± 0,2 | 0,133 ± 0,003  | 0,040 ± 0,002  | 9,4 ± 0,9  | 0,134 ± 0,006 | 11,6 ± 0,4 | ***       | ***         | ***         | ***        | ***       | ***   | ***       | ***       |
|            | Concordância % | 102 ± 2       | 104 ± 24  | 100 ± 4         | 103 ± 4   | 95 ± 0,3       | 94 ± 1         | 94 ± 0,5   | 103 ± 4       | 95 ± 6     | ***       | ***         | ***         | ***        | ***       | ***   | ***       | ***       |
|            | Erro %         | 2             | -9        | 1               | 5         | -5             | -8             | -6         | 4             | -5         | ***       | ***         | ***         | ***        | ***       | ***   | ***       | ***       |
| NIST 1577  | Encontrado     | ***           | ***       | 104±17          | 188,3±3   | 0,93±0,02      | 607±6          | 10,4±0,16  | 1,1±0,02      | 137±2      | 0,13±0,01 | 0,31±0,01   | 0,18±0,03   | 267±2      | ***       | ***   | ***       | ***       |
|            | Certificado    | ***           | ***       | 124±6           | 193±10    | 0,97±0,06      | 604±9          | 10,3±1,0   | (1,1)         | 130±13     | (0,14)    | 0,27±0,04   | (0,18)      | 268±8      | ***       | ***   | ***       | ***       |
|            | Concordância % | ***           | ***       | 84 ± 14         | 98 ± 2    | 96 ± 2         | 101±1          | 101 ± 2    | 98±2          | 105±1      | 90±8      | 117±5       | 103±18,2    | 100±1      | ***       | ***   | ***       | ***       |
|            | Erro %         | ***           | ***       | -16             | -2        | -4             | 0              | -2         | 0             | 5          | -7        | 15          | 0           | 0          | ***       | ***   | ***       | ***       |
| NIST 1547  | Encontrado     | 0,2 ± 0,1     | 244±9     | 1,36±0,04       | 3,6±0,2   | 2,28±0,11      | 0,372±0,008    | 84±2       | 0,128±0,006   | 16,7±0,3   | 51±1      | ***         | ***         | 184±3      | 0,65±0,17 | 106±2 | ***       | 0,36±0,04 |
|            | Certificado    | (0,2)         | 249±8     | 1,56±0,02       | 3,7±0,4   | 2,43±0,03      | 0,432±0,008    | 98±3       | 0,137±0,007   | 17,9±0,4   | 53±4      | ***         | ***         | 218±14     | 0,69±0,09 | 124±4 | ***       | 0,37±0,03 |
|            | Concordância % | 84 ± 4        | 98±4      | 87±3            | 98±4      | 94±5           | 86 ± 2         | 86 ± 2     | 94±4          | 93±2       | 97±2      | ***         | ***         | 84±1       | 94±25     | 86±2  | ***       | 97±10     |
|            | Erro %         | 0             | -2        | -13             | -3        | -6             | -14            | -14        | -7            | -7         | -4        | ***         | ***         | -16        | -6        | -15   | ***       | -3        |
| DORM -3    | Encontrado     | ***           | 1872±98   | ***             | 15,9±1,18 | ***            | ***            | ***        | ***           | 51,3±3,7   | ***       | 0,247±0,043 | ***         | 322±29     | 1,07±0,11 | ***   | 1,52±0,07 | ***       |
|            | Certificado    | ***           | (1700)    | ***             | 15,5±0,63 | ***            | ***            | ***        | ***           | 51,3±3,1   | ***       | 0,290±0,020 | ***         | 347±20     | 1,28±0,24 | ***   | 1,89±0,17 | ***       |
|            | Concordância % | ***           | 110±6     | ***             | 102±8     | ***            | ***            | ***        | ***           | 100±7      | ***       | 85±15       | ***         | 93±8       | 84±8      | ***   | 80±4      | ***       |
|            | Erro %         | ***           | 10        | ***             | 3         | ***            | ***            | ***        | ***           | 0          | ***       | -15         | ***         | -7         | -16       | ***   | -20       | ***       |
| NIST 1566b | Encontrado     | 0,6137±0,0248 | ***       | 0,0791±0,0028   | 71,1±2,6  | 0,624±0,027    | 0,1024±0,0048  | 17,5±0,6   | ***           | 1458±61    | 6,4±0,4   | 2,46±0,09   | 0,364±0,056 | 187,9±11,2 | 0,94±0,15 | ***   | ***       | ***       |
|            | Certificado    | 0,6887±0,0140 | ***       | 0,0838±0,0020   | 71,6±1,6  | 0,652±0,009    | 0,1085±0,0023  | 18,5±0,2   | ***           | 1424±46    | 6,8±0,2   | 2,48±0,08   | 0,371±0,009 | 205,8±6,8  | 1,04±0,09 | ***   | ***       | ***       |
|            | Concordância % | 89±4          | ***       | 94±3            | 99±4      | 96±4           | 94±4           | 95±3       | ***           | 102±4      | 93±6      | 99±4        | 98±15       | 91±5       | 91±14     | ***   | ***       | ***       |
|            | Erro %         | -11           | ***       | -6              | -1        | -4             | -6             | -5         | ***           | 2          | -6        | -1          | -2          | -9         | -10       | ***   | ***       | ***       |

NIST 1567a – Material certificado de Farinha de Trigo; NBS 1577 – Material certificado de Folhas de Pessegueiro; NIST 1547 – Material certificado de Fígado Bovino.

DORM-3 – Material certificado de Proteínas de Peixe; NIST 1566b – Material certificado de Tecidos de Ostra.

( ) – Valores não certificados; Erro % = (encontrado – certificado) / certificado x 100 / Análise em triplicata (n=3); Concentração média ± intervalo de confiança (nível de 95%).

Considerando que as concordâncias para determinações quantitativas têm de apresentar erros menores que  $\pm 30\%$ , e para semi-quantitativas e qualitativas erros entre  $\pm 30\%$  e  $\pm 50\%$ , e maiores que  $50\%$ , respectivamente [SKOOG et al., 2002; AMARASIRIWARDENA et al., 1997], os valores obtidos para análise dos MRC por ICP OES evidenciam que as determinações dos elementos S, Al, Ca, Cu, K, Mg, Mn, P, Zn, Sr, Cd, Co, Fe, Ni, Ba, Cr e V nos materiais de referência certificados de [farinha de trigo (NIST 1567a), fígado bovino (NBS 1577), folha de pêssgo (NIST 1547), proteína de peixe (DORM-3) e tecido de ostra (NIST 1566b)] podem ser consideradas quantitativas, uma vez que os valores percentuais correspondentes aos erros não ultrapassaram  $\pm 20\%$  [NAOZUKA et al., 2011; CASTRO et al., 2009; SANTOS et al., 2005; ARAUJO et al., 2008].

### 5.5. Aplicação do método otimizado em rações comerciais para cães e gatos

O método otimizado foi aplicado em rações secas<sup>11</sup> destinadas a cães e gatos comercializadas nos seguintes municípios sergipanos: Aracaju, Itabaiana, Lagarto, Carira e Carmópolis. Foram analisadas 17 (dezesete) amostras de rações de gatos e 24 (vinte e quatro) amostras de rações de cães, totalizando 41 (quarenta e uma) amostras. As amostras coletadas podem diferir entre si quanto ao fabricante e ao sabor (composição).

As soluções foram analisadas por ICP OES e as concentrações dos elementos estão expressas em  $\text{mg kg}^{-1}$  e/ou  $\text{g kg}^{-1}$ , nas Tabelas 11 e 12, respectivamente para cães e gatos. Como as concentrações permitidas pela legislação são expressas em massa seca, os resultados das concentrações foram calculados igualmente em base seca, sendo obtido o valor de umidade da amostra obtida por análise gravimétrica. De acordo com o MAPA, o teor de umidade em ração seca para cães e gatos não deve ultrapassar  $12\%$  [MAPA, 2009]. Neste trabalho, os valores medidos estiveram entre  $6,0 \pm 0,1$  e  $10,0 \pm 0,7 \%$  para cães e entre  $7,1 \pm 0,1$  e  $15 \pm 3\%$  para gatos, sendo que a não conformidade foi verificada em 3 (três) amostras ração de gato, F2, F14 e F15.

---

<sup>11</sup> Umidade abaixo de  $12\%$ .

**Tabela 11:** Concentrações dos elementos Al, Ba, Ca, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Ni, P, S, Sr, V e Zn em amostras de ração de cão, por ICP OES.

| FABRICANTE                    | SABOR                   | UMIDADE<br>% | Al<br>mg Kg <sup>-1</sup> | Ba<br>mg Kg <sup>-1</sup> | Ca<br>g Kg <sup>-1</sup>              | Cr<br>mg Kg <sup>-1</sup> | Cu<br>mg Kg <sup>-1</sup> | Fe<br>mg Kg <sup>-1</sup> | K<br>g Kg <sup>-1</sup> | Mg<br>g Kg <sup>-1</sup> | Mn<br>mg Kg <sup>-1</sup> | Ni<br>mg Kg <sup>-1</sup> | P<br>g Kg <sup>-1</sup>              | S<br>g Kg <sup>-1</sup> | Sr<br>mg Kg <sup>-1</sup> | V<br>mg Kg <sup>-1</sup> | Zn<br>mg Kg <sup>-1</sup> |
|-------------------------------|-------------------------|--------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|-------------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------------------|-------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|
| F1                            | MILHO, FRANGO E OSSOS   | 8,9 ± 2      | 40,2 ± 10                 | 9,8 ± 0,6                 | 1,6 ± 0,1                             | 0,51 ± 0,1                | 10,6 ± 0,4                | 210 ± 7                   | 0,89 ± 0,03             | 0,13 ± 0,003             | 52,0 ± 2                  | 0,88 ± 0,1                | 1,2 ± 0,05                           | 0,28 ± 0,01             | 40,4 ± 2                  | 0,30 ± 0,1               | 185 ± 6                   |
| F2                            | CARNE E VEGETAIS        | 8,0 ± 0,5    | 0,20 ± 0,03**             | 12,2 ± 0,2                | 2,0 ± 0,1                             | 0,60 ± 0,05               | 14,7 ± 0,5                | 235 ± 5                   | 0,92 ± 0,02             | 0,11 ± 0,004             | 6,8 ± 0,3                 | < 0,56                    | 1,5 ± 0,1                            | 0,32 ± 0,01             | 31,4 ± 2                  | 0,44 ± 0,1               | 327 ± 5                   |
| F3                            | CARNE                   | 7,9 ± 0,4    | 41,5 ± 6                  | 15,3 ± 0,9                | 3,2 ± 0,1                             | 0,50 ± 0,1                | 9,2 ± 0,2                 | 228 ± 6                   | 0,94 ± 0,03             | 0,23 ± 0,01              | 69,6 ± 2                  | 0,61 ± 0,5                | 2,2 ± 0,1                            | 0,23 ± 0,01             | 46,3 ± 2                  | 0,25 ± 0,1               | 238 ± 7                   |
| F1                            | CARNE E CEREAIS         | 7,7 ± 0,4    | 88,7 ± 3                  | 11,8 ± 0,6                | 1,9 ± 0,1                             | 0,59 ± 0,2                | 18,6 ± 0,6                | 249 ± 12                  | 0,95 ± 0,03             | 0,16 ± 0,004             | 29,8 ± 2                  | < 0,56                    | 1,3 ± 0,05                           | 0,23 ± 0,01             | 45,9 ± 2                  | 0,46 ± 0,1               | 188 ± 7                   |
| F3                            | CARNE                   | 8,6 ± 0,4    | 214 ± 13                  | 12,1 ± 0,2                | 1,9 ± 0,04                            | < 0,084                   | 10,4 ± 0,3                | 310 ± 13                  | 1,0 ± 0,01              | 0,19 ± 0,001             | 66,3 ± 0,8                | 0,72 ± 0,4                | 1,6 ± 0,02                           | 0,28 ± 0,01             | 29,6 ± 0,6                | 0,51 ± 0,1               | 291 ± 5                   |
| F2                            | CEREAIS                 | 7,4 ± 1      | 0,14 ± 0,02**             | 8,7 ± 0,1                 | 1,6 ± 0,1                             | < 0,084                   | 26,2 ± 0,9                | 242 ± 7                   | 0,91 ± 0,02             | 0,12 ± 0,003             | 16,3 ± 0,1                | < 0,56                    | 1,4 ± 0,04                           | 0,41 ± 0,01             | 34,5 ± 0,4                | 0,46 ± 0,1               | 373 ± 5                   |
| F6                            | CARNE                   | 7,6 ± 0,2    | 240 ± 29                  | 11,0 ± 1                  | 2,4 ± 0,1                             | 1,2 ± 0,6                 | 3,8 ± 0,1                 | 366 ± 11                  | 0,80 ± 0,03             | 0,42 ± 0,01              | 18,6 ± 2                  | 0,81 ± 0,1                | 1,5 ± 0,1                            | 0,21 ± 0,01             | 31,6 ± 2                  | 0,60 ± 0,1               | 60,7 ± 2                  |
| F4                            | CARNE                   | 8,6 ± 0,03   | 110 ± 15                  | 15,0 ± 0,7                | 3,4 ± 0,1                             | 0,90 ± 0,1                | 7,7 ± 0,2                 | 323 ± 10                  | 0,61 ± 0,02             | 0,14 ± 0,004             | 45,6 ± 0,5                | 0,65 ± 0,1                | 2,3 ± 0,1                            | 0,24 ± 0,01             | 46,1 ± 2                  | 0,87 ± 0,1               | 80,1 ± 5                  |
| F4                            | CARNE                   | 10 ± 0,3     | 122 ± 9                   | 17,9 ± 0,6                | 2,8 ± 0,1                             | 0,63 ± 0,01               | 6,0 ± 0,2                 | 218 ± 6                   | 0,54 ± 0,01             | 0,16 ± 0,01              | 30,0 ± 0,9                | < 0,56                    | 1,7 ± 0,05                           | 0,18 ± 0,01             | 63,0 ± 3                  | 0,56 ± 0,1               | 52,7 ± 1                  |
| F4                            | MISTURA (MIX)           | 10 ± 0,4     | 63,2 ± 9                  | 18,3 ± 0,2                | 1,7 ± 0,04                            | 0,25 ± 0,05               | 4,1 ± 0,03                | 129 ± 10                  | 0,63 ± 0,01             | 0,16 ± 0,004             | 31,3 ± 0,5                | < 0,56                    | 1,2 ± 0,02                           | 0,13 ± 0,003            | 29,5 ± 0,7                | 0,28 ± 0,1               | 40,8 ± 0,2                |
| F7                            | CARNE                   | 6,9 ± 0,2    | 125 ± 28                  | 15,5 ± 0,5                | 2,4 ± 0,1                             | 0,39 ± 0,04               | 12,3 ± 0,2                | 195 ± 7                   | 0,94 ± 0,005            | 0,22 ± 0,002             | 38,1 ± 0,3                | < 0,56                    | 1,2 ± 0,04                           | 0,21 ± 0,003            | 101 ± 5                   | < 0,21                   | 141 ± 9                   |
| F5                            | MISTURA (MIX)           | 6,6 ± 0,04   | 68,1 ± 3                  | 18,0 ± 0,2                | 2,7 ± 0,2                             | < 0,084                   | 11,4 ± 0,4                | 156 ± 6                   | 0,81 ± 0,03             | 0,21 ± 0,01              | 29,2 ± 10                 | < 0,56                    | 1,6 ± 0,1                            | 0,17 ± 0,01             | 49,4 ± 4                  | < 0,21                   | 128,8 ± 7                 |
| F5                            | CARNE E VEGETAIS        | 6,1 ± 0,1    | 70,0 ± 10                 | 15,1 ± 0,7                | 1,8 ± 0,1                             | 0,15 ± 0,1                | 17,7 ± 0,3                | 239 ± 8                   | 0,89 ± 0,005            | 0,20 ± 0,002             | 32,8 ± 3                  | 0,60 ± 0,2                | 1,4 ± 0,04                           | 0,27 ± 0,003            | 34,8 ± 1                  | 0,32 ± 0,1               | 190,7 ± 3                 |
| F2                            | LEITE, FRANGO E OSSOS   | 10 ± 0,7     | 0,14 ± 0,1**              | 12,8 ± 0,9                | 1,3 ± 0,1                             | 0,22 ± 0,1                | 26,6 ± 0,5                | 191 ± 6                   | 0,79 ± 0,02             | 0,11 ± 0,003             | 13,7 ± 0,4                | < 0,56                    | 1,0 ± 0,1                            | 0,31 ± 0,01             | 39,1 ± 2                  | 0,40 ± 0,03              | 344 ± 11                  |
| F3                            | CARNE, VEGETAIS E ERVAS | 7,0 ± 0,6    | 43,4 ± 5                  | 4,7 ± 0,1                 | 1,0 ± 0,04                            | < 0,084                   | 17,9 ± 0,6                | 251 ± 17                  | 0,90 ± 0,03             | 0,11 ± 0,004             | 79,0 ± 3                  | < 0,56                    | 1,1 ± 0,03                           | 0,37 ± 0,01             | 27,9 ± 1                  | 0,32 ± 0,1               | 321 ± 7                   |
| F2                            | CARNE E VEGETAIS        | 8,2 ± 0,1    | 0,25 ± 0,01**             | 15,0 ± 0,8                | 1,5 ± 0,02                            | < 0,084                   | 18,9 ± 0,7                | 222 ± 5                   | 0,95 ± 0,03             | 0,14 ± 0,01              | 9,6 ± 0,2                 | < 0,56                    | 1,1 ± 0,03                           | 0,28 ± 0,01             | 30,8 ± 1                  | 0,32 ± 0,1               | 106 ± 6                   |
| F2                            | CARNE E VEGETAIS        | 8,0 ± 0,4    | 0,20 ± 0,02**             | 16,1 ± 0,6                | 2,0 ± 0,2                             | 0,40 ± 0,1                | 18,3 ± 1                  | 165 ± 7                   | 0,87 ± 0,03             | 994 ± 22*                | 7,5 ± 1                   | < 0,56                    | 1,2 ± 0,1                            | 0,29 ± 0,01             | 39,3 ± 3                  | 0,32 ± 0,04              | 344 ± 7                   |
| F2                            | CEREAIS                 | 9,8 ± 0,3    | 0,15 ± 0,04**             | 10,1 ± 0,8                | 1,3 ± 0,2                             | 0,29 ± 0,1                | 33,1 ± 0,9                | 166 ± 10                  | 0,68 ± 0,01             | 602 ± 9*                 | 6,7 ± 0,1                 | < 0,56                    | 0,93 ± 0,1                           | 0,31 ± 0,01             | 26,3 ± 4                  | 0,33 ± 0,1               | 240 ± 3                   |
| F3                            | CARNE                   | 8,6 ± 0,2    | 87,6 ± 14                 | 14,8 ± 1                  | 1,7 ± 0,1                             | 0,33 ± 0,02               | 12,5 ± 0,5                | 192 ± 2                   | 0,76 ± 0,03             | 0,16 ± 0,01              | 58,1 ± 2                  | 0,57 ± 0,3                | 1,1 ± 0,1                            | 0,21 ± 0,01             | 33,7 ± 2                  | 0,30 ± 0,04              | 284 ± 11                  |
| F3                            | CARNE                   | 9,6 ± 0,7    | 386 ± 3                   | 17,5 ± 1                  | 1,7 ± 0,1                             | 0,77 ± 0,03               | 12,6 ± 0,2                | 353 ± 5                   | 1,0 ± 0,05              | 0,24 ± 0,01              | 66,5 ± 7                  | < 0,56                    | 1,3 ± 0,05                           | 0,21 ± 0,004            | 34,8 ± 2                  | 0,54 ± 0,2               | 257 ± 5                   |
| F8                            | CARNE, FRANGO E OSSOS   | 7,2 ± 2      | 424 ± 14                  | 18,4 ± 0,7                | 2,9 ± 0,15                            | 0,85 ± 0,2                | 13,5 ± 0,5                | 336 ± 4                   | 1,1 ± 0,04              | 0,24 ± 0,01              | 94,9 ± 6                  | 0,68 ± 0,02               | 2,4 ± 0,1                            | 0,34 ± 0,02             | 41,9 ± 2                  | 0,42 ± 0,2               | 378 ± 4                   |
| F9                            | CARNE E VÍ CERAS        | 8,9 ± 3      | 105 ± 7                   | 13,4 ± 1                  | 2,2 ± 0,1                             | 0,30 ± 0,01               | 4,4 ± 0,1                 | 138 ± 7                   | 0,61 ± 0,01             | 0,12 ± 0,002             | 4,5 ± 0,2                 | < 0,56                    | 1,2 ± 0,05                           | 0,19 ± 0,003            | 40,2 ± 3                  | 0,25 ± 0,04              | 38,1 ± 0,7                |
| F5                            | MISTURA (MIX)           | 6,0 ± 0,1    | 92,3 ± 4                  | 17,9 ± 1                  | 2,3 ± 0,2                             | < 0,084                   | 12,0 ± 1                  | 197 ± 8                   | 0,82 ± 0,04             | 0,26 ± 0,01              | 22,6 ± 1                  | < 0,56                    | 1,3 ± 0,1                            | 0,18 ± 0,01             | 44,4 ± 3                  | 0,30 ± 0,04              | 119 ± 5                   |
| F10                           | MISTURA (MIX)           | 9,8 ± 0,3    | 151 ± 8                   | 6,0 ± 0,2                 | 2,2 ± 0,1                             | 0,86 ± 0,02               | 17,9 ± 0,3                | 200 ± 10                  | 0,79 ± 0,02             | 0,17 ± 0,003             | 57,7 ± 4                  | 0,65 ± 0,02               | 0,92 ± 0,03                          | 0,25 ± 0,004            | 72,1 ± 2                  | 0,26 ± 0,03              | 82,0 ± 2                  |
| Concentração mínima permitida |                         | ***          | ***                       | ***                       | 6,0 <sup>A</sup>                      | ***                       | 7,3 <sup>A</sup>          | 80,0 <sup>A</sup>         | 6,0 <sup>A</sup>        | 0,4 <sup>A</sup>         | 5,0 <sup>A</sup>          | ***                       | 5,0 <sup>A</sup><br>0,6 <sup>B</sup> | ***                     | ***                       | ***                      | 120 <sup>A</sup>          |
| Concentração máxima permitida |                         | ***          | ***                       | ***                       | 25,0 <sup>A</sup><br>2,4 <sup>B</sup> | ***                       | 250 <sup>A</sup>          | 3000 <sup>A</sup>         | ***                     | 3,0 <sup>A</sup>         | ***                       | ***                       | 16,0 <sup>A</sup>                    | ***                     | ***                       | ***                      | 1000 <sup>A</sup>         |

