



**Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal do Mato Grosso do Sul
Instituto de Química
Programa de Pós-Graduação em Química**



THIAGO GOMES RICCI

**ANÁLISE ESTATÍSTICA MULTIVARIADA APLICADA À ESPECTROMETRIA DE
EMIÇÃO ÓPTICA DE PLASMA ACOPLADO INDUTIVAMENTE PARA A
AVALIAÇÃO DE MICRONUTRIENTES EM TOMATES DE CULTIVO ORGÂNICO E
CONVENCIONAL**

Linha de Pesquisa: Desenvolvimento de metodologias analíticas

CAMPO GRANDE – 2021



Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal do Mato Grosso do Sul
Instituto de Química
Programa de Pós-Graduação em Química



THIAGO GOMES RICCI

**ANÁLISE ESTATÍSTICA MULTIVARIADA APLICADA À ESPECTROMETRIA DE
EMIÇÃO ÓPTICA DE PLASMA ACOPLADO INDUTIVAMENTE PARA A
AVALIAÇÃO DE MICRONUTRIENTES EM TOMATES DE CULTIVO ORGÂNICO E
CONVENCIONAL**

Linha de Pesquisa: Desenvolvimento de metodologias analíticas

Tese apresentada ao Instituto de Química –
Fundação Universidade Federal do Mato
Grosso do Sul – UFMS, ao Programa de Pós-
Graduação em Química – Doutorado, como
requisito para a obtenção do título de Doutor
em Química, realizada sob a orientação do
Prof. Dr. Carlos Eduardo Domingues Nazario

CAMPO GRANDE – 2021



Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



ATA DE DEFESA DE TESE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
DOUTORADO

Aos vinte e um dias do mês de dezembro do ano de dois mil e vinte e um, às treze horas e trinta minutos, reuniu-se a Banca Examinadora composta pelos membros: Carlos Eduardo Domingues Nazário (UFMS), Adriel Martins Lima (IFMT), Dario Xavier Pires (UFMS), Glauca Braz Alcantara (UFMS) e Jorge Luiz Raposo Junior (UFMS), sob a presidência do primeiro, para julgar o trabalho do aluno: THIAGO GOMES RICCI, CPF 00745823130, do Programa de Pós-Graduação em Química, Curso de Doutorado, da Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, apresentado sob o título "ANÁLISE ESTATÍSTICA MULTIVARIADA APLICADA À ESPECTROMETRIA DE EMISSÃO ÓPTICA DE PLASMA ACOPLADO INDUTIVAMENTE PARA A AVALIAÇÃO DE MICRONUTRIENTES EM TOMATES DE CULTIVO ORGÂNICO E CONVENCIONAL" e orientação de Carlos Eduardo Domingues Nazário. O presidente da Banca Examinadora declarou abertos os trabalhos e agradeceu a presença de todos os Membros. A seguir, concedeu a palavra ao aluno que expôs sua Tese. Terminada a exposição, os senhores membros da Banca Examinadora iniciaram as arguições. Terminadas as arguições, o presidente da Banca Examinadora fez suas considerações. A seguir, a Banca Examinadora reuniu-se para avaliação, e após, emitiu parecer expresso conforme segue:

EXAMINADOR	AVALIAÇÃO
Dr. Carlos Eduardo Domingues Nazário (Interno)	Aprovado
Dr. Adriel Martins Lima (Externo)	Aprovado
Dr. Dario Xavier Pires (Externo)	Aprovado
Dra. Glauca Braz Alcantara (Interno)	Aprovado
Dr. Jorge Luiz Raposo Junior (Interno)	Aprovado
Dr. Leandro Fontoura Cavalheiro (Externo) (Suplente)	
Dr. Lincoln Carlos Silva de Oliveira (Interno) (Suplente)	

RESULTADO FINAL:

Aprovação	X
Aprovação com revisão	
Reprovação	

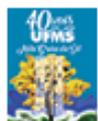
OBSERVAÇÕES:

Nada mais havendo a ser tratado, o Presidente declarou a sessão encerrada e agradeceu a todos pela presença.

