



Planejamento de experimentos na determinação manganês em alface cultivada na região de Petrópolis por ICP-OES

Clenilson Sousa Junior¹, Gustavo Gomes de Araujo², Jean de Carvalho Araújo³, Lucas Aioubi Mustafá⁴, Thayane Caroline dos Santos Batista⁵

¹ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro (IFRJ)
(clenilson.sousa@ifrj.com.br)

² Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro (IFRJ)
(gustavoaxl@hotmail.com)

³ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro (IFRJ)
(jean.carvalhorj@gmail.com)

⁴ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro (IFRJ)
(lucasaouiubi@hotmail.com)

⁵ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro (IFRJ)
(thayane.caroline@yahoo.com.br)

Resumo

A alface (*Lactuca sativa* L.) é uma das hortaliças mais consumidas mundialmente, presente na dieta alimentar em diversas culturas por ser uma fonte de fibras e minerais. Devido ao aumento vertiginoso da produção e do consumo de alimentos por parte das indústrias de transformação e da população, respectivamente, uma maior quantidade de alimentos deverá estar disponível e, sendo assim, métodos para combater o desperdício deverão ser utilizados. Aliado a essa teoria, técnicas artificiais, como o uso de fertilizantes e pesticidas, vêm sendo amplamente empregadas no cultivo de alimentos para diminuir as perdas no campo. Entretanto, tais produtos podem conter metais pesados na sua composição, que são depositados nos vegetais e no solo, causando contaminação de corpos de água subterrâneos, além de contaminar o produto cultivado e, por fim, chegando ao consumidor. Neste trabalho, investigou-se a contaminação por manganês em folhas de alface dos tipos lisa e crespa, coletadas na cidade de Petrópolis, região serrana do Rio de Janeiro, cidade essa que fornece a maior parte das hortaliças consumidas no Estado. As amostras passaram por lavagem, secagem, moagem e digestão ácida. Os testes foram realizados por meio de um planejamento de experimentos e ao final, as amostras foram analisadas por técnica de ICP-OES.

Palavras-chave: Alface. Metais traços. Petrópolis.

Área Temática: Tema 12 - Impactos Ambientais.

Design of experiments of manganese determination in lettuce cultivated in Petrópolis region with ICP-OES technique

Abstract

*Lettuce (*Lactuca sativa* L.) is one of the most consumed vegetables worldwide, present in diet in many cultures to be a source of fiber and minerals. Due to increase of food for the population and industries transformation, a greater amount of food will be available and, therefore, methods to combat waste food should be used. Allied to this theory, artificial techniques such as the use of fertilizers and pesticides, have been widely used in the*



cultivation of food to reduce losses in the field. However, these products may contain heavy metals in the composition, which are deposited on plants and soil, causing contamination of water, as well as contaminating product grown and to consumer. In this work, we investigated the contamination by manganese in lettuce leaves smooth and wavy kinds in the city of Petrópolis, mountainous region of Rio de Janeiro, this city that provides most of the vegetables consumed in the state. The samples underwent washing, drying, grinding, and acid digestion. The tests were performed using a design of experiments and in the end the samples were analyzed by an ICP-OES.

Key words: Lettuce. Trace metals. Petrópolis.

Theme Area: Theme 12 - Environmental Impacts.