\*mg Kg<sup>-1</sup>; \*\*g Kg<sup>-1</sup>; A – valores estabelecidos pela AAFCO; B – valores estabelecidos pelo MAPA. Valores expressos como média ± desvio padrão

**Tabela 12:** Concentrações dos elementos Al, Ba, Ca, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Ni, P, S, Sr, V e Zn em amostras de ração de gato, por ICP OES.

| FABRICANTE                    | SABOR                   | UMIDADE %  | Al<br>mg Kg <sup>-1</sup> | Ba<br>mg Kg <sup>-1</sup> | Ca<br>g Kg <sup>-1</sup> | Cr<br>mg Kg <sup>-1</sup> | Cu<br>mg Kg <sup>-1</sup> | Fe<br>mg Kg <sup>-1</sup> | K<br>g Kg <sup>-1</sup> | Mg<br>g Kg <sup>-1</sup> | Mn<br>mg Kg <sup>-1</sup> | Ni<br>mg Kg <sup>-1</sup> | P<br>g Kg <sup>-1</sup>              | S<br>g Kg <sup>-1</sup> | Sr<br>mg Kg <sup>-1</sup> | V<br>mg Kg <sup>-1</sup> | Zn<br>mg Kg <sup>-1</sup> |
|-------------------------------|-------------------------|------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|-------------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------------------|-------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|
| F11                           | MISTURA (MIX)           | 9,1 ± 0,2  | 487 ± 2                   | 11,7 ± 0,4                | 1,9 ± 0,03               | 1,1 ± 0,1                 | 15,6 ± 2                  | 351 ± 9                   | 0,90 ± 0,03             | 0,15 ± 0,01              | 31,9 ± 2                  | 0,92 ± 0,1                | 1,6 ± 0,03                           | 0,35 ± 0,02             | 32,1 ± 0,5                | 0,42 ± 0,1               | 118 ± 4                   |
| F2                            | CARNE E PEIXE           | 12 ± 3     | 155 ± 14                  | 8,1 ± 0,1                 | 1,4 ± 0,1                | 1,0 ± 0,1                 | 16,6 ± 0,7                | 233 ± 11                  | 1,0 ± 0,03              | 0,11 ± 0,004             | 15,2 ± 0,3                | 0,56 ± 0,1                | 1,3 ± 0,1                            | 0,36 ± 0,02             | 59,5 ± 2                  | 0,85 ± 0,05              | 267 ± 8                   |
| F12                           | CARNE, PEIXE E VEGETAIS | 7,9 ± 0,4  | 145 ± 13                  | 5,8 ± 0,2                 | 1,4 ± 0,1                | 0,71 ± 0,03               | 17,8 ± 0,6                | 328 ± 10                  | 0,51 ± 0,02             | 0,17 ± 0,01              | 42,3 ± 7                  | 0,61 ± 0,02               | 1,2 ± 0,04                           | 0,41 ± 0,01             | 21,0 ± 1                  | 0,47 ± 0,04              | 173 ± 4                   |
| F1                            | CARNE                   | 8,3 ± 1    | 66,1 ± 14                 | 10,5 ± 1                  | 1,7 ± 0,2                | 1,0 ± 0,2                 | 18,8 ± 0,7                | 259 ± 12                  | 1,0 ± 0,02              | 0,14 ± 0,1               | 22,7 ± 1                  | 0,66 ± 0,1                | 1,5 ± 0,1                            | 0,30 ± 0,01             | 38,1 ± 3                  | 0,37 ± 0,1               | 168 ± 5                   |
| F3                            | CARNE, PEIXE E VEGETAIS | 7,2 ± 0,3  | 260 ± 9                   | 15,9 ± 0,3                | 2,8 ± 0,1                | 1,1 ± 0,1                 | 20,5 ± 1                  | 407 ± 11                  | 0,61 ± 0,01             | 0,19 ± 0,001             | 64,4 ± 4                  | 0,65 ± 0,3                | 1,8 ± 0,04                           | 0,40 ± 0,01             | 44,6 ± 1                  | 0,52 ± 0,03              | 267 ± 1                   |
| F13                           | PEIXE                   | 7,7 ± 0,4  | 75,4 ± 15                 | 2,3 ± 0,1                 | 0,70 ± 0,03              | < 0,084                   | 12,6 ± 0,3                | 126 ± 13                  | 1,2 ± 0,1               | 830 ± 15*                | 8,0 ± 0,2                 | < 0,56                    | 1,0 ± 0,01                           | 0,46 ± 0,01             | 10,9 ± 0,7                | < 0,21                   | 203 ± 3                   |
| F14                           | MISTURA (MIX)           | 15 ± 3     | 63,9 ± 14                 | 11,5 ± 0,3                | 0,34 ± 0,02              | < 0,084                   | 8,1 ± 0,1                 | 177 ± 9                   | 1,1 ± 0,01              | 0,28 ± 0,01              | 81,2 ± 2                  | < 0,56                    | 1,2 ± 0,03                           | 0,180 ± 0,004           | 12,2 ± 0,6                | < 0,21                   | 62,7 ± 2                  |
| F9                            | MISTURA (MIX)           | 8,1 ± 0,8  | 137,8 ± 15                | 13,6 ± 0,4                | 2,0 ± 0,1                | < 0,084                   | 3,7 ± 0,1                 | 215 ± 0,6                 | 0,91 ± 0,02             | 0,15 ± 0,004             | 10,6 ± 0,6                | < 0,56                    | 1,5 ± 0,1                            | 0,33 ± 0,02             | 45,5 ± 1,3                | 0,59 ± 0,1               | 51,5 ± 3                  |
| F3                            | MISTURA (MIX)           | 9,4 ± 0,7  | 96,2 ± 16                 | 12,4 ± 0,4                | 2,7 ± 0,1                | 1,0 ± 0,1                 | 11,4 ± 0,2                | 251 ± 6                   | 1,0 ± 0,002             | 0,17 ± 0,002             | 28,8 ± 10                 | 0,92 ± 0,1                | 1,9 ± 0,1                            | 0,41 ± 0,01             | 38,5 ± 0,7                | 0,4 ± 0,1                | 154 ± 3                   |
| F1                            | CARNE                   | 8,7 ± 0,7  | 41,6 ± 3                  | 4,9 ± 0,3                 | 1,3 ± 0,1                | 0,76 ± 0,04               | 18,9 ± 0,2                | 259 ± 4                   | 1,0 ± 0,02              | 0,13 ± 0,001             | 26,5 ± 2                  | 0,61 ± 0,1                | 1,7 ± 0,04                           | 0,49 ± 0,1              | 30,6 ± 1                  | 0,38 ± 0,2               | 179 ± 3                   |
| F15                           | MISTURA (MIX)           | 13 ± 4     | 883 ± 7                   | 19,7 ± 1                  | 2,3 ± 0,1                | 1,8 ± 0,1                 | 10,9 ± 0,1                | 637 ± 11                  | 0,83 ± 0,02             | 0,34 ± 0,01              | 52,9 ± 1                  | 1,1 ± 0,1                 | 1,3 ± 0,04                           | 0,31 ± 0,01             | 40,0 ± 1                  | 1,2 ± 0,2                | 84,9 ± 1                  |
| F6                            | MISTURA (MIX)           | 8,8 ± 2    | 126 ± 13                  | 10,6 ± 0,8                | 1,5 ± 0,1                | 0,11 ± 0,02               | 21,3 ± 0,8                | 259 ± 7                   | 0,64 ± 0,02             | 0,18 ± 0,01              | 40,7 ± 2                  | < 0,56                    | 1,0 ± 0,05                           | 0,31 ± 0,01             | 33,2 ± 1                  | 0,26 ± 0,1               | 174 ± 6                   |
| F11                           | MISTURA (MIX)           | 7,3 ± 0,4  | 433 ± 8                   | 14,3 ± 0,6                | 1,8 ± 0,1                | 0,67 ± 0,1                | 16,5 ± 0,6                | 252 ± 7                   | 0,82 ± 0,02             | 0,17 ± 0,01              | 32,1 ± 2                  | 0,78 ± 0,03               | 1,3 ± 0,04                           | 0,29 ± 0,01             | 43,6 ± 1                  | < 0,21                   | 108 ± 4                   |
| F16                           | PEIXE                   | 8,5 ± 0,03 | 47,6 ± 9                  | 18,5 ± 0,7                | 2,1 ± 0,2                | < 0,084                   | 14,4 ± 1                  | 121 ± 8                   | 1,0 ± 0,03              | 0,23 ± 0,01              | 51,3 ± 6                  | 0,60 ± 0,1                | 1,5 ± 0,1                            | 0,21 ± 0,005            | 40,0 ± 3                  | < 0,21                   | 73,5 ± 2                  |
| F3                            | PEIXE                   | 7,1 ± 0,1  | 26,5 ± 7                  | 4,1 ± 0,1                 | 1,0 ± 0,1                | < 0,084                   | 21,7 ± 0,6                | 279 ± 6                   | 0,78 ± 0,02             | 794 ± 12                 | 93,9 ± 5                  | < 0,56                    | 1,1 ± 0,04                           | 0,40 ± 0,01             | 33,5 ± 2                  | 0,35 ± 0,01              | 404 ± 11                  |
| F9                            | MISTURA (MIX)           | 8,1 ± 0,9  | 88,5 ± 10                 | 9,3 ± 0,2                 | 1,3 ± 0,1                | 0,39 ± 0,01               | 5,3 ± 0,2                 | 144 ± 3                   | 0,74 ± 0,01             | 0,11 ± 0,002             | 9,3 ± 0,1                 | < 0,56                    | 0,90 ± 0,01                          | 0,25 ± 0,01             | 29,8 ± 1                  | 0,27 ± 0,1               | 40,7 ± 0,7                |
| F11                           | MISTURA (MIX)           | 9,1 ± 0,1  | 520 ± 10                  | 16,3 ± 1                  | 2,2 ± 0,2                | 0,92 ± 0,1                | 20,8 ± 0,7                | 332 ± 3                   | 1,0 ± 0,02              | 0,16 ± 0,01              | 28,3 ± 1                  | < 0,56                    | 1,5 ± 0,1                            | 0,35 ± 0,02             | 47,2 ± 5                  | 0,33 ± 0,03              | 111 ± 3                   |
| Concentração mínima permitida |                         | ***        | ***                       | ***                       | 6,0 <sup>A</sup>         | ***                       | 5,0 <sup>A</sup>          | 80,0 <sup>A</sup>         | 6,0 <sup>A</sup>        | 0,4 <sup>A</sup>         | 7,5 <sup>A</sup>          | ***                       | 5,0 <sup>A</sup><br>0,6 <sup>B</sup> | ***                     | ***                       | ***                      | 75,0 <sup>A</sup>         |
| Concentração máxima permitida |                         | ***        | ***                       | ***                       | 2,4 <sup>B</sup>         | ***                       | ***                       | ***                       | ***                     | ***                      | ***                       | ***                       | ***                                  | ***                     | ***                       | ***                      | 2000 <sup>A</sup>         |

\*mg Kg<sup>-1</sup>; \*\*g Kg<sup>-1</sup>; A – valores estabelecidos pela AAFCO; B – valores estabelecidos pelo MAPA. Valores expressos como média ± desvio padrão

Nas Tabelas 13 e 14 estão apresentados os resumos estatísticos das concentrações dos elementos químicos determinados em rações para cães e gatos, respectivamente.