Assinaturas:

Presidente da Banca Examinadora

Aluno



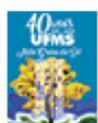
Documento assinado eletronicamente por **Carlos Eduardo Domingues Nazario, Professor do Magisterio Superior**, em 21/12/2021, às 17:38, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



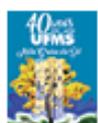
Documento assinado eletronicamente por **Glauca Braz Alcantara, Professora do Magistério Superior**, em 21/12/2021, às 18:47, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Jorge Luiz Raposo Junior, Professor do Magisterio Superior**, em 23/12/2021, às 07:45, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Dario Xavier Pires, Professor do Magisterio Superior**, em 23/12/2021, às 13:40, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Adriel Martins Lima, Usuário Externo**, em 23/12/2021, às 16:41, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **THIAGO GOMES RICCI, Usuário Externo**, em 03/01/2022, às 15:09, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufms.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador 2930536 e o código CRC 45ED55B8.

COLEGIADO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Av Costa e Silva, s/nº - Cidade Universitária

Fone:

CEP 79070-900 - Campo Grande - MS

Referência: Processo nº 23104.033310/2021-81

SEI nº 2930536

O presente trabalho fora realizado com apoio da FUNDECT – FUNDAÇÃO DE APOIO AO DESENVOLVIMENTO DO ENSINO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO ESTADO DO MATO GROSSO DO SUL, através da bolsa de doutorado.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001

AGRADECIMENTOS

À minha família, por ter me apoiado durante esse processo, pelo seu amor, companheirismo, paciência e por todo o investimento realizado em mim e na minha educação para que, assim, eu pudesse concluir essa etapa, tão importante na minha formação acadêmica.

Agradeço ao meu pai, Sandro Alberto Ricci e a minha mãe Maria Roseli da Silva Gomes Ricci, por todo seu amor, cuidado e, suporte emocional e financeiro, para que eu pudesse ter acesso a ótima educação acadêmica e moral, à minha irmã Thaysse Gomes Ricci e cunhado Fábio Vanzo de Carvalho, pelo carinho, paciência e conselhos, nos momentos em que mais precisei, e, pela compreensão de todos os momentos em que eu precisei me ausentar para conclusão desse estudo.

Às minhas grandes amigas Flávia Jallad, Léria Valério e Simone Elias, por todo o apoio, torcida, incentivo, carinho e paciência com a minha ausência, necessária à conclusão desse estudo.

Ao meu namorado, Éwerton Henrique Leão Pinheiro, por todo o seu apoio, torcida, suporte e amor, nos momentos em que mais precisei de incentivo para continuar, e, por compreender minha ausência, que foi necessária a conquista desse título.

Ao Professor Dr. Carlos Eduardo Domingues Nazário por ter aceitado me orientar, por sua dedicação, paciência, sabedoria e pelo tempo que dedicou a me tornar um cientista melhor. Agradeço, imensamente, por ter renovado os meus votos e desejo de contribuir com a ciência, por cada conversa e encorajamento quando alguns obstáculos surgiram e, através dos seus conselhos, foi possível contorná-los e, assim, apresentar o meu melhor e tentar cumprir as nossas expectativas a respeito deste estudo.

Ao professor Dr. Luiz Henrique Viana, meu primeiro orientador na graduação e que também esteve presente no meu doutorado, por todos os incentivos e os desafios que me apresentados para que me tornasse um cientista melhor.

À Universidade Federal do Mato Grosso do Sul – UFMS, ao Instituto de Química – INQUI, ao Laboratório de Combustíveis – LABCOM, por toda a infraestrutura e equipamentos que proporcionaram a realização deste estudo.

À FUNDECT – Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência E Tecnologia Do Estado Do Mato Grosso Do Sul pela bolsa de doutorado.

À professora Dr^a. Glaucia Braz Alcantara por todos os seus conselhos, pelo seu tempo, por me apresentar, ensinar e me encantar pela quimiometria, e, por ceder o acesso ao Laboratório de Pesquisa 2 (LP2 – INQUI – UFMS) e ao software quimiométrico, de suma importância a este estudo.

Ao professor Dr. Valter Aragão do Nascimento da Faculdade de Medicina (FAMED-UFMS) por ter cedido o equipamento ICP OES, que tornou esse estudo possível.