1 Introdução

A alface (*Lactuca sativa* L.) é uma planta herbácea presente na dieta de milhões de brasileiros (Sonnenberg, 1985; Lisboa *et al.*, 1990). Essa hortaliça é uma excelente fonte de vitaminas e minerais, além de possuir a vantagem de poder ser ingerida sem necessidade de cozinhar, o que mantém a integridade química de certos nutrientes (Maroto-Borreto, 1986; Camargo, 1992). O cultivo desse vegetal é usualmente realizado em canteiros, utilizando métodos de irrigação convencional, entretanto a demanda deste alimento faz com que sejam necessários o uso de produtos químicos para otimizar a produção como fertilizantes (Andrade, 1997). Esses fertilizantes são produtos químicos produzidos com a finalidade de fornecer ao solo, recursos indispensáveis ao crescimento das plantas. A adição desses produtos faz com que o solo fique rico em nutrientes limitantes ao crescimento, como nitrogênio, fósforo e potássio. Entretanto alguns fertilizantes podem conter metais traços em sua composição como Manganês (Mn), Alumínio (Al), Cromo (Cr) e Chumbo (Pb), que em determinadas concentrações podem ocasionar danos à saúde humana. Esses adubos sintéticos são produzidos com a utilização de material rochoso que contém essas substâncias indispensáveis ao crescimento vegetal, como rochas fosfatadas, e muitas vezes é inviável retirar esses metais traço que estão contidos na matéria prima dos fertilizantes (McLaughlin, Singh, 1999; Prochnow *et al.*, 2001).

O trabalho tem como objetivo analisar os metais traço presentes nas alfaces produzidas na Região Serrana do Rio de Janeiro, que são comercializadas para o consumo em diversas regiões do estado, sendo o segundo maior consumidor desta hortaliça e também um dos maiores produtores deste cultivável. A determinação desses metais foi feita utilizando a técnica de ICP-OES (Inductively Coupled Plasma - Optical Emission Spectrometry), que é uma análise robusta e eficaz, utilizada para quantificação de metais traço em concentrações extremamente baixas. O ICP-OES consiste na excitação do analítico vaporizado em um plasma de gás argônio ionizado, que possui alta energia e é capaz de excitar os elétrons das menores camadas de valência até níveis mais extremos. Estes elétrons ao retornarem para o estado fundamental emitem um comprimento de onda, que é a resposta da análise. Esta técnica analítica é amplamente utilizada para a análise de diversos elementos, por possuir limites de detecção extremamente baixos e também corrige interferentes apresentados em outras técnicas similares, como a absorção atômica de chama (Joaquim-UFSCar, 2007).

2 Metodologia

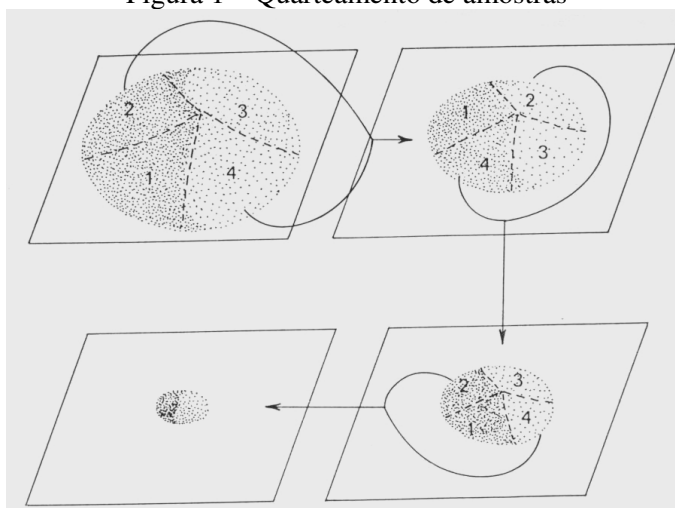
As amostras foram coletadas seguindo o método de amostragem em zigue-zague, em quatro pontos distintos, tanto para alface lisa, quanto para alface crespa, extraindo-se toda a



planta, incluindo a raiz. As amostras foram armazenadas em sacos ziplock, hermeticamente fechados para manter sua temperatura controlada e para evitar a contaminação da amostra no traslado do ponto de coleta ao laboratório. As amostras foram identificadas individualmente de acordo com seu ponto de coleta e tipo de alface.