**Tabela 13:** Resumo estatístico das concentrações dos elementos em rações para cães.

| Variáveis                       | Média | Mediana | Desvio padrão | Mínimo  | Máximo |
|---------------------------------|-------|---------|---------------|---------|--------|
| <b>Umidade</b> %                | 8,2   | 8,1     | 1,0           | 6,0     | 10,3   |
| <b>Al</b> / mg Kg <sup>-1</sup> | 550   | 124     | 763           | 40,2    | 2450   |
| <b>Ba</b> / mg Kg <sup>-1</sup> | 13,6  | 14,9    | 4,0           | 4,7     | 18,4   |
| <b>Ca</b> / g Kg <sup>-1</sup>  | 2,1   | 2,0     | 1,0           | 1,0     | 3,4    |
| <b>Cr</b> / mg Kg <sup>-1</sup> | 0,54  | 0,62    | 0,3           | < 0,084 | 1,2    |
| <b>Cu</b> / mg Kg <sup>-1</sup> | 14,2  | 18,1    | 7,0           | 3,8     | 33,1   |
| <b>Fe</b> / mg Kg <sup>-1</sup> | 230   | 250     | 66            | 129     | 366    |
| <b>K</b> / g Kg <sup>-1</sup>   | 0,84  | 0,94    | 0,1           | 0,54    | 1,1    |
| <b>Mg</b> / g Kg <sup>-1</sup>  | 0,17  | 0,22    | 0,1           | 0,060   | 0,42   |
| <b>Mn</b> / mg Kg <sup>-1</sup> | 37,0  | 57,9    | 26            | 4,5     | 94,9   |
| <b>Ni</b> / mg Kg <sup>-1</sup> | 0,69  | < 0,56  | 0,1           | < 0,56  | 0,88   |
| <b>P</b> / g Kg <sup>-1</sup>   | 1,4   | 1,2     | 0,4           | 0,92    | 2,4    |
| <b>S</b> / g Kg <sup>-1</sup>   | 0,25  | 0,22    | 0,1           | 0,13    | 0,41   |
| <b>Sr</b> / mg Kg <sup>-1</sup> | 42,3  | 34,7    | 17            | 26,3    | 101    |
| <b>V</b> / mg Kg <sup>-1</sup>  | 0,40  | 0,32    | 0,1           | < 0,21  | 0,87   |
| <b>Zn</b> / mg Kg <sup>-1</sup> | 200   | 187     | 114           | 38,1    | 378    |

**Tabela 14:** Resumo estatístico das concentrações dos elementos em rações para gatos.

| Variáveis                       | Média | Mediana | Desvio padrão | Mínimo  | Máximo |
|---------------------------------|-------|---------|---------------|---------|--------|
| <b>Umidade</b> %                | 9,1   | 9,4     | 2,0           | 7,1     | 14,6   |
| <b>Al</b> / mg Kg <sup>-1</sup> | 215   | 126     | 234           | 26,5    | 883    |
| <b>Ba</b> / mg Kg <sup>-1</sup> | 11,1  | 11,5    | 5,0           | 2,3     | 19,7   |
| <b>Ca</b> / g Kg <sup>-1</sup>  | 1,7   | 1,7     | 0,66          | 0,34    | 2,8    |
| <b>Cr</b> / mg Kg <sup>-1</sup> | 0,88  | 0,71    | 0,42          | < 0,084 | 1,8    |
| <b>Cu</b> / mg Kg <sup>-1</sup> | 15,0  | 16,5    | 6,0           | 3,7     | 21,7   |
| <b>Fe</b> / mg Kg <sup>-1</sup> | 272   | 259     | 123           | 121     | 637    |
| <b>K</b> / g Kg <sup>-1</sup>   | 0,88  | 0,91    | 0,18          | 0,51    | 1,2    |
| <b>Mg</b> / g Kg <sup>-1</sup>  | 0,17  | 0,16    | 0,067         | 0,079   | 0,34   |
| <b>Mn</b> / mg Kg <sup>-1</sup> | 37,7  | 31,9    | 25,0          | 8,0     | 93,9   |
| <b>Ni</b> / mg Kg <sup>-1</sup> | 0,74  | 0,60    | 0,18          | < 0,56  | 1,1    |
| <b>P</b> / g Kg <sup>-1</sup>   | 1,4   | 1,3     | 0,29          | 0,90    | 1,9    |
| <b>S</b> / g Kg <sup>-1</sup>   | 0,34  | 0,35    | 0,08          | 0,18    | 0,49   |
| <b>Sr</b> / mg Kg <sup>-1</sup> | 35,3  | 38,1    | 12,0          | 10,9    | 59,5   |
| <b>V</b> / mg Kg <sup>-1</sup>  | 0,49  | 0,37    | 0,26          | < 0,21  | 1,2    |
| <b>Zn</b> / mg Kg <sup>-1</sup> | 155   | 154     | 94            | 40,7    | 404    |

Pode-se observar que as maiores concentrações foram obtidas nos macroconstituintes como Ca e P, obteram valores médios de 2,1 e 1,4 g Kg<sup>-1</sup> para cães e 1,7 e 1,4 g Kg<sup>-1</sup> para gatos, respectivamente. Para os microconstituintes destaca-se o Al, Fe e Zn com valores médios de 550, 230 e 200 mg Kg<sup>-1</sup> para cães e 215, 272 e 155 mg Kg<sup>-1</sup> para gatos, respectivamente.

Os elementos Al, Ba, Cr, Ni, S, Sr e V não estão incluídos na legislação sobre a composição de alimentos para cães e gatos [DURAN et al., 2010]. Enxofre, na forma de sulfetos e sulfatos é importante na coagulação do sangue. A ausência de S nestas formas citadas podem causar dor nas articulações, bem como fraqueza física e mental [MACHADO et al., 2006]. O Sr pode ser extremamente tóxico em concentrações elevadas, e embora possa agir no metabolismo de forma semelhante ao Ca, não deve ser substituído. A presença de sais de Ba na dieta pode aumentar a pressão sanguínea e provocar o mau funcionamento dos rins e do coração [WHO, 2001], enquanto que Al pode acumular-se no cérebro, o que resulta em disfunção, e tem sido implicado em doenças ósseas [IKEM et al., 2002].

Dados semelhantes para Cu, Mn e Fe, determinados por FAAS, foram observados em rações comercializados na Turquia. O autor também relata a não existência de dados sobre os níveis de Ni e Cr em alimentos para animais estabelecidos por agências reguladoras [DURAN et al., 2010].

Outro trabalho sobre a composição mineral em ração para cães, foi determinado por ativação com nêutrons, realizado no Brasil, menciona que Fe e K apresentaram concentrações em conformidade com a AAFCO, enquanto que as concentrações de Ca e Zn mostraram-se abaixo e acima dos níveis estabelecidos, respectivamente [ELIAS et al., 2012].

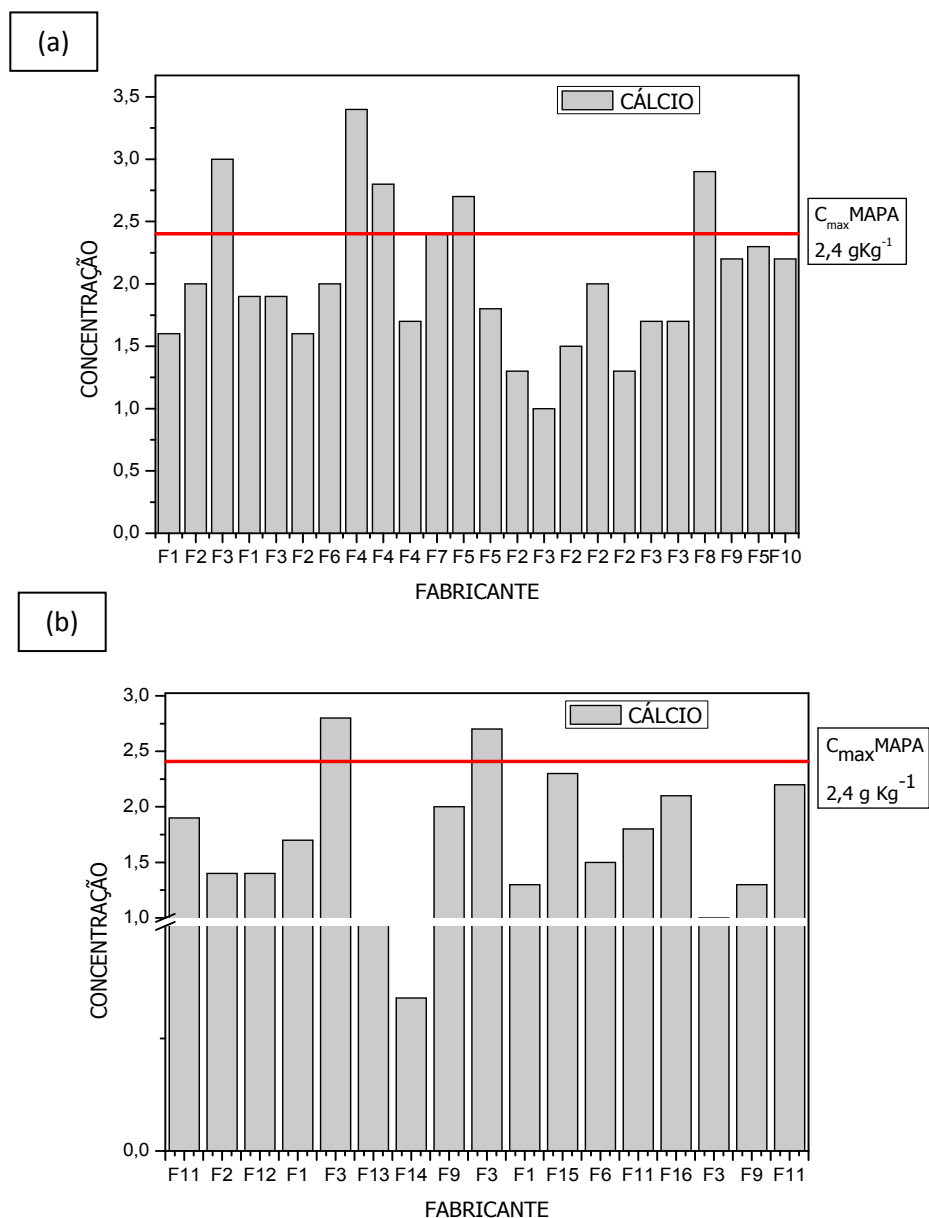
Por outro lado, ALOMAR et al. (2006) fazendo uso da espectrometria de reflectância no infravermelho, em um estudo com rações para cães comercializadas no Chile, relatou valores médios para Ca, K, Mg e P de 16,7; 10,5; 6,1 e 1,8 g.Kg<sup>-1</sup>, respectivamente, os quais estão de acordo com a AAFCO, exceto o magnésio. Outros minerais também foram determinados, como Fe (353,8 mg.Kg<sup>-1</sup>), Cu (29,5 mg.Kg<sup>-1</sup>), Mn (66,6 mg.Kg<sup>-1</sup>) e Zn (180,2 mg Kg<sup>-1</sup>), cujos valores estão em concordância com a AAFCO e com os valores encontrados neste trabalho [ALOMAR et al., 2006].

## 5.6. Análise das rações através das agências reguladoras

Para alguns elementos as concentrações encontradas podem ser comparadas a valores exigidos por agências reguladoras. A legislação brasileira é apresentada pelo MAPA e a dos Estados Unidos da América (EUA) pela AAFCO, conforme as Figuras entre 9 e 16.

As concentrações para o cálcio são mostradas na Figura 9, em que é possível perceber que as amostras F3, F4.1, F5.1 e F8 para rações de cães e F3.1 e F3.2 para rações de gatos apresentaram composição acima do máximo permitido pelo MAPA, que é de  $2,4 \text{ g Kg}^{-1}$ . Os valores da concentração de Ca nas rações de cães variaram entre  $1,0$  e  $3,4 \text{ g Kg}^{-1}$  já nas rações de gatos entre  $0,34$  e  $2,8 \text{ g Kg}^{-1}$ .

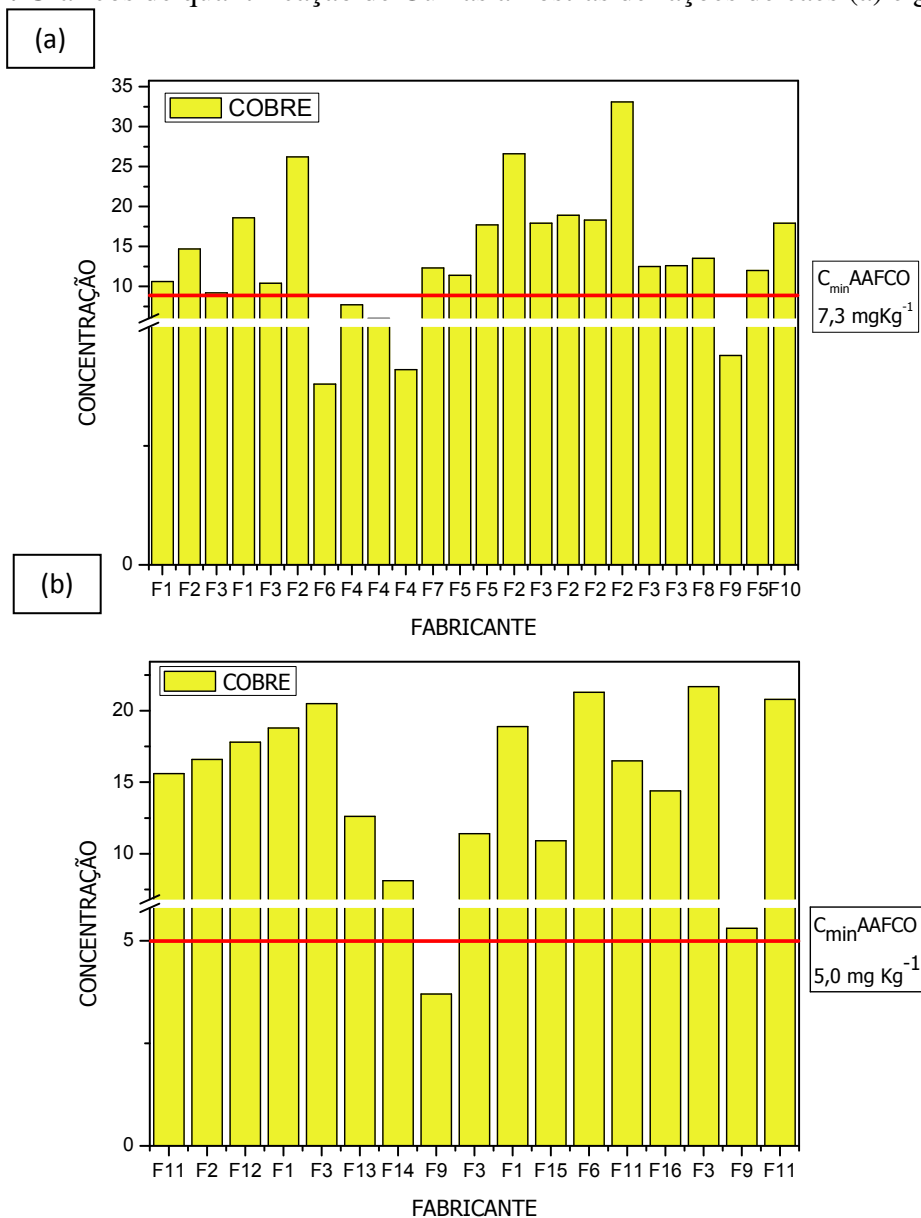
**Figura 8.** Gráficos de quantificação de Ca nas amostras de rações de cães (a) e gatos (b).