RESUMO

O trabalho apresenta o estudo realizado através da espectrometria de emissão óptica de plasma acoplado indutivamente (ICP OES) de micronutrientes em tomates de cultivo orgânico e convencional, no qual, foi aplicada a análise estatística multivariada para a interpretação dos dados. Foram estudadas amostras de tomates do tipo cereja (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*) e do tipo italiano (*Solanum lycopersicum* 'Roma'), de cultivos do tipo orgânico e convencional. As amostras foram obtidas em mercados, de produtores locais e feiras de produtos orgânicos, oriundos da Campo Grande, Mato Grosso do Sul, e redondezas, em um conjunto de 14 amostras, sendo 7 amostras de cultivo orgânico e 7 amostras de cultivo convencional. Os dados gerados através da análise por ICP OES foram obtidos através de amostras de tomates secas, moídas e, mineralizadas por via úmida assistida por radiação micro-ondas. Foram analisados os elementos Al (167,079 nm), Cd (228,802 nm), Co (228,616 nm), Cr (283,563 nm), Cu (324,754 nm), Fe (259,940 nm), Mn (257,610), Ni (221,647 nm), V (309,311 nm) e Zn (213,856 nm), por ICP OES, a fim de auxiliar na obtenção da identidade química das amostras de tomates, e, assim, correlacioná-las ao seu tipo de cultivo. As faixas de trabalho analítico, foram determinadas para cada elemento, e, assim, calculados os parâmetros de confiabilidade analítica, coeficiente de correlação (R), entre 0,9989 e 0,9998, coeficiente de determinação (R²), entre 0,9978 e 0,9996, limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) para cada elemento. Os valores de precisão foram determinados através do desvio padrão relativo percentual (DPR%) e exatidão através do erro relativo percentual, calculados em três níveis n=3, alto médio e baixo, para cada elemento. A interpretação dos dados foi realizada através do cálculo da concentração de cada elemento em mg kg⁻¹ das amostras in natura, dados que foram submetidos a análise estatística multivariada para a interpretação das correlações entre a identidade química das amostras e o tipo de cultivo. A análise estatística multivariada foi realizada através do *software online MetaboAnalyst 5.0*, foram geradas as representações gráficas da análise dos componentes principais (PCA), com variância explicada acumulada para as componentes principais (PC1 vs. PC2) de 82,1%. A representação gráfica *clustergram*, originada a partir da análise de agrupamentos hierárquicos (HCA) combinada com mapa de calor (*heatmap*), indicou os agrupamentos hierárquicos de amostras e dos elementos estudados. Foram obtidos três agrupamentos hierárquicos, (I) amostras de feira de produtos orgânicos, com maior contribuição dos elementos Al, Fe, Zn e Mn, com os maiores valores de concentração, (II) amostras de cultivo convencional, com maior contribuição dos elementos Al, Fe, Zn e Mn, porém com menores valores de concentração e (III) amostra de cultivo orgânico de produtores locais e de mercado, com maior contribuição dos elementos Cr e Ni. Através da análise discriminante de mínimos quadrados parciais ortogonais (OPLS-DA) foi possível obter um modelo de previsão de classes com valores de acurácia preditiva moderada: variância explica no eixo Y (R²_Y) e performance preditiva do modelo (Q²), 0,523 e 0,457, respectivamente. Na análise do modelo OPLS-DA, os elementos Cr, Fe, Ni, Zn e Al, apresentaram maiores contribuições para a predição e diferenciação das classes. No estudo, foi observado que o processo de correção do potencial hidrogeniônico (pH) do solo tem papel fundamental para a determinação da disponibilidade dos micronutrientes estudados no solo.

Palavras-chave: micronutrientes, ICP OES, análise estatística multivariada, OPLS-DA