Após a coleta, as amostras foram devidamente lavadas com água da torneira, seguidas pela lavagem com água destilada. Esse procedimento de lavagem é realizado para retirar os sedimentos retidos nas folhas e na raiz, impedindo quaisquer alterações no resultado da análise. Depois de lavadas, as amostras foram colocadas em vidro de relógio, previamente lavado com solução de potassa alcoólica e água destilada, para impedir o contato da amostra com qualquer possível fonte de contaminação. Em seguida, as amostras foram levadas para estufa STERILIFER, à temperatura de 70 °C por um período de 24h. Depois de secas, as amostras foram maceradas e trituradas em um recipiente previamente lavado e utilizando o pistilo como ferramenta para macerar. Os produtos gerados foram massas secas homogêneas de alface dos tipos lisa e crespa que foram quarteadas para diminuição do seu volume (Figura 1) e por fim, vedados e levados para o dessecador para impedir a entrada de água.

Figura 1 – Quarteamento de amostras



Foi realizado um planejamento de experimentos com três variáveis e dois níveis (2^3) para o processo de digestão. A primeira variável utilizada foi qualitativa, apresentada pelo tipo de folhagem (lisa ou crespa) e as demais variáveis foram do tipo quantitativa (concentração do ácido e tempo de digestão), cada uma em dois níveis, conforme observados na Tabela 1.

A digestão das amostras foi realizada utilizando aproximadamente de 1 g da amostra em balança analítica OHASUS, em seguida foram adicionados 20 mL de ácido nítrico, utilizando-se concentrações de 1 e 3 mol L⁻¹, por grama de amostra pesada. A partir deste momento inicia-se a pré-digestão das amostras que ficaram 24 horas em repouso. Depois deste período, as amostras foram levadas para um sistema de digestão, mantendo-se a temperatura a 80°C, por 1h. Em seguida a temperatura foi elevada a 150°C por 1 ou 2 horas, dependendo da variável em questão. Decorrido este tempo, a temperatura foi novamente elevada a 250°C para completa evaporação da solução. Após a evaporação do líquido presente na solução, as amostras foram diluídas com solução de HNO₃ 2%, em balão volumétrico de 25,00 mL, resfriadas e filtradas em sistema de filtração a vácuo convencional, utilizando 2 folhas de papel de filtro da marca UNIFIL, faixa petra, código 504111, com retenção de partículas de 7-12 µm. As amostras só eram consideradas próprias para análise se sua coloração final fosse translúcida, levemente amarelada. As amostras preparadas foram levadas



para análise no aparelho de ICP-OES (Inductively Coupled Plasma - Optical Emission Spectrometry).

Tabela 1 – Planejamento de experimento para análise de alface

Ensaio	Tipo de Alface	Concentração de HNO ₃ (mol L ⁻¹)	Tempo de digestão (h)
1	Lisa	1	2
2	Lisa	1	3
3	Lisa	3	2
4	Lisa	3	3
5	Crespa	1	2
6	Crespa	1	3
7	Crespa	3	2
8	Crespa	3	3

3 Resultados

O material de referência empregado para as análises foi um padrão multielementar da PERKIN ELMER de 100mg/L que permitiu a preparação de uma boa faixa de trabalho. Os resultados obtidos demonstraram a boa precisão, pois a metodologia analítica empregada foi baseada numa técnica certificada pelo ISO 17.025 e os resultados das análises podem ser observados na Tabela 2.

Tabela 2 – Concentração do Mangânes nas amostras de acordo com o planejamento de experimento

Ensaio	1	2	3	4	5	6	7	8
Concentração de Mn (ppm)	6,0591	3,7499	4,7703	3,3969	4,9627	6,0315	5,4050	5,4994

Com base nos resultados das concentrações de manganês nos ensaios foi possível tratar estatisticamente os dados utilizando o software Statistic® e verificar as condições do planejamento de experimentos. Na Tabela 3 são observados os efeitos do tratamento de dados, que apresentaram um bom ajuste, pois apresentaram um coeficiente de determinação (R^2) igual a 0,90482 com interações múltiplas, e com isso foi possível descrever a Equação 1 que representa a concentração de Manganês em função das variáveis.