No entanto, de acordo com a AAFCO, a concentração de cálcio em amostras de alimentos secos para cães e gatos deve conter no mínimo  $6,0 \text{ g Kg}^{-1}$ , tornando assim todas as amostras analisadas fora dos parâmetros estabelecidos por essa agência.

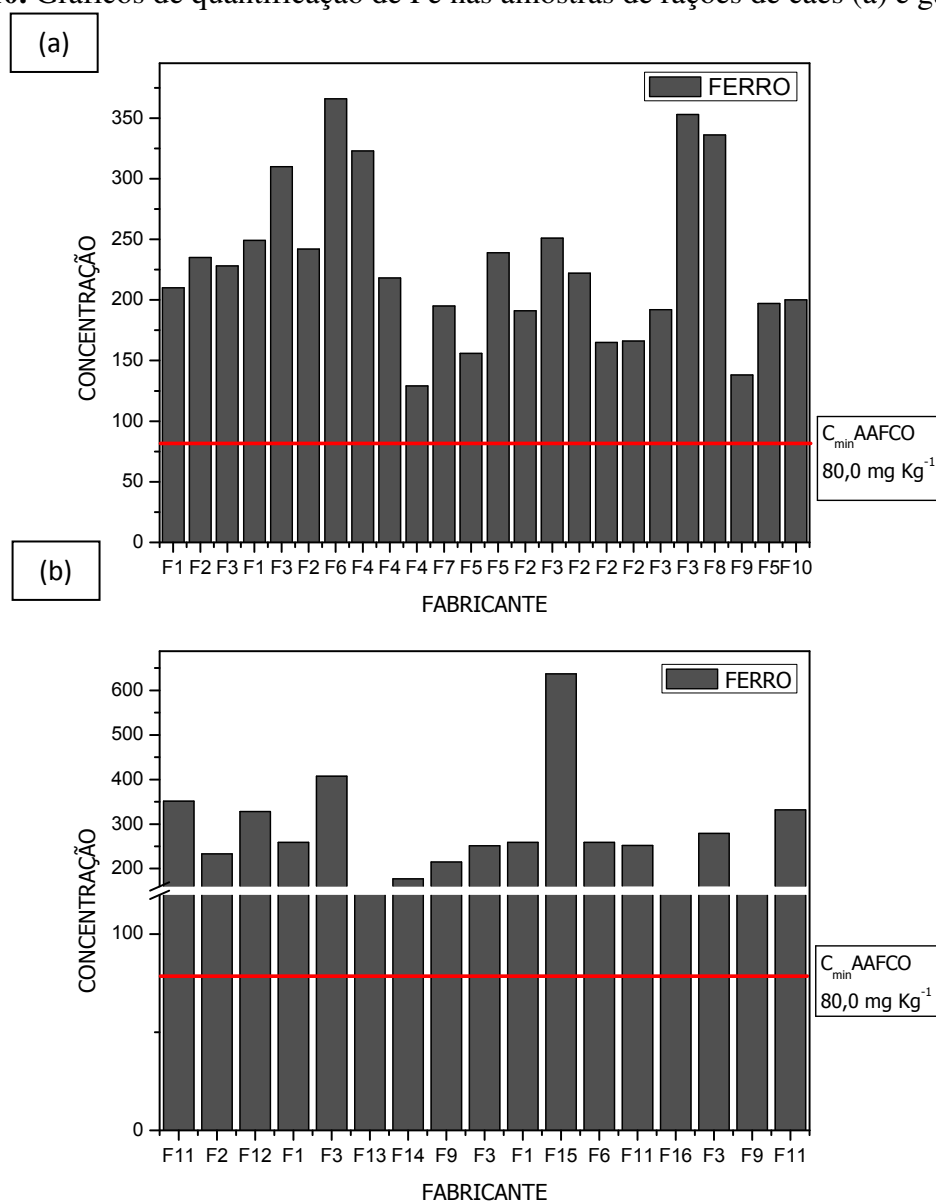
Para o cobre, o parâmetro é estabelecido pela AAFCO que apresenta concentração mínima de  $7,3 \text{ mg Kg}^{-1}$  e máxima de  $250 \text{ mg Kg}^{-1}$  em rações para cães e dispõe apenas do mínimo de  $5,0 \text{ mg Kg}^{-1}$  em rações para gatos. Observa-se na Figura 10 que as amostras F6, F4.2, F4.3 e F9 para rações de cães e F9 para rações de gatos apresentaram composição mínima abaixo do estabelecido pela AAFCO. Os valores da concentração de Cu nas rações de cães variaram entre  $3,8$  e  $33,1 \text{ mg Kg}^{-1}$ . Nas rações de gatos as concentrações do cobre variaram entre  $3,7$  e  $21,7 \text{ mg Kg}^{-1}$ . O MAPA não dispõe de legislação para o cobre.

**Figura 9.** Gráficos de quantificação de Cu nas amostras de rações de cães (a) e gatos (b).



O MAPA não dispõe de valores para concentrações de ferro. No entanto, de acordo com a AAFCO todas as amostras se apresentaram de acordo com o valor mínimo especificado na legislação, 80 mg Kg<sup>-1</sup> para este elemento, observe a Figura 11. Os valores da concentração de Fe nas rações de cães variaram entre 129 e 366 mg Kg<sup>-1</sup> já nas rações de gatos entre 121 e 637 mg Kg<sup>-1</sup>. Vale ressaltar que nenhuma amostra em ração para cães ultrapassou o máximo estabelecido, 3000 mg Kg<sup>-1</sup> para cães. Em rações para gatos não dispõe de valor máximo.

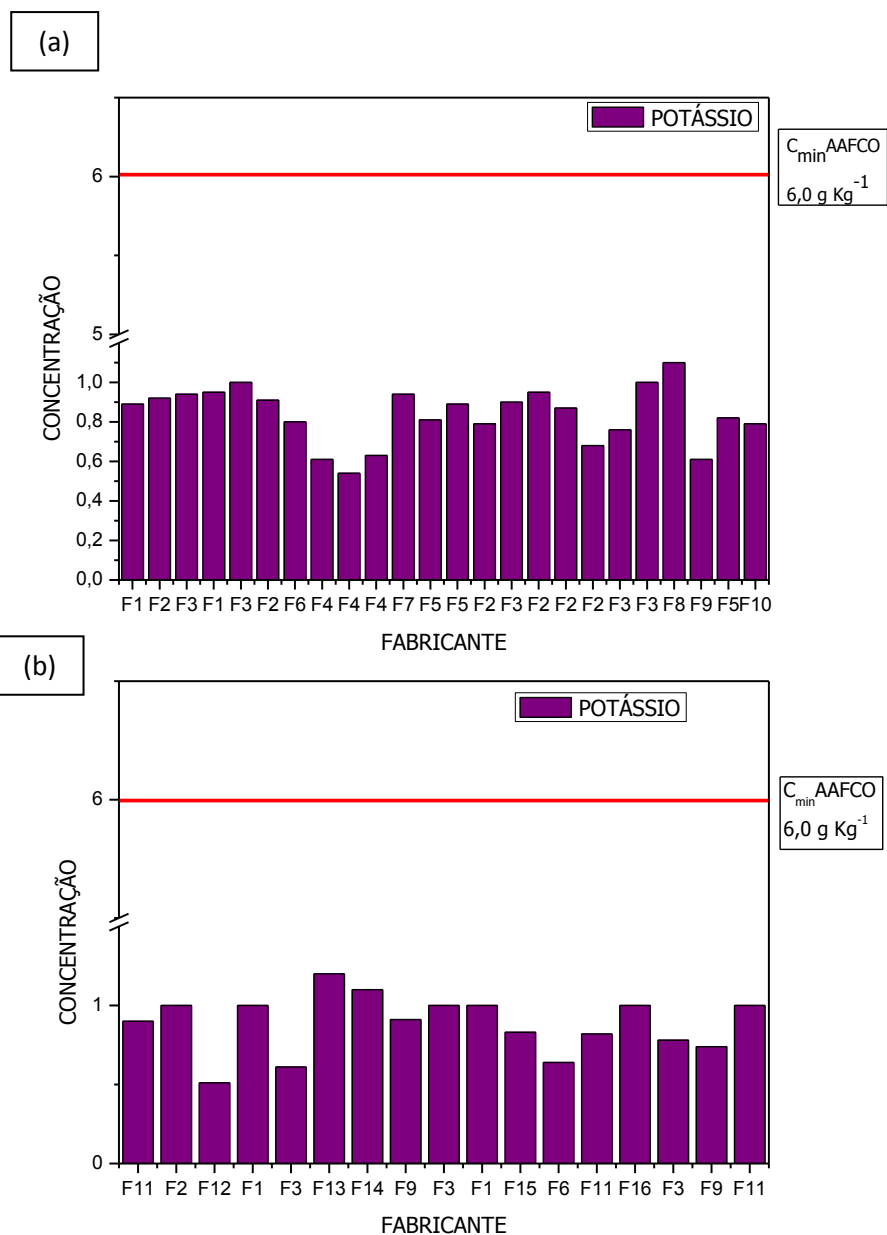
**Figura 10.** Gráficos de quantificação de Fe nas amostras de rações de cães (a) e gatos (b).

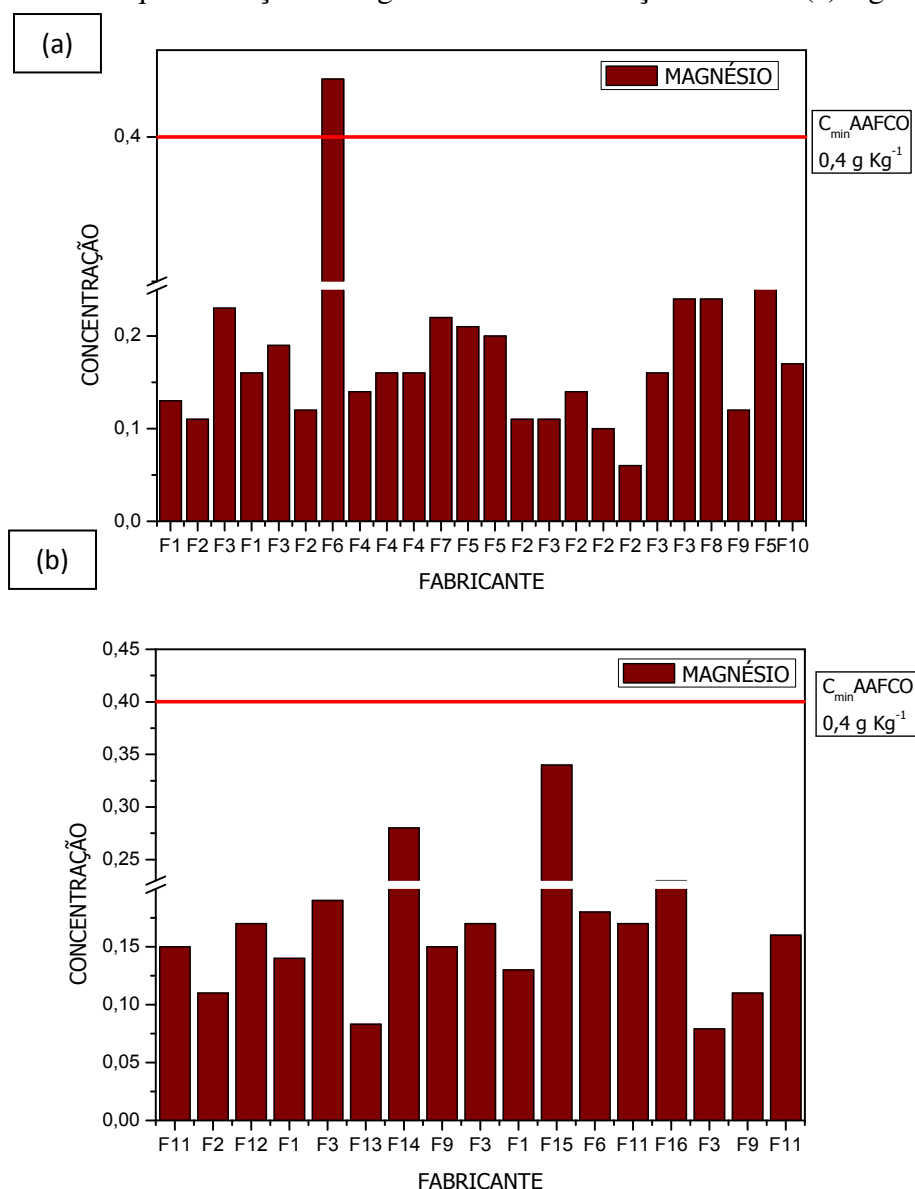


Em relação às concentrações de potássio e magnésio, nas amostras analisadas, não apresentaram a concentração mínima estabelecida pela agência reguladora americana, 6,0 g

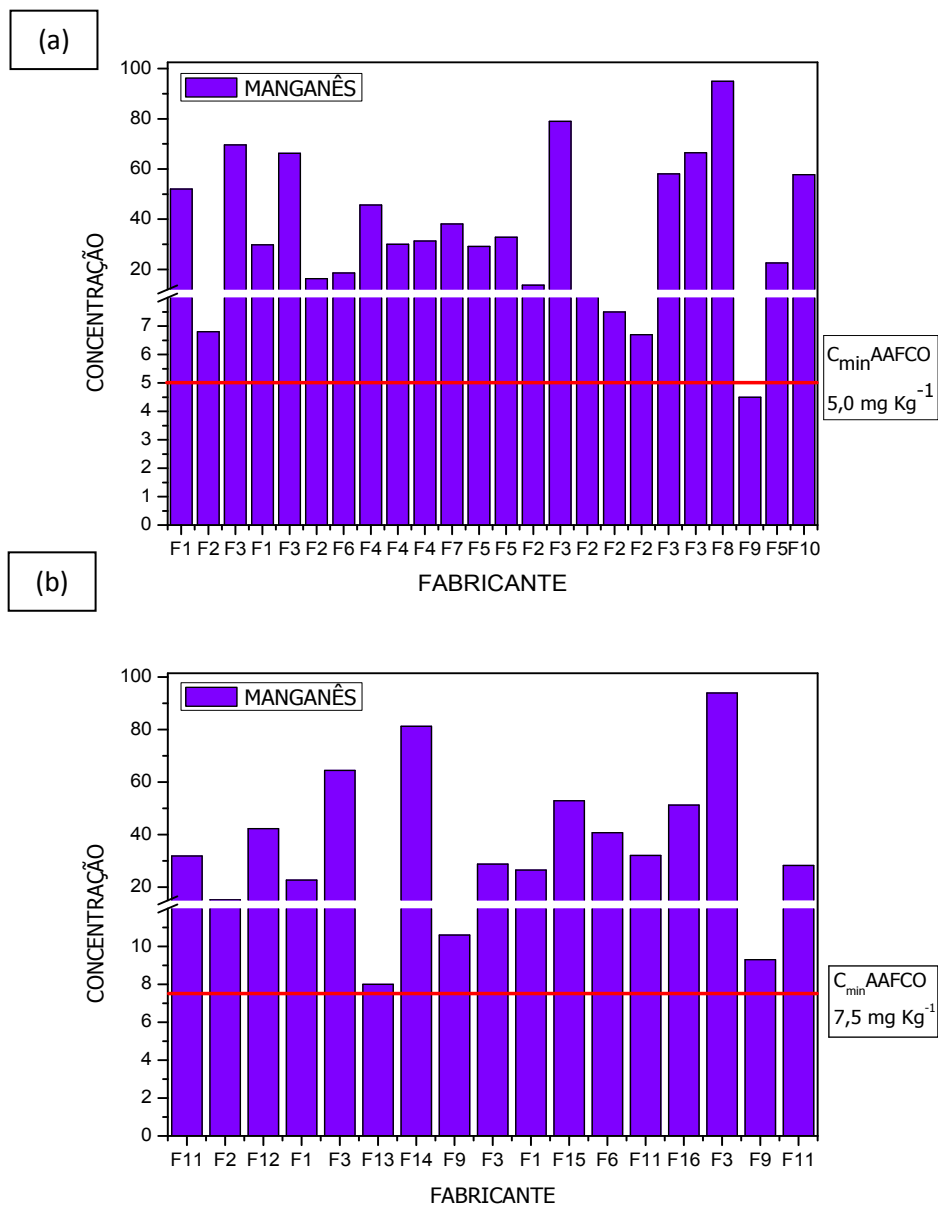
$\text{Kg}^{-1}$  (K) e  $0,4 \text{ g Kg}^{-1}$  (Mg), exceto para a amostra F6 em rações para cães que está em conformidade para o magnésio, inclusive considerando a concentração máxima permitida,  $3,0 \text{ g Kg}^{-1}$ . Observar a Figura 12 e a Figura 13. Os valores da concentração de K nas rações de cães variaram entre  $0,54$  e  $1,1 \text{ g Kg}^{-1}$  e de Mg entre  $0,060$  e  $0,42 \text{ g Kg}^{-1}$ . Já nas rações de gatos entre  $0,51$  e  $1,2 \text{ g Kg}^{-1}$  para o potássio e  $0,079$  e  $0,34$  para o magnésio, em rações de cães e de gatos, respectivamente.