ABSTRACT

This study was carried out through the analysis of micronutrients by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES) in organic and conventional cultivation tomatoes, which, multivariate statistical analysis was applied to interpret the data. Samples of cherry tomatoes (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*) and Italian tomatoes (*Solanum lycopersicum* 'Roma') from organic and conventional crops were studied. The samples were obtained from markets, local producers and organic product fairs, from Campo Grande, Mato Grosso do Sul, and surrounding areas, in a set of 14 samples, 7 samples from organic cultivation and 7 samples from conventional cultivation. The data generated through the analysis by ICP OES were obtained through samples of dried and ground tomatoes and mineralized by microwave-assisted wet-acid digestion. The elements Al (167.079 nm), Cd (228.802 nm), Co (228.616 nm), Cr (283.563 nm), Cu (324.754 nm), Fe (259.940 nm), Mn (257.610), Ni (221.647 nm), V (309,311 nm) and Zn (213,856 nm) were analyzed by ICP OES, in order to help obtain the chemical identity of tomato samples, and thus correlate them to their type of cultivation. The ranges of analytical work were determined for each element, and thus the parameters of analytical reliability were calculated, correlation coefficient (R), between 0.9989 and 0.9998, coefficient of determination (R^2), between 0.9978 and 0.9996, limit of detection (LD) and limit of quantification (LQ) for each element. Precision values were determined through the percentage relative standard deviation (DPR%) and accuracy through the percentage relative error, calculated in three levels $n=3$, high, medium and low, for each element. Data interpretation was performed by calculating the concentration of each element in mg kg^{-1} of fresh samples, data that were subjected to multivariate statistical analysis to interpret the correlations between the chemical identity of the samples and the type of culture. Multivariate statistical analysis was performed using the online software MetaboAnalyst 5.0, graphical representations of the principal component analysis (PCA) were generated, with cumulative explained variance for the principal components (PC1 vs. PC2) of 82.1%. The graphical representation clustergram, originated from hierarchical cluster analysis (HCA) combined with heatmap, indicated the hierarchical clustering of samples and elements studied. Three hierarchical clusters were obtained, (I) samples from organic products market, with the greatest contribution of the elements Al, Fe, Zn and Mn, with the highest concentration values, (II) samples from conventional cultivation, with the greatest contribution of the elements Al, Fe, Zn and Mn, but with only lower concentration values and (III) sample of organic cultivation from local and market producers, with greater contribution of the elements Cr and Ni. Through orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA) it was possible to obtain a class prediction model with moderate level of predictive accuracy: values of explain variance on the Y axis (R^2Y) and predictive performance of the model (Q^2), 0.523 and 0.457, respectively. In the analysis of the OPLS-DA model, the elements Cr, Fe, Ni, Zn and Al, presented greater contributions to the prediction and differentiation of classes. In the study, it was observed that the correction process of the soil hydrogen potential (pH) plays a fundamental role in determining the availability of the studied micronutrients in the soil.

Keywords: micronutrients, ICP OES, multivariate statistical analysis, OPLS-DA

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1:	<i>Produção mundial de tomates por país em toneladas.</i>	28
Figura 2:	<i>Área de plantio de tomate em hectares por país em toneladas.</i>	28
Figura 3:	<i>Foto ilustrativa com tomate cereja (<i>Solanum lycopersicum</i> var. <i>cerasiforme</i>).</i>	30
Figura 4:	<i>Foto ilustrativa do tomate italiano (<i>Solanum lycopersicum</i> 'Roma').</i>	30
Figura 5:	<i>Produção de tomates em milhões de toneladas no Brasil – 1961 a 2019.</i>	31
Figura 6:	<i>Disponibilidade de micronutrientes no solo em relação ao seu pH.</i>	40
Figura 7:	<i>Representação de um frasco fechado com as regenerações do HNO_3 na presença de H_2O_2.</i>	47
Figura 8:	<i>Interdisciplinaridade da quimiometria.</i>	52
Figura 9:	<i>Exemplo ilustrativo da representação de uma lapiseira. (a) Projeção longitudinal e transversal. (b) Indicação das direções das três componentes principais que definem a lapiseira.</i>	62
Figura 10:	<i>Exemplo típico de uma curva analítica com a identificação dos parâmetros de desempenho da faixa de trabalho, faixa linear de trabalho, sensibilidade, limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ).</i>	65
Figura 11:	<i>Foto ilustrativa da moagem das amostras de tomate</i>	74
Figura 12:	<i>Foto ilustrativa da comparação da decomposição de amostras por via úmida assistida por radiação micro-ondas. (a) Utilizando os parâmetros sugeridos pelo fabricante; amostra com coloração amarelada intensa, turva e com sobrenadantes. (b) Após ajustes dos parâmetros de temperatura e pressão; amostra incolor, límpida e sem sobrenadantes.</i>	76
Figura 13:	<i>Foto ilustrativa do equipamento utilizado na decomposição de amostras por via úmida assistida por radiação micro-ondas: a. Digestor por micro-ondas SpeedWave®four; b. Disco rotativo para os tubos de digestão, com suporte e válvulas de ejeção de gases; c. Tubo de digestão de poliuretano.</i>	77
Figura 14:	<i>Esquema de duplicatas de amostras e triplicatas de leitura para cada amostra.</i>	79
Figura 15:	<i>Foto ilustrativa dos tomates em processo de secagem em estufa, após 24 horas em estufa a 65 °C.</i>	84