Tabela 3 – Concentração do Mangânes nas amostras de acordo com o planejamento de experimento

	Effect	p	Coeff.
Mean/Interc.	4,954679	0,038363	4,954679
Tipo	1,028636	0,371483	0,514318
Concentração	-0,373557	0,644465	-0,186779
Tempo	-0,570507	0,514901	-0,285254
Tipo por Concentração	0,339964	0,704530	0,169982
Tipo por Tempo	1,163414	0,336372	0,581707
Concentração por Tempo	-0,068993	0,926858	-0,034496

$$\text{Concentração de Mn}^{2+} = 4,954679 + 1,028636 \times \text{Tipo} - 0,373557 \times [\text{Ácido}] - 0,570507 \times \text{Tempo} + 0,339964 \times \text{Tipox}[\text{Ácido}] + 1,163414 \times \text{TipoxTempo} - 0,068993 \times \text{Tempox}[\text{Ácido}] \quad (1)$$



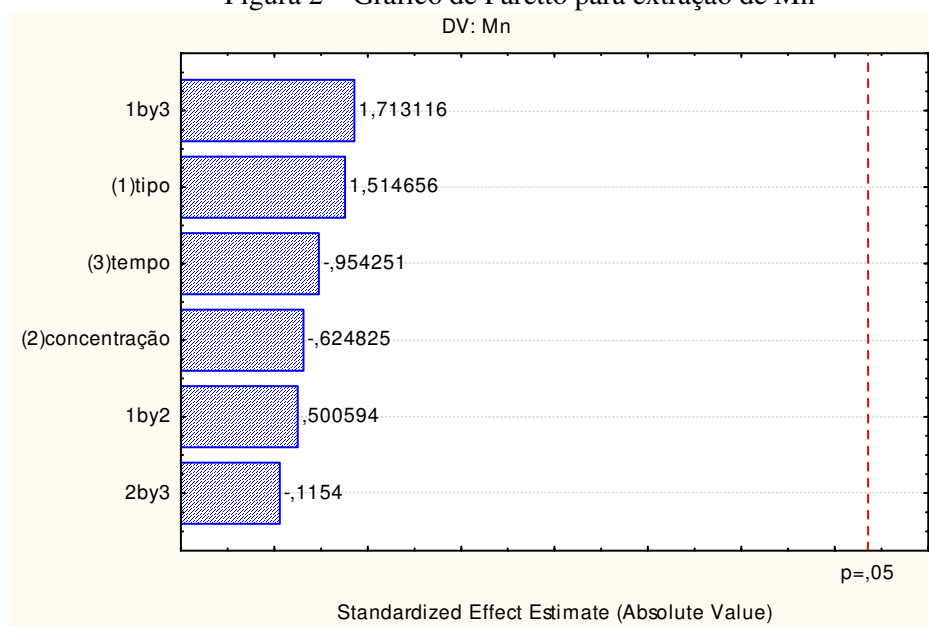
Tabela 4 – ANOVA para o tratamento dos valores de Mangânes nas amostras

	SQ	df	MQ	F	p
Tipo	1,481328	1	1,481328	2,294183	0,371483
Concentração	0,252081	1	0,252081	0,390407	0,644465
Tempo	0,587961	1	0,587961	0,910595	0,514901
Tipo por Concentração	0,161806	1	0,161806	0,250594	0,704530
Tipo por Tempo	1,894946	1	1,894946	2,934766	0,336372
Concentração por Tempo	0,008599	1	0,008599	0,013317	0,926858
Erro	0,645689	1	0,645689		
Total SQ	6,783984	7			

A Tabela 4 apresenta os valores da ANOVA para o planejamento de experimentos das análises de Mn. O grau de liberdade total foi igual a 7, e o valor dos intervalos de confiança para os teste é de 0,6457, isto é, para qualquer valor de concentração de Mn, para qualquer teste, ele poderá variar $\pm 0,6457$.