**Figura 11.** Gráficos de quantificação de K nas amostras de rações de cães (a) e gatos (b).

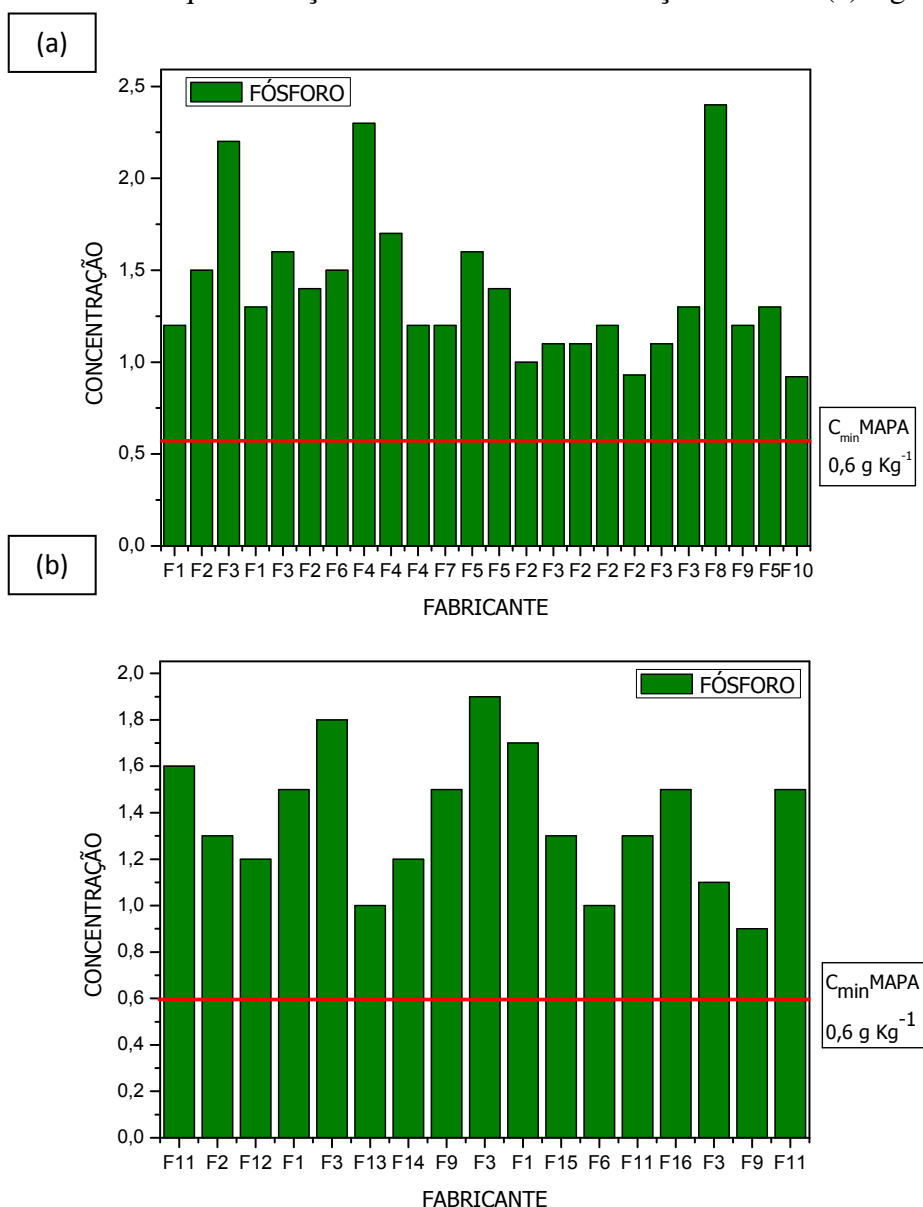


**Figura 12.** Gráficos de quantificação de Mg nas amostras de rações de cães (a) e gatos (b).

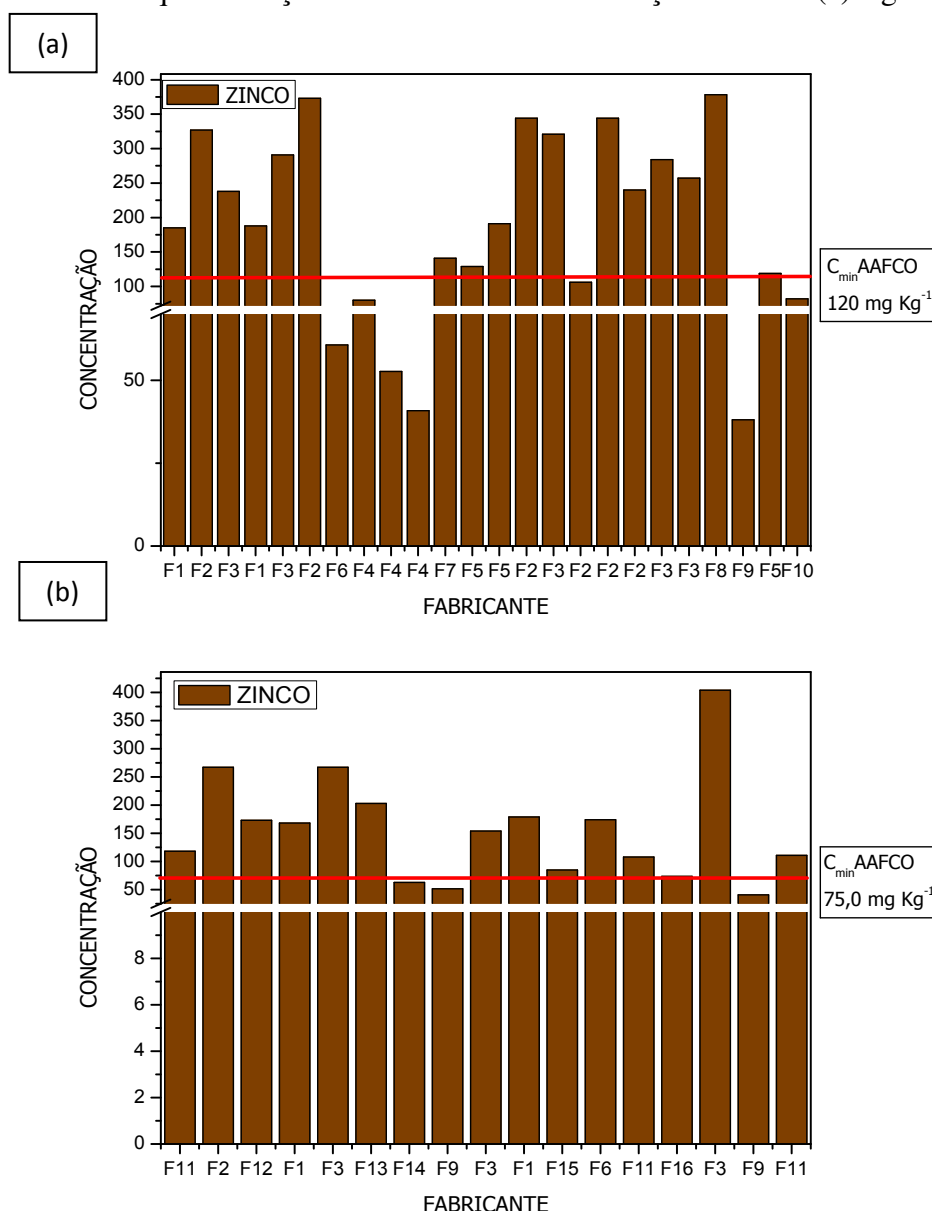
A Figura 14 apresenta graficamente as concentrações de manganês encontradas nas amostras de rações para cães e gatos, em que se mostraram de acordo com os valores estabelecidos pela AAFCO, mínimo de 5,0 mg Kg<sup>-1</sup> para cães e 7,5 mg Kg<sup>-1</sup> para gatos, com exceção para a amostra F9 de cães. Os valores da concentração de Mn nas rações de cães variaram entre 4,5 e 94,9 mg Kg<sup>-1</sup> já nas rações de gatos entre 8,0 e 93,9 mg Kg<sup>-1</sup>.

**Figura 13.** Gráficos de quantificação de Mn nas amostras de rações de cães (a) e gatos (b).

Os valores encontrados para fósforo, mostrados na Figura 15, mostraram-se concordantes com as exigências do MAPA (mínimo 0,6 g Kg<sup>-1</sup>), nas amostras de rações para cães e gatos. Os valores da concentração de P nas rações de cães variaram entre 0,92 e 2,40 g Kg<sup>-1</sup> já nas rações de gatos entre 0,90 e 1,90 g Kg<sup>-1</sup>. Já em relação a AAFCO nenhuma das amostras apresentaram concentração mínima dentro dos parâmetros estabelecidos, 5,0 mg Kg<sup>-1</sup>.

**Figura 14.** Gráficos de quantificação de P nas amostras de rações de cães (a) e gatos (b).

A Figura 16 dispõe das concentrações de zinco encontradas nas amostras analisadas. Sendo possível observar, que as amostras F4.1, F4.2, F4.3, F2, F5, F6, F9 e F10 em rações para cães e as amostras F9.1, F9.2, F14 e F16 em rações para gatos, apresentaram concentrações mínimas abaixo do estabelecido pela AAFCO (120 mg Kg<sup>-1</sup> para cães e 75,0 mg Kg<sup>-1</sup> para gatos). Os valores da concentração de Zn nas rações de cães variaram entre 38,1 e 378 mg Kg<sup>-1</sup>, já nas rações de gatos entre 40,7 e 404 mg Kg<sup>-1</sup>.

**Figura 15.** Gráficos de quantificação de Zn nas amostras de rações de cães (a) e gatos (b).

O Ca, K, Mg e P são elementos essenciais para o bom funcionamento do organismo. Segundo Ferreira et al. (2000) & Elias et al. (2012) a absorção de Ca e P é reduzido pelo aumento da disponibilidade destes minerais na dieta e a interferência na absorção de P pode ser causada pela formação de fosfatos insolúveis na presença de metais, tais como Fe, Mg, Al e Ca, e altas concentrações destes metais pode inibir a absorção de outros elementos, tais como Mn e Zn. Eles também relatam que a absorção de Mg é reduzida com o aumento das concentrações de Ca e P nos alimentos e que o K tem um coeficiente de digestibilidade elevado, sendo responsável pela regulação da pressão osmótica e a transmissão de impulsos nervosos. Duran et al. (2010) relata que a absorção de Fe pelo corpo pode ser influenciada pela idade e a origem alimentar, e é reduzida na presença de Ca.

Trabalhos também relatam que a absorção de Cu, que é essencial em baixas concentrações, pode ser reduzida pela interferência de Ca, Fe, Cd e Zn, que concorrem para ser transportado pela mesma enzima. Por sua vez, a absorção de Zn, a qual é importante para o desenvolvimento do esqueleto, bem como no desenvolvimento dos órgãos sexuais, é baixa, e pode ser reduzida quando a dieta contém altas concentrações de P, Ca e Cu [ELIAS et al., 2012; DURAN et al., 2010; CELIK & OEHLenschlager, 2007].

Duran et al. (2010) discorre que o excesso de Mn pode causar neurotoxicidade crônica, com sintomas que se assemelham à doença de Parkinson, como tremores e dificuldade de movimentos.

### **5.7. Análise exploratória de dados**

O uso de técnicas exploratória de dados como a análise de componentes principais (PCA) e a análise de agrupamento hierárquico (HCA), possibilitou avaliar as 41 amostras de ração para cães e gatos, envolvendo variáveis como a concentração de 15 elementos (Al, Ba, Ca, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Ni, P, S, Sr, V e Zn), o sabor e os fabricantes dos produtos. Os dados foram autoescalados, separadamente para as rações de cães e gatos, e foi observado as três primeiras componentes principais em ambos os casos.

A PCA, em relação as rações para cães, gerou valores de pesos relacionados aos coeficientes de correlações das variáveis com variância maior que 1,0 para os autovalores. Foi observado que as três primeiras componentes principais (PCs) representaram 65,4% da variabilidade total dos dados, sendo suficiente para descrever o sistema formado por 24 amostras de rações para cães. A PC1 apresentou 30,5% da variabilidade dos dados, e as PCs 2 e 3 explicaram 23,3 e 11,5%, respectivamente. Na Tabela 15 estão mostrados os valores de peso para as três primeiras PCs.

**Tabela 15.** Valores de pesos para as três primeiras PCs em rações de cães.

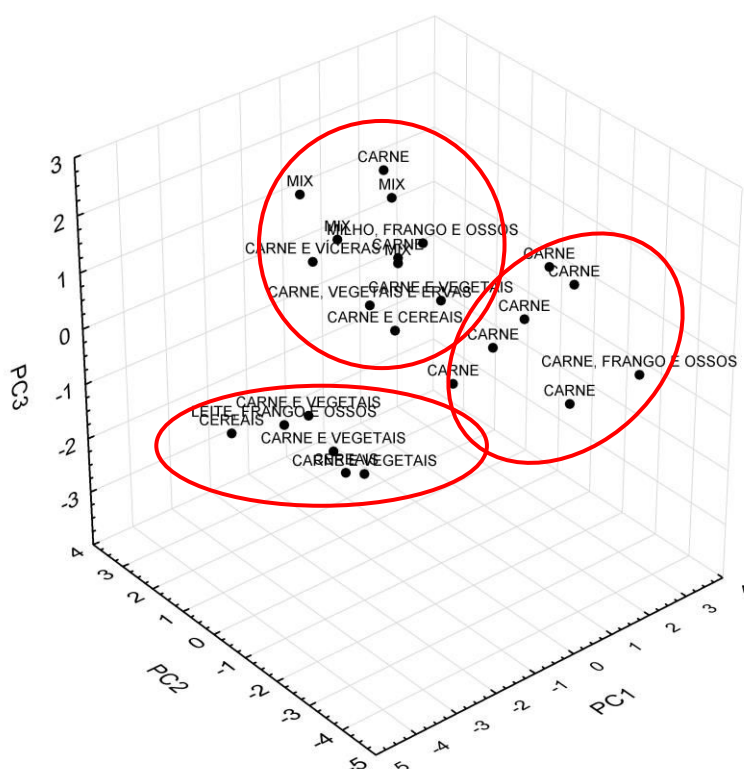
|                               | <b>PC1</b>    | <b>PC2</b>    | <b>PC3</b>    |
|-------------------------------|---------------|---------------|---------------|
| <b>Al</b>                     | <b>-0,661</b> | -0,175        | -0,522        |
| <b>Ba</b>                     | 0,473         | 0,220         | -0,362        |
| <b>Ca</b>                     | <b>0,817</b>  | -0,034        | -0,263        |
| <b>Cr</b>                     | 0,471         | 0,184         | -0,500        |
| <b>Cu</b>                     | <b>-0,811</b> | -0,270        | -0,096        |
| <b>Fe</b>                     | 0,393         | <b>-0,810</b> | -0,150        |
| <b>K</b>                      | -0,135        | <b>-0,745</b> | 0,302         |
| <b>Mg</b>                     | <b>0,698</b>  | -0,194        | 0,252         |
| <b>Mn</b>                     | 0,475         | -0,556        | 0,470         |
| <b>Ni</b>                     | 0,523         | -0,472        | 0,318         |
| <b>P</b>                      | <b>0,694</b>  | -0,456        | -0,329        |
| <b>S</b>                      | -0,555        | <b>-0,731</b> | -0,106        |
| <b>Sr</b>                     | 0,324         | 0,288         | 0,192         |
| <b>V</b>                      | 0,302         | -0,487        | <b>-0,607</b> |
| <b>Zn</b>                     | -0,483        | -0,684        | -0,045        |
| <b>% Total de variância</b>   | 30,6          | 23,3          | 11,5          |
| <b>% Acúmulo de variância</b> | <b>30,6</b>   | <b>53,9</b>   | <b>65,4</b>   |

A primeira componente principal (PC1) é constituída principalmente pelas variáveis Ca (0,817), Mg (0,698) e P (0,694) com pesos positivos, e as concentrações de Al (-0,661) e Cu(-0,811) com valores de pesos negativos. Com os pesos obtidos é possível sugerir que há uma correlação entre estas variáveis conforme o sinal. Assim, a maior variabilidade nas amostras se deve às concentrações destes elementos. A concentração de Fe(-0,810), K (-0,745) e S(-0,731) são as variáveis que apresentam os maiores pesos na segunda componente principal (PC2). Estas variáveis, portanto, apresenta a segunda maior fonte de variabilidade dos dados, sendo também os seus valores próximos, estabelecendo uma provável correlação entre si. A terceira componente principal (PC3), a variabilidade destaca-se pela presença da concentração de V nas amostras de rações para cães.