O gráfico de Pareto apresenta as variáveis que apresentam influência na extração de Manganês nas amostras de alface, e pode-se verificar, segundo a Figura 2, que nenhuma das variáveis foi expressiva para a extração de Manganês.

Figura 2 – Gráfico de Pareto para extração de Mn



As Figuras 3 e 4 apresentam os gráficos de superfície gerados pela análise de manganês, sendo o primeiro em 3D e o segundo em 2D. A análise dos gráficos 3D e 2D para o metal do manganês, permite concluir que um menor tempo de digestão e uma concentração menor do ácido levará á melhores resultados, sendo assim o ensaio que combina as duas condições ótimas classificado como o melhor ensaio para a extração do metal em solução. Essa conclusão é evidenciada através da análise da zona crítica de ambos os gráficos. Pode-se observar que as zonas críticas dos gráficos (parte vermelha do gráfico) se apresentam onde foram realizados os ensaios com menor tempo de digestão e menor concentração do ácido.



Figura 3 – Gráfico de superfície 3D para a análise das variáveis do Manganês

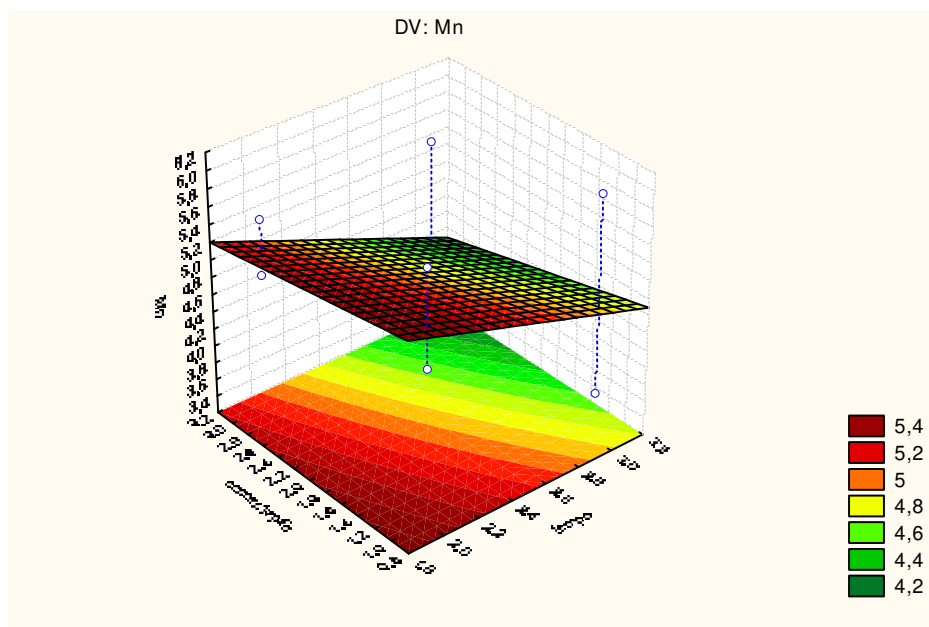
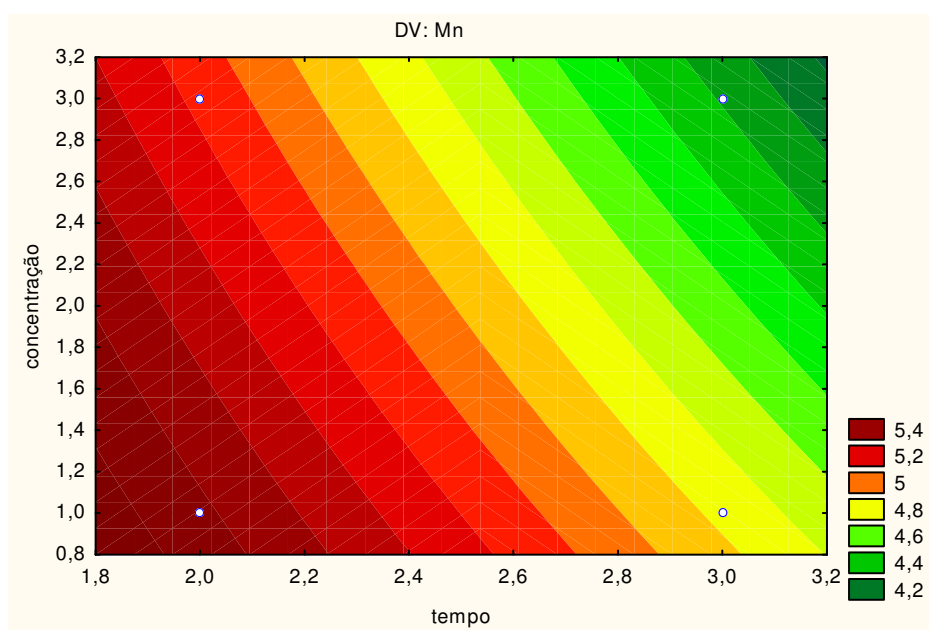