A Figura 16 mostra a projeção PC1 x PC2 x PC3 que juntas descrevem 65,4% da variação total dos dados, nesta pode-se observar que há uma tendência para formação de três conjuntos de pontos, mas não uma separação completa entre as amostras analisadas. O conjunto superior com escores elevados na PC3 com agrupamento denso, em que todos os

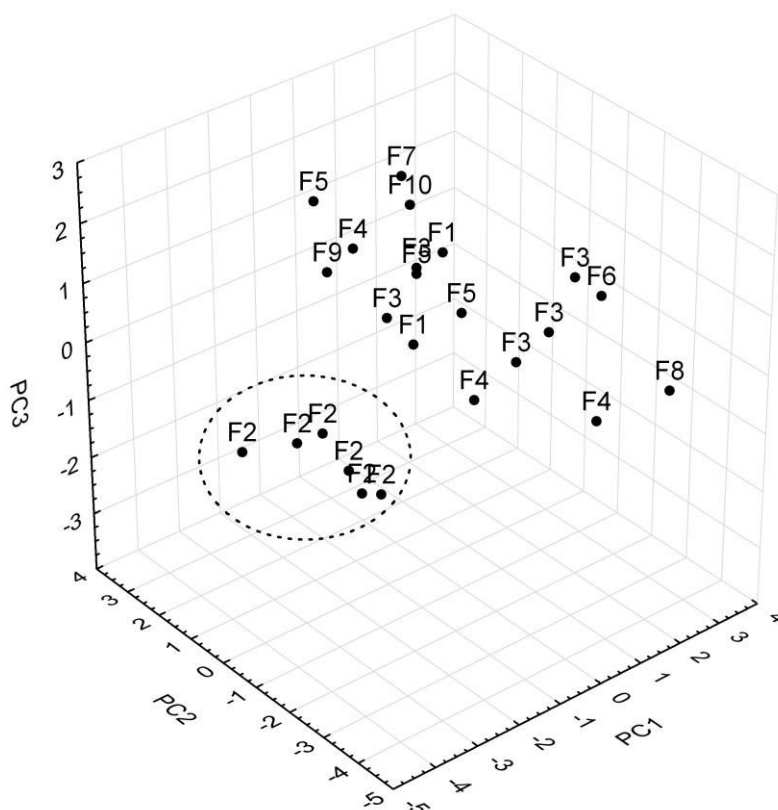
sabores se aglomeram, principalmente as amostras de sabor carne à direita, as que contêm vegetais, abaixo do conjunto de amostras que são misturas (identificação do fabricante denominada mix), sabor misto não identificado pelo fabricante. O conjunto com valores elevados na PC1 demonstra claramente a formação de um grupo específico de amostras com sabor carne, que apresenta pesos altos positivos para concentração de cálcio, magnésio e fósforo nas amostras, espera-se valores com concentrações elevadas destes elementos nos pontos mais altos do conjunto. O grupo com valores elevados na PC2 são rações formadas por carne e a adição de mais algum ingrediente como vegetais, cereais, frango e ossos. Este grupo apresenta pesos altos negativos para concentração de ferro, potássio e enxofre nas amostras, influenciando na variabilidade dos dados.

**Figura 16.** Gráfico de escores para a projeção PC1 x PC2 x PC3, considerando o parâmetro sabor para as rações para cães.



Na Figura 17, pode-se observar o agrupamento das rações de cães, que se identificavam como fabricante denominada F2. Este agrupamento deve-se principalmente pelas concentrações de Al e Cu encontradas nas amostras, como foi supracitado.

**Figura 17.** Gráfico de escores para a projeção PC1 x PC2 x PC3, considerando a identificação dos fabricantes para as rações para cães



Em rações para gatos, foi observado que as três primeiras componentes principais representam 64,6% da variabilidade total dos dados, sendo suficiente para descrever o sistema formado por 17 amostras. Na Tabela 16 estão mostrados os valores de peso para as três primeiras PCs, considerando o sabor, em rações para gatos.

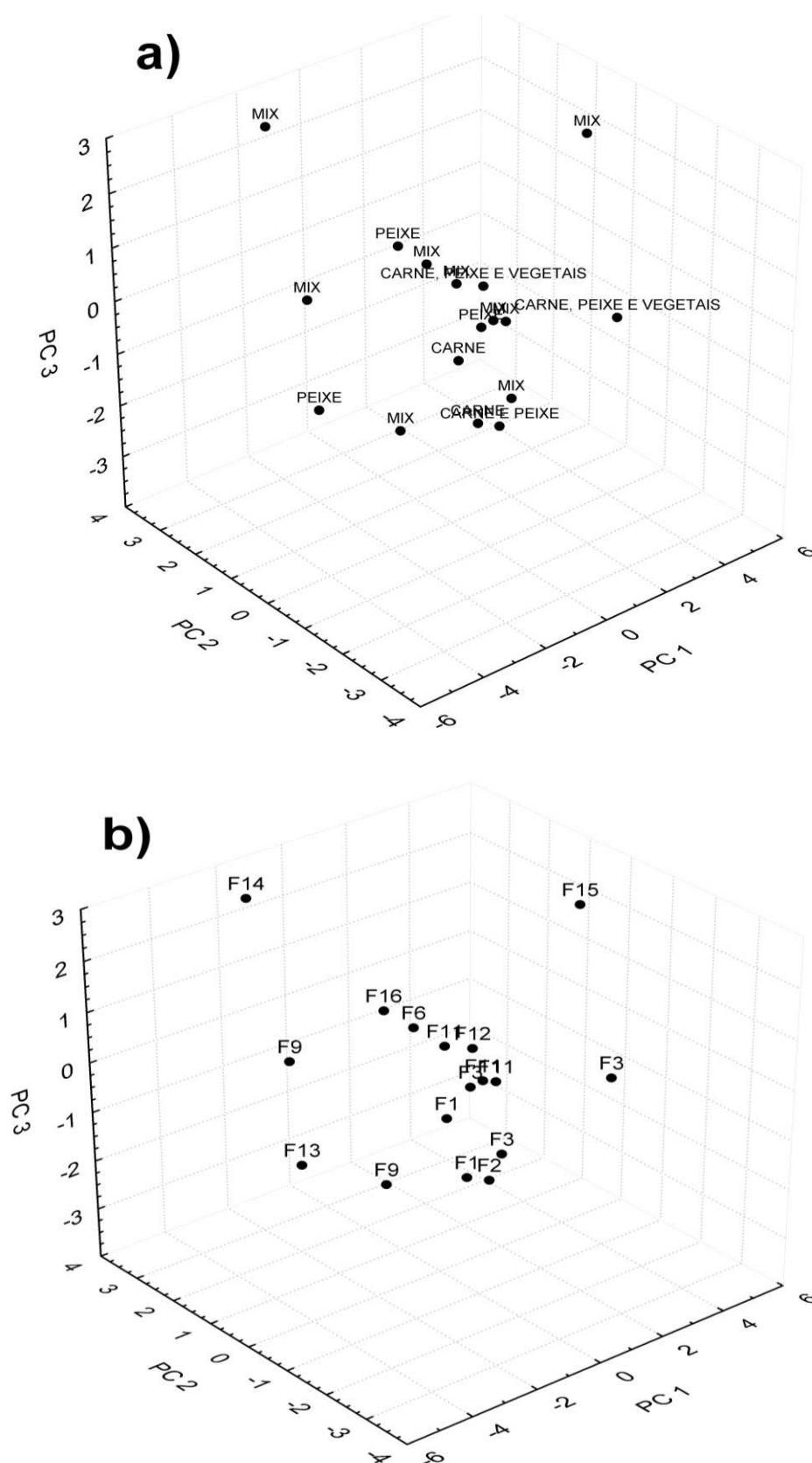
**Tabela 16:** Valores de pesos para as três primeiras componentes principais.

|                               | <b>PC1</b>   | <b>PC2</b>    | <b>PC3</b>    |
|-------------------------------|--------------|---------------|---------------|
| <b>Al</b>                     | <b>0,769</b> | 0,003         | 0,237         |
| <b>Ba</b>                     | <b>0,816</b> | 0,376         | 0,082         |
| <b>Ca</b>                     | <b>0,796</b> | -0,205        | -0,300        |
| <b>Cr</b>                     | 0,302        | 0,255         | <b>-0,618</b> |
| <b>Cu</b>                     | -0,057       | <b>-0,792</b> | 0,275         |
| <b>Fe</b>                     | <b>0,774</b> | -0,365        | 0,299         |
| <b>K</b>                      | -0,273       | 0,312         | -0,360        |
| <b>Mg</b>                     | <b>0,629</b> | 0,443         | 0,518         |
| <b>Mn</b>                     | 0,041        | -0,178        | <b>0,769</b>  |
| <b>Ni</b>                     | <b>0,677</b> | -0,264        | -0,002        |
| <b>P</b>                      | 0,482        | -0,246        | -0,465        |
| <b>S</b>                      | -0,176       | <b>-0,764</b> | -0,348        |
| <b>Sr</b>                     | 0,564        | -0,248        | -0,417        |
| <b>V</b>                      | <b>0,620</b> | -0,213        | -0,100        |
| <b>Zn</b>                     | -0,304       | <b>-0,862</b> | 0,110         |
| <b>% Total de variância</b>   | 30,5         | 19,3          | 14,8          |
| <b>% Acúmulo de variância</b> | <b>30,5</b>  | <b>49,8</b>   | <b>64,6</b>   |

A primeira componente principal (PC1) representa 30,5% da variabilidade dos dados e é constituída principalmente pelas variáveis Al, Ba, Ca e Fe, que apresentam pesos mais elevados e próximos entre si, sugerindo-se que a maior variabilidade nas amostras pode estar ligada a variação na concentração destes elementos.

Na PC2 os maiores escores podem ser observados para Cu, S e Zn, sendo responsáveis pela segunda maior variabilidade dos dados (19,3%). Os elementos que apresentam pesos elevado na PC3 são o Mn (0,768) e o Cr (-0,618), com sinais de pesos contrários, contribuindo com 14,8% da variância dos dados nesta PC. Esta situação mostra uma inversabilidade entre as suas concentrações nas amostras. O gráfico de escores para PC1 x PC2 x PC3 está apresentado na Figura 18. Percebe-se que não há tendência na formação de grupos, sugerindo que estas rações sejam basicamente formuladas a partir de ingredientes semelhantes, tanto a descrição dos sabores (Figura 18-a) e como a identificação dos fabricantes (Figura 18-b)

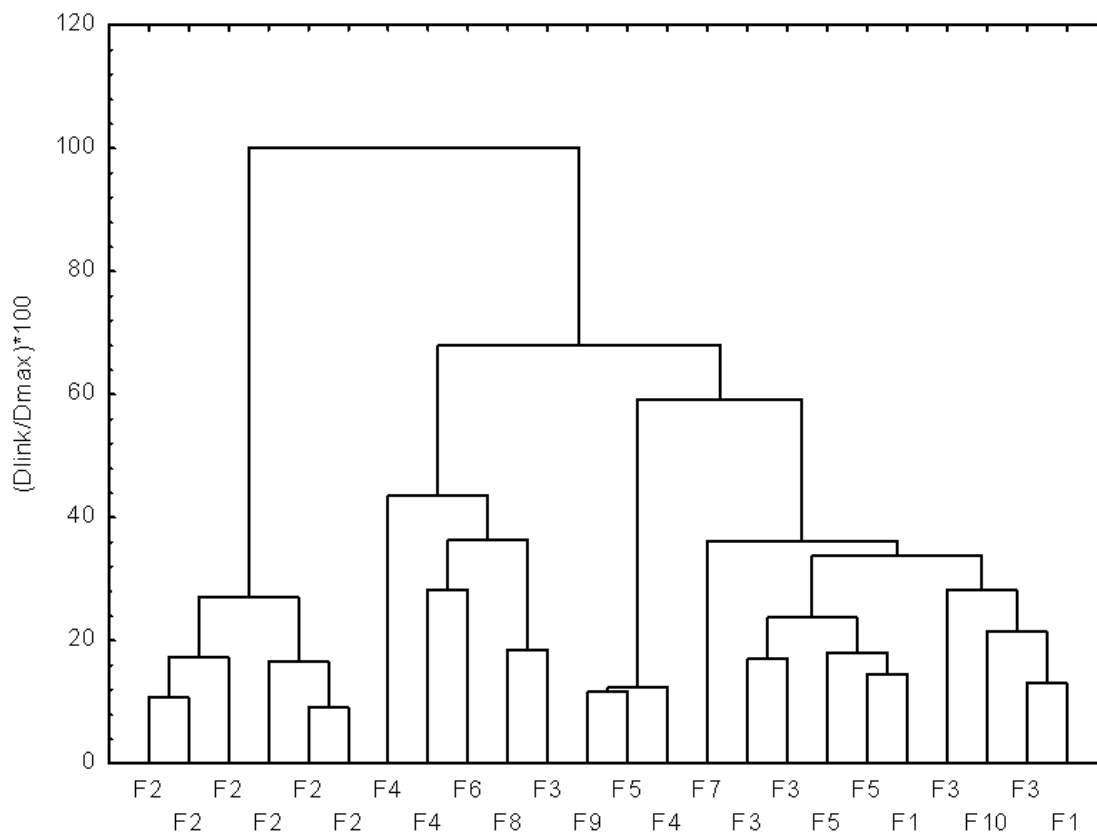
**Figura 18.** Gráfico de escores das amostras de rações para gatos para PC1 X PC2 X PC3: (a) sabores e (b) fabricantes



---

A análise de agrupamento hierárquico (HCA) foi aplicada aos dados auto-escalados. O método de ligação foi usado para agrupamento das amostras com a medida Euclidiana das distâncias. Um procedimento acumulativo hierárquico, em que se centram os dados na média e divide-se pelo desvio padrão, de forma que todas as variáveis passam a ter a mesma importância, foi empregado para estabelecer conjuntos. A HCA foi aplicada para as amostras de cães conforme a especificação da marca do produto, uma vez que as amostras de gatos não apresentaram tendência na formação de grupos específicos, pela PCA. Os resultados obtidos estão apresentados pelo dendograma na Figura 19. Para a distância de 72% de dissimilaridades entre as amostras pode-se observar a existência de dois agrupamentos.

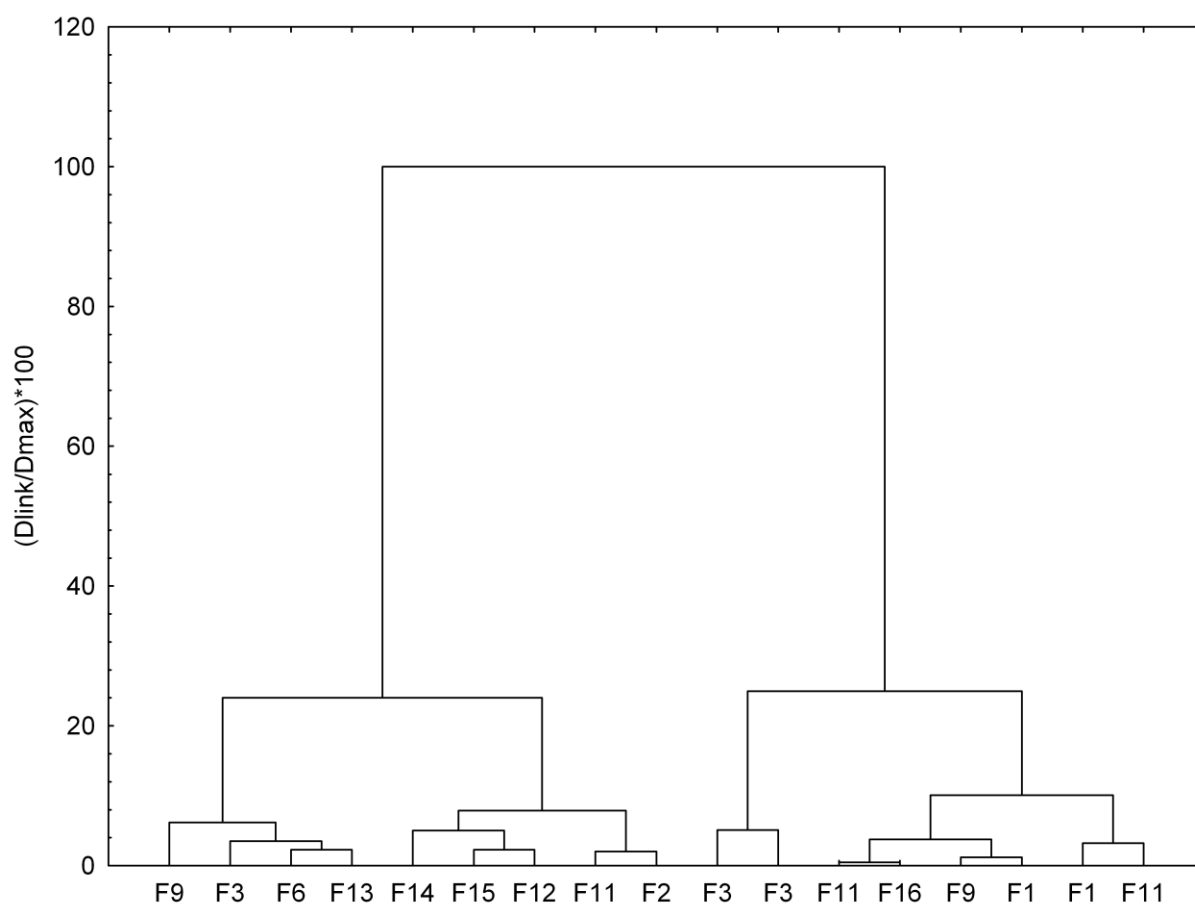
**Figura 19.** Dendograma para as rações de cães: cálculo da distância Euclidiana e método de ligação Ward's.



O primeiro com a marca F2 e o segundo conjunto com as demais marcas (F1 a F10).. A separação da F2 deu-se principalmente pela concentração de Al e Cu, conforme foi observado na PCA. No entanto, é preciso enfatizar que, de forma geral, não existe tendência quanto à diferenciação para as demais marcas (fabricantes), uma vez que a produção destes alimentos faz uso de vários de ingredientes, muitas vezes não adicionados nas embalagens.

Para as amostras de gatos não foi observado nenhuma tendência específica de agrupamento, conforme pode ser mostrado na Figura 20. Pode ressaltar também a falta de especificação dos ingredientes utilizados pelos fabricante na produção das rações de gatos.

**Figura 20.** Dendograma para as rações de gatos: cálculo da distância Euclidiana e método de ligação Ward's.



## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O método de digestão otimizado utilizou a combinação de um ácido oxidante ( $\text{HNO}_3$ ) diluído e um agente oxidante auxiliar ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) para a determinação da composição mineral de amostras de rações de cães e gatos. Uma porção da mistura reacional de reagentes diluídos ( $\text{HNO}_3$  e  $\text{H}_2\text{O}_2$ ) foi otimizada a partir da utilização do planejamento fatorial  $2^2$ , visando o desenvolvimento e a eficiência do método de decomposição aplicado a rações destinadas a cães e gatos com digestão das amostras assistidas por micro-ondas.

Através do planejamento fatorial e a metodologia de superfície de resposta, foi possível ajustar as condições operacionais do ICP OES com configuração axial e fixar as condições operacionais em  $1,0 \text{ L min}^{-1}$  para a vazão do gás de nebulização da amostra e 1,2 kW para a potência de radiofrequência empregando um planejamento fatorial  $3^2$  para duas variáveis.

Os valores máximos de concordância das concentrações de S, Al, Ca, Cu, K, Mg, Mn, P, Zn, Sr, Cd, Co, Fe, Ni, Ba, Cr e V, nos materiais de referência variaram entre  $80 \pm 4$  (Cr) e  $117 \pm 5\%$  (Cd), para o método de digestão assistida por micro-ondas. A precisão foi expressa como desvio padrão relativo (%RSD) foi menor que 5% exceto para Co (15%) e Ni (10%). Logo, os valores obtidos para concordâncias e %RSD indicam uma boa exatidão e precisão, respectivamente, para o método otimizado.

O método desenvolvido destaca-se pela determinação multielementar, a rapidez de análise, boa precisão e exatidão e utilização de ácidos diluídos, mostrando-se adequado para a quantificação de S, Al, Ca, Cu, K, Mg, Mn, P, Zn, Sr, Cd, Co, Fe, Ni, Ba, Cr e V, em rações para cães e gatos.

As concentrações dos elementos químicos foram comparados com valores limites apresentados por agências reguladoras. Para o fósforo foram observados valores regulares em relação à legislação brasileira. Os teores mínimos da maioria dos elementos encontraram-se abaixo do permitido pela AAFCO. Foi verificada uma pequena variação da concentração dos íons em relação à destinação animal. Os valores máximos de Al, Cu e Sr foram observados em rações para cães e as maiores concentrações de Fe e Zn foram notadas em rações para gatos. As concentrações de Ba, Ca, Cr, K, Mg, Mn, Ni, P, S e V apresentaram valores semelhantes em ambas as destinações animais.

A análise de componentes principais foi eficiente para observar as tendências das amostras de rações para cães e gatos consumidas no Estado de Sergipe. A matriz de dados foi

---

construída, separadamente, para amostras de rações para cães e gatos, e 15 variáveis (concentração de Al, Ca, Cu, K, Mg, Mn, P, Zn, Sr, Cd, Co, Fe, Ni, Ba, Cr, V e S), em que as três primeiras PCs totalizaram uma variabilidade de 65,4% nas amostras para cães e 64,6% em rações para gatos.

A partir das análises exploratórias utilizando PCA e HCA, pode-se concluir que as rações destinadas aos animais de estimação (cães e gatos) apresentam uniformidade, uma vez que não houve tendência na formação de grupos distintos para uma possível classificação, considerando as variáveis analisadas. Com exceção da marca F2, que foi separada do conjunto conforme a predominância das concentrações de Al e Cu nas amostras destinadas para cães.

---

## 7. PERSPECTIVAS FUTURAS

Abaixo estão apresentadas propostas de trabalhos futuros com relação à quantificação simultânea multielementar. Dentre os trabalhos futuros pode ser pensado:

- Aplicar o método em amostras de rações para cães e gatos com outras especificidades em relação à umidade.
- Correlacionar às concentrações dos elementos determinados em rações secas com rações com maiores valores de umidade.
- Analisar um conjunto de amostras de rações de cães e gatos comercializadas em outros estados brasileiros.
- Determinar a composição de outras rações animais.

---

## REFERÊNCIAS

AAFCO – Association of American Feed Control Officials. AAFCO Official Publication. Second Edition, 2000.

ALOMAR, D.; HODGKINSON, S.; ABARZÚA, D.; FUCHSLOCHER, R.; ALVARADO, C.; ROSALES, E. Nutritional evaluation of commercial dry dog foods by near infrared reflectance spectroscopy, *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, v. 90, pp. 223-229, 2006.

AMAI, R. S.; DONATI, G. L.; NÓBREGA, J. A. Application of the interference standard method for the determination of sulfur, manganese and iron in foods by inductively coupled plasma mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, v. 706, pp. 223-228, 2011.

AMARASIRIWARDENA, D.; DURRANT, S. F.; LASZTITY, A.; KRUSHEVSKA, A.; ARGENTINE, M. D.; BARNES, R. M. Semiquantitative Analysis of biological Materials by Inductively Coupled Plasma-mass Spectrometry, *Microchemical Journal*, v. 56, pp. 352, 1997.

ANFALPET - Associação Nacional dos Fabricantes de Alimentos para Animais de Estimação. Manual do programa integrado de qualidade pet. 2011.

ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), Guia para Validação de Métodos Analíticos e bioanalíticos. Resolução – RE nº 899, de 29 de maio de 2003.

ARAUJO, R. G. O.; MACEDO, S. M.; KORN, M. G. A.; PIMENTEL, M. F.; BRUNS, R. E.; FERREIRA, S. L. C. Mineral Composition of Wheat Flour Consumed in Brazilian Cities, *Journal Brazilian Chemical Society*, v. 19, pp. 935-942, 2008.

AZEVEDO, F. A.; CHASIN, A. A. da M. Metais: gerenciamento da toxicidade, São Paulo, Atheneu, 2003.

BARIN, J. S.; PEREIRA, J. S. F.; MELLO, P. A.; KNORR, C. L.; MORAES, D. P.; MESKO, M. F.; NÓBREGA, J. A.; KORN, M. G. A.; FLORES, E. M. M. Focused microwave-induced combustion for digestion of botanical samples and metals determination by ICP OES and ICP-MS. *Talanta*, v. 94, pp. 308-314, 2012.

BATISTA, B. L.; RODRIGUES, J. L.; SOUZA, S. S.; SOUZA, V. C. O.; BARBOSA Jr., F. Mercury speciation in seafood samples by LC-ICP-MS with a rapid ultrasound-assisted extration procedure: Application to the determination of Mercury in Brazilian seafood samples. *Food Chemistry*. v.126, pp. 2000-2004, 2011.

BEDNAR, G. E.; MURRAY, S. M.; PATIL, A. R. et al. Selected animal and plant protein sources affect nutrient digestibility and fecal characteristic of ileally cannulated dogs. *Archives of Animal Nutrition*, v.53, pp. 127-140, 2000.

BIZZI, C. A. ; FLORES, E. M. M. ; BARIN, J. S. ; GARCIA, E. E. ; NÓBREGA, J. A. Understanding the process of microwave-assisted digestion combining diluted nitric acid and oxygen as auxiliary reagent. *Microchemical Journal*, v. 99, p. 193-196, 2011<sup>a</sup>.

BIZZI, C. A.; BARIN, J. S.; GARCIA, E. P.; NÓBREGA, J. A.; DRESSLER, V. L.; FLORES, É. M. M. Improvement of microwave-assisted digestion of milk powder with diluted nitric acid using oxygen as auxiliary reagent. *Spectrochimica Acta B*, v. 66, p. 394-398, 2011<sup>b</sup>.

BIZZI, C. A.; BARIN, J. S.; MÜLLER, E. I.; SCHMIDT, L.; NÓBREGA, J. A.; FLORES, E. M. M. Evaluation of oxygen pressurized microwave-assisted digestion of botanical materials using diluted nitric acid. *Talanta*, v. 83, p. 1324-1328, 2011<sup>c</sup>.

BOSS, C. B.; FREEDEN, K. J. *Concepts, Instrumentation and Techniques in Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*. 2 ed. USA, Perkin-Elmer Corp, 1997.

BOUSMANS, P. W. J. M. *Inductively Coupled Plasma Emission Spectroscopy*, Part 1, John Wiley & Sons, New York, 1987.

BRESSY, F. C.; BRITO, G. B.; BARBOSA, I. S.; TEIXEIRA, L. S. G.; KORN, M. G. A. Determination of trace element concentrations in tomato samples at different stages of maturation by ICP OES and ICP-MS following microwave-assisted digestion. *Microchemical Journal*, IN PRESS, 2012.

BRITO, J. Q. A.; SILVA, C. S.; ALMEIDA, J. S.; KORN, M. G. A.; KORN, M.; TEIXEIRA, L. S. G. Ultrasound-assited synthesis of ethyl esters from soybean oil via homogeneous catalysis. *Fuel Processing Technology*, v. 95, pp. 33-36, 2012.

BRITO, N. M.; AMARANTE JUNIOR, O. P.; POLESE, L.; RIBEIRO, M. L. Validação de Métodos Analíticos: Estratégia e Discussão, *Revista Ecotoxicologia e Meio Ambiente*, v. 13, pp. 129-146, 2003.

BUENO A. L.; CZEPIELEWSKI M. A. The Importance for Growth of Dietary Intake of Calcium and Vitamin D. *Jornal de Pediatria*, v. 84, pp. 386-394, 2008.

CARCIOFI, A. C. Fontes De proteína e carboidratos para cães e gatos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.37, pp. 28-41, 2008.

CASTRO, J. T.; SANTOS, E. C.; SANTOS, W. P. C.; COSTA, L. M.; KORN, M.; NÓBREGA, J. A.; KORN, M. G. A. A Critical Evaluation of Digestion Procedures for Coffee Samples Using Diluted Nitric Acid in Closed Vessels for Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry, *Talanta*, v.78, pp. 1378-1382, 2009.

CAVALARI, A. P. M.; DONZELE, J. L.; VIANA, J. A. M.; ABREU, L. T.; OLIVEIRA, A. L. S.; FREITAS, L. S.; PEREIRA, A. A.; CARCIOFI, A. C. Determinação do valor nutritivo de alimentos energéticos e protéicos utilizados em rações para cães adultos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.35, pp. 1985-1991, 2006.

CAVA-MONTESINOS, P.; CERVERA, M. L.; PASTOR, A.; GUARDIA, M. Determination of As, Sb, Se, Te and Bi in Milk by slurry sampling hydride generation atomic fluorescence spectrometry, *Talanta*, v. 62, pp. 175, 2004.

CELIK, U.; OEHLenschLAGER, J. High contents of cadimium, lead, zinc and copper in popular fisher products sold in Turkish supermarkets. *Food Control*, v.18, pp. 258-261, 2007.

CORDELLA, C.; MOUSSA, I.; MARTEL, A. C.; SBIRRAZZOULI, N.; LIZZANI-CUVELIER, L. Recent developments in food characterization and adulteration detection: technique-oriented perspectives. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, v. 50, pp. 1751-1764, 2002.

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

DUKE, J. A. Ethnobotanical observations on choco indians. *Economic Botany*, v. 24, pp. 344-366, 1970.

DURAN, A.; TUZEN, M.; SOYLAK, M. Trace element concentrations of some pet food's commercially available in Turkey. *Food and Chemical Toxicology*, v. 48, pp. 2833-2837, 2010.

DZANIS, D. A. Petfood types quality assessment and feeding management. *Petfood technology*, pp. 68-73, 2003.

DZANIS, D. A. The Association of American Feed Control Officials Dog and Cat Food Nutrient Profiles: Substantiation of Nutritional Adequacy of Complete and Balanced Pet food's in the United States, *The Journal of Nutrition*, pp. 2535-2539, 1994.

ELIAS C.; FERNANDES, E. A. N.; BACCHI, M. A. Neutron activation analysis for assessing chemical composition of dry dog foods, *Journal Radioanaytical Nuclear Chemistry*, v. 291, pp. 245-250, 2012.