Figura 4 – Gráfico de superfície 2D para a análise das variáveis do Manganês



O gráfico de correlação dos resultados permite confirmar que os valores previstos estão bem próximos dos valores encontrados, com um bom coeficiente de correlação, visto que os pontos não apresentam uma grande dispersão da linha de tendência.

4 Conclusão

As análises realizadas apresentaram concentrações relevantes de manganês presente na alface, confirmados pelos valores e gráficos apresentados, porém para um estudo mais ampliado e generalizado seria necessária a ampliação da amostragem, do número de testes e da melhora das condições para estes. Os resultados encontrados mostram que a análise da qualidade da alface e possivelmente de outras hortaliças, frente à contaminação por metais



pesados é importante, pois caso sejam confirmadas as questões levantadas pelo artigo, diversas pessoas estariam sendo contaminados todos os dias.

5 Referências

RAMOS, Miriam Gonçalves Martins. **Determinação dos teores de metais pesados em plantas típicas dos mangues do Rio Cubatão, SP.** Disponível em <http://biblioteca.unisantos.br/tede/tde_arquivos/5/TDE-2006-09-06T081253Z-16/Publico/dissertacao%20-%20Mirian.pdf>. Acessado em 04/09/2013 às 20h

PPGQ – UFSCar, Professor Joaquim. Espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente (ICP OES). Disponível em <http://www.ufscar.br/dq-gaia/images_2007/ICP_OES_24.04.09.pdf> Acessado em 04/09/2013 às 20h05

RAPOSO, Juliana Divina Almeida. **Determinação Simultânea de sódio, potássio e cálcio em biodiesel por espectrometria de emissão atômica com chama utilizando emulsão como preparo das amostras.**

ANVISA. Decreto no 55.871, de 26 de março de 1965. Disponível em <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/414d248047458a7d93f3d73fbc4c6735/DECRETO+N%C2%BA+55.871,+DE+26+DE+MAR%C3%87O+DE+1965.pdf?MOD=AJPERES>> Acessado em 13/09/2013 às 23h00

GREGER, J.L. Nutrition versus toxicology of manganese in humans: evaluation of potential biomarkers. *Neurotoxicology*, Little Rock, v.20, n.2-3, p.205-212, 1999.

ASCHNER, M. Manganese: brain transport and emerging research needs. **Environmental Health Perspectives**, Research Triangle Park, v.108, n.S3, p.429-432, 2000. (Supplements).

LJUNG, K.; VAHTER, M. Time to re-evaluate the guideline value for manganese in drinking water? **Environmental Health Perspectives**, Research Triangle Park, v.115, n.11, p.1533-1538, 2007.