FASCETTI, A. J.; MORRIS, J. G. Zinc and copper nutriture in the cat. *Nutritional biotechnology in the feed and food industries*. Nottingham, Alltech, pp. 475-479, 2002.

FERREIRA, H. S.; SANTOS, A. C. N.; PORTUGAL, L. A.; COSTA, A. C. S.; MIRÓ, M.; FERREIRA, S. L. C. Pre-concentration Procedure for Determination of Copper and Zinc in Food Samples by Sequential Multi-element Flame Atomic Absorption Spectrometry. *Talanta*, v. 77, pp. 73-76, 2008.

FERREIRA, M. M. C.; MORGANO, M. A.; QUEIROZ, S. C. N.; MANTOVANI, D. M. B. Relationships of the minerals and fatty acid contents in processed turkey meat products. *Food Chemistry*, v. 69, pp. 259-265, 2000.

FERREIRA, S. L. C.; KORN, M. G. A.; FERREIRA, H. S.; SILVA, E. G. P.; ARAUJO, R. G. O.; SOUZA, A. S.; MACEDO, S. M.; LIMA, D. C.; JESUS, R. M.; AMORIM, F. A. C.;

---

BOSQUE-SENDRA, J. M. Application of multivariate techniques in optimization of spectroanalytical methods. *Applied Spectroscopy Reviews*, v. 42, pp. 475-491, 2007.

FRANÇA, J.; SAAD, F. M. O. B.; SAAD, C. E. P.; SILVA, R. C.; REIS, J. S. Avaliação de ingredientes convencionais e alternativos em rações de cães e gatos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.40, pp. 222-231, 2011.

FRANÇA, J.; SAAD, F. M. O. B.; SILVA JUNIOR, J. W.; NUMAJIRI, L. N.; PINTO, A. B.; CHIZZOTTI, A. F. Fontes Suplementares de zinco para gatos adultos. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, v.9, pp. 449-459, 2008.

GONÇALVES, L. C.; BORGES, I.; FERREIRA, P. D. S. Alimentação de gado de leite. FEPMVZ, Belo Horizonte, 2009.

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

HARRIS, D. C. *Análise Química Quantitativa*. 5 ed. Rio de Janeiro, LTC, 2001.

HOPKE, P. K. The evolution of chemometrics. *Analytica Chimica Acta*, v. 500, pp. 365-377, 2003.

IKEM, A.; NWANKWOALA, A.; ODUEYUNGBO, S.; NYAVOR, K.; EGIEBOR, N. Levels of 26 elements in infant formula from USA, UK, and Nigeria by Microwave digestion and ICP OES. *Food Chemistry*, v. 77, pp. 439-447, 2002.

INMETRO DOQ-CGCRE-008: Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos, 2003.

KORN, M. G. A.; SANTOS, G. L.; ROSA, S. M.; TEIXEIRA, L. S. G.; OLIVEIRA, P. V. Determination of cadmium and lead in cetacean *Dolphinidae* tissue from the coast of Bahia state in Brazil by GFAAS. *Microchemical Journal*, v. 96, pp. 12-16, 2010.

KRUG, F. J. (Ed.); Métodos de preparo de amostras. VI Workshop sobre Preparo de Amostras, Santa Maria, 2006.

KUCHENBECKER, M. ; LOPES-SILVA, L. ; PIMENTA, F. ; PEDROSA-SOARES, A. C. ; BABINSKI, M. . Estratigrafia da porção basal do Grupo Bambuí na região de Arcos (MG): uma contribuição a partir de testemunhos de sondagem. *Geologia USP. Série Científica*, v. 11, p. 45-54, 2011.

LEES, M. *FOOD AUTHENTICITY AND TRACEABILITY*. WOODHEAD PUBLISHING, CAMBRIDGE, 2003.

LOPES, W. L.; SANTELLI, R. E.; OLIVEIRA, E. P.; CARVALHO, M. F. B.; BEZERRA, M. A. Application of multivariate techniques in the optimization of a procedure for the

determination of bioavailable concentrations of Se and As in estuarine sediments by ICP OES using a concomitant metals analyzer as a hydride generator. *Microchemical Journal*, v. 91, pp. 153-158, 2009.

MACHADO, R. M. D.; TOLEDO, M. C. F.; VICENTE, E. Sulphites in foods. *Brazilian Journal of Foods*, V. 9, pp. 265-275, 2006.

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 30, DE 05 DE AGOSTO DE 2009. Publicado no Diário Oficial da União de 07/08/2009, Seção 1, Página 13.

MATOS, G. D.; PEREIRA-FILHO, E. R.; POPPI, R. J.; ARRUDA, M. A. Z. Análise exploratória em química analítica com emprego de quimiometria: PCA e HCA de imagens. *Revista Analítica*, nº 06, pp. 38-50, 2003.

MEDEIROS, R. J.; DOS SANTOS, L. M. G.; FREIRE, A. S.; SANTELLI, R. E.; BRAGA, A. M. C. B.; KRAUSS, T. M.; JACOB, S. C. Determination of inorganic trace elements in edible marine fish from Rio de Janeiro State, Brazil. *Food Control*, v.23, pp. 535-541, 2012.

MEEKER, D. L. *Essential Rendering: all about the animal by-products industry*. Arlington: Kirby Lithographic Company, Canadá, pp. 1-302, 2006.

MENDIL, D.; DEMIRCI, Z.; TUZEN, M.; SOYLAK, M. Seasonal investigation of trace element contents in commercially valuable fish species from the Black sea, Turkey. *Food and Chemical Toxicology*. v.48, pp. 865-870, 2010.

MERMET, J. M. Use of Magnesium as a Test Element for Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry Diagnostics, *Analytica Chimica Acta*, v.250, pp. 85-94,1991.

MONTASER, A.; GOLIGHTLY, D. W. *Inductively Coupled Plasmas in Analytical Atomic Spectroscopy*. 2 ed. New York, VHC Publisher, 1992.

MORGANO, M. A.; RABONATO, L. C.; MILANI, R. F.; MIYAGUSKU, L.; BALIAN, S. C. Assessment of trace elements in fishes of Japanese foods marketed in São Paulo (Brazil). *Food Control.*, v. 22, pp. 778-785, 2011.

MORTE, E. S. B.; BARBOSA, I. S.; SANTOS, E. C.; NÓBREGA, J. A.; KORN, M. G. A. Axial view inductively coupled plasma optical emission spectrometry for monitoring tin concentration in canned tomato sauce samples. *Food Chemistry*, v. 131, pp. 348-352, 2012.

NAOZUKA, J.; VIEIRA, E. C.; NASCIMENTO, A. N.; OLIVEIRA, P. V. Elemental Analysis of Nuts and Seeds by Axially Viewed ICP OES, *Food Chemistry*, v.124, pp.1667-1672, 2011.

NARDI, E. P.; EVANGELISTA, F. S.; TORMEN, L.; SAIN'TPIERRE, T. D.; CURTIUS, A. J.; de SOUZA, S. S.; BARBOSA Jr., F. The use of inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) for the determination of toxic and essential elements in different types of food samples. *Food Chemistry*, v.112, pp.727-732, 2009.

NASCIMENTO, I. R.; JESUS, R. M.; SANTOS, W. N. L.; SOUZA, A. S.; FRAGOSO, W. D.; REIS, P. S. Determination of the mineral composition of fresh bovine milk from the milk-producing areas located in the state of Sergipe in Brazil and evaluation employing exploratory analysis. *Microchemical Journal*, v. 96, pp. 37-41, 2010.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Basic nutrient requirements for healthy adult dogs. Washington: National Academic, pp. 2-13, 2003.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Nutrient requirements of dogs and cats. Washington: National Academies, pp. 398, 2006.

NAUTILUS – Estrôncio. Disponível em: <http://nautilus.fis.uc.pt/st2.5/scenes-p/elem/e03840.html> Acesso em: 03/06/2012.

NETO, B. B.; SCARMINIO, E. S.; BRUNS, R. E. Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria. 3ed. Campinas, Editora da Unicamp, 2003.

NÓBREGA, J. A.; PIROLA, C.; FIALHO, L. L.; ROTA, G.; de CAMPOS JORDÃO, C. E. K. M. A.; POLLO, F. Microwave-assisted digestion of organic samples: How simple can it become? *Talanta*, v. 98, pp. 272-276, 2012.

NOEL, R. J.; KREBS, S. Non-pet food's label design e format guide. Assossiation of american feed control officials, pp. 1-36, 2010.

NUNES, L. S.; BARBOSA, J. T. P.; FERNANDES, A. P.; LEMOS, V. A.; SANTOS, W. N. L.; KORN, M. G. A.; TEIXEIRA, L. S. G. Multi-element determination of Cu, Fe, Ni, Zn contente in vegetable oils samples by high-resolution continuum source atomic absorption spectrometry and microemulsion sample preparation. *Food Chemistry*, v. 127, pp. 780-783, 2011.

NUTRIÇÃO EM FOCO – Enxofre. Disponível em: <http://www.nutricaoemfoco.com/2008/11/29/enxofre/> Acesso em: 15/05/2012.

OEHEME, F. W. Toxicity of heavy metals in the environment – part 1 and 2, Hazardous and Toxic Substances. New York, pp. 970, 1979.

OGA, S.; CAMARGO, M. M. A.; BATISTUZZO, J. A. O. Fundamentos de Toxicologia. 3.ed. São Paulo, Atheneu, pp. 690, 2008.

OLIVEIRA, A. P. Determinação de Cu, Zn e Se em Soro Humano por ICP-MS. *Revista Analytica*, pp. 76-83, 2006.

OLIVEIRA, E; Sample preparation for atomic spectroscopy: evolution and future trends, *J. Braz. Chem. Soc.*, v.14, pp. 174-182, 2003.

OLIVEIRA, T. C. Fósforo: função, metabolismo e recomendação. *Revista Digital de Nutrição*, Ipatinga, v. 1, pp. 1-24, 2007.

PETBR, A força dos nutrientes. Disponível em: <http://www.petbrasil.com.br> Acesso em: 07/11/2011.

ROCHA, M. A. Biotecnologia na nutrição de cães e gatos. Revista Brasileira de Zootecnia, v.37, pp. 42-48, 2008.

SANTELLI, R. E.; FREIRE, A. S.; OLIVEIRA, E. P.; LEMOS, V. A.; NOVAES, C. G.; BEZERRA, M. A. Use of Functionalized Resin for Matrix Separation and Trace Elements Determination in Petroleum Produced Formation Water by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry, Analytical Chemistry, pp. 1-8, 2012.

SANTOS, J. P. F.; SAAD, F. M. O. B.; ROQUE, N. C.; AQUINO, A. A.; PIRES, C. P.; GERALDI, L. F. Yucca schidigera e zeólita em alimento para gatos adultos e seus efeitos na excreção de minerais. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v. 63, pp. 687-693, 2011<sup>a</sup>.

SANTOS, J. S.; TEIXEIRA, L. S. G.; ARAÚJO, R. G. O.; FERNANDES, A. P.; KORN, M. G. A.; FERREIRA, S. L. C. Optimization of the Operating Conditions Using Factorial Designs for Determination of Uranium by Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry, Microchemical Journal, v. 97, pp. 113-117, 2011<sup>b</sup>.

SANTOS, W. N. L.; SILVA, E. G. P.; FERNANDES, M. S.; ARAÚJO, R. G. O.; COSTA, A. C. S.; VALE, M. G. R.; FERREIRA, S. L. C. Determination of Copper in Powdered Chocolate Samples by Slurry-sampling Flame Atomic-absorption Spectrometry, Anal Bioanal Chem, v. 382, pp. 1099-1102, 2005.

SANTOS, W. P. C.; CASTRO, J. T.; BEZERRA, M. A.; FERNANDES, A. P.; FERREIRA, S. L. C.; KORN, M. G. A. Application of multivariate optimization in the development of an ultrasound-assisted extraction procedure for multielemental determination in bean seeds samples using ICP OES. Microchemical Journal, v.91, pp. 153-158, 2009.

SANTOS, W. P. C.; HATJE, V.; LIMA, L. N.; TRIGNANO, S. V.; BARROS, F.; CASTRO, J. T.; KORN, M. G. A. Evaluation of sample preparation (grinding and sieving) of bivalves, coffee and cowpea beans for multi-element analysis. Microchemical Journal, v.89, pp. 123-130, 2008.

SILVA, F. V.; TREVIZAN, L. C.; SILVA, C. S.; NOGUEIRA, A. R. A.; NÓBREGA, J. A. Evaluation of inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometers With Axially and Radially Viewed Configurations, Spectrochimica Acta, v.57, pp. 1905-1913, 2002.

SIQUEIRA, E. M. A.; ALMEIDA, S. G.; ARRUDA, A. Papel adverso do ferro no organismo. Comunicação em Ciência e Saúde, v.17, pp. 229-236, 2006.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. Princípios de Análise Instrumental, 5 Ed. Bookman, Porto Alegre, 2002.

SVIHUS, B.; UHLEN, A. K.; HARSTAD, O. M. Effect of starch granule structure, associated components and processing on nutritive value of cereal starch: a review. Animal Feed Science and Technology, v.122, pp. 303-320, 2005.

---

TAY, K. M.; BUTLER, C. Methodologies for experimental design: A survey, comparison, and future predictions. *Quality Engineering*, v.11, pp. 343-356, 1999.

TEIXEIRA, A. P.; QUINTELLA, C. M.; KORN, M. G. A.; FERNANDES, A. P.; CASTRO, M. T. P. O. Determinação de Mn e Zn em arroz empregando espectrometria de fluorescência de raios X de energia dispersiva. *Química Nova*, v. 35, pp. 1133-1136, 2012.

TEÓFILO, R. F.; FERREIRA, M. M. C. Quimiometria II: Planilhas Eletrônicas para Cálculos de Planejamentos Experimentais. Um Tutorial. *Química Nova*, v.29, pp. 338, 2006.

THOMPSON, A. Ingredients: where pet food's starts. *Topics in Companion Animal Medicine*, v.23, pp. 127-132, 2008.

TORMEN, L.; TORRES, D. P.; DITTERT, I. M.; ARAÚJO, R. G. O.; FRESCURA, V. L. A.; CURTIUS, A. J. Rapid assessment of metal contamination in commercial fruit juices by inductively coupled mass spectrometry after a simple dilution. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 24, pp. 95-102, 2011.

TRYFONIDOU, M. A.; STEVENHAGEN, J. J.; VAN DEN BEMD, G. J. C. M.; OOSTERLAKEN-DIJKSTERHUIS, M. A.; DELUCA, H. F.; MOL, J. A.; VAN DEN BROM, W. E.; VAN LEEUWEN, J. P. T. M.; HAZEWINCKEL, H. A. W. Moderate cholecalciferol supplementation depresses intestinal calcium absorption in growing dogs. *Journal of Nutrition*, pp. 2644-2650, 2002.

TWONEY, L. N.; PETHICK, D. W.; ROWE, J. B.; CHOLT, M.; PLUSKE, J. R.; BROWN, W.; LAVISTE, M. C. The use sorghum and corn as alternative to rice in dog foods. *Journal of Nutrition*, v.132, pp. 1704-1705, 2002.

ULUOZLU, O. D.; TUZEN, M.; MENDIL, D.; SOYLAK, M. Assessment of trace element contents of chicken products from Turkey. *Journal of Hazardous Materials*, v.163, pp. 982-987, 2009.

ULUOZLU, O. D.; TUZEN, M.; MENDIL, D.; SOYLAK, M. Trace metal content in nine species of fish from the Black and Aegean Seas, Turkey. *Food Chemistry*, v. 104, pp. 835-840, 2007.

WOLD, S.; ESBENSEN, K.; GELADI, P. Principal component analysis. *Chemometrics and Intelligent Laboratory*, v. 2, pp. 37-52, 1992.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Barium and barium compounds, IPCS - Concise International Chemical Assessment Document 33, 2001.

ZANI, A. Sindirações – Setor de Alimentação Animal, boletim trimestral, São Paulo, Dezembro, 2010.

ZICKER, S. C. Evaluating pet food's: how confident are you when you recommend a commercial pet food's? *Topics in Companion Animal Medicine*, v. 23, pp.121-126, 2008.

---

ZORAN, D. L. The carnivore connection to nutrition in cats. Journal of the American Veterinary Medical Association, v.221, pp. 1559, 2002.