<i>Figura 16: Foto ilustrativa dos tomates em processo de secagem em estufa, a 65 °C, após 72 h.</i>	<i>84</i>
<i>Figura 17: Representação gráfica do pré-tratamento aplicado às variáveis dos dados de concentrações dos elementos químicos (variáveis): auto escalamento.</i>	<i>92</i>
<i>Figura 18: Clustergram - dendrograma bidimensional de análise hierárquica de agrupamentos (HCA) combinado com visualização por mapa de calor (Heatmap), de todas as amostras de tomate analisadas por ICP OES. Classes: 1 – Amostras de tomates de cultivo orgânico; 2 – Amostras de tomates de cultivo convencional; os maiores e menores valores de concentração são representados pelas cores vermelho e azul, respectivamente.</i>	<i>94</i>
<i>Figura 19: Representação gráfica da Análise de Componentes Principais (PCA), gráfico bidimensional de scores (A) e de loadings (B) de todas as amostras analisadas por ICP OES, com elipses de região de confiabilidade de 95%. Classes: Δ1 – Amostras de tomates de cultivo orgânico; +2 – Amostras de tomates de cultivo convencional. Variância explicada: PC1 x PC2, 67,5 e 14,6%, respectivamente.</i>	<i>101</i>
<i>Figura 20: Representação gráfica com os valores de R2X, R2Y e Q2, do modelo OPLS-DA. Valores calculados entre 0 e 1.</i>	<i>103</i>
<i>Figura 21: Representação gráfica do modelo de previsão OPLS-DA de todas as amostras analisadas por ICP OES, com elipses de região de confiabilidade de 95%. (A) scores e (B) VIP scores. Classes: Δ 1 – Amostras de tomates de cultivo orgânico; + 2 – Amostras de tomates de cultivo convencional.</i>	<i>104</i>
<i>Figura 22: Representação gráfica da curva analítica de calibração de Al (167,079 nm) através da correlação da resposta de intensidade de emissão em relação aos níveis de concentrações pré-determinadas (0,10; 0,25; 0,50; 1,00 e 2,00 mg L⁻¹); a equação da reta e o coeficiente de determinação (R²).</i>	<i>122</i>
<i>Figura 23: Representação gráfica da curva analítica de calibração de Cd (228,802 nm) através da correlação da resposta de intensidade de emissão em relação aos níveis de concentrações pré-determinadas (0,01; 0,25; 0,05; 0,10 e 0,25 mg L⁻¹); a equação da reta e o coeficiente de determinação (R²).</i>	<i>122</i>
<i>Figura 24: Representação gráfica da curva analítica de calibração de Co (228,616 nm) através da correlação da resposta de intensidade de emissão em relação aos níveis de concentrações pré-determinadas (0,01; 0,25; 0,05; 0,10; 0,25 e 0,50 mg L⁻¹); a equação da reta e o coeficiente de determinação (R²).</i>	<i>123</i>
<i>Figura 25: Representação gráfica da curva analítica de calibração de Cr (283,563 nm) através da correlação da resposta de intensidade de emissão em relação aos níveis de concentrações pré-determinadas (0,01; 0,25; 0,05;</i>	

- 0,10 e 0,25 mg L⁻¹); a equação da reta e o coeficiente de determinação (R²)..... 123
- Figura 26: Representação gráfica da curva analítica de calibração de Cu (324,754 nm) através da correlação da resposta de intensidade de emissão em relação aos níveis de concentrações pré-determinadas (0,01; 0,25; 0,05; 0,10; 0,25; 0,50 e 1,00 mg L⁻¹); a equação da reta e o coeficiente de determinação (R²). 124
- Figura 27: Representação gráfica da curva analítica de calibração de Fe (259,940 nm) através da correlação da resposta de intensidade de emissão em relação aos níveis de concentrações pré-determinadas (0,05; 0,10; 0,25; 0,50; 1,00 e 2,00 mg L⁻¹); a equação da reta e o coeficiente de determinação (R²). 124
- Figura 28: Representação gráfica da curva analítica de calibração de Mn (257,610 nm) através da correlação da resposta de intensidade de emissão em relação aos níveis de concentrações pré-determinadas (0,01; 0,25; 0,05; 0,10; 0,25 e 0,50 mg L⁻¹); a equação da reta e o coeficiente de determinação (R²). 125
- Figura 29: Representação gráfica da curva analítica de calibração de Ni (221,647 nm) através da correlação da resposta de intensidade de emissão em relação aos níveis de concentrações pré-determinadas (0,01; 0,25; 0,05; 0,10 e 0,25 mg L⁻¹); a equação da reta e o coeficiente de determinação (R²)..... 125
- Figura 30: Representação gráfica da curva analítica de calibração de V (309,311 nm) através da correlação da resposta de intensidade de emissão em relação aos níveis de concentrações pré-determinadas (0,25; 0,05; 0,10; 0,25 e 0,50 mg L⁻¹); a equação da reta e o coeficiente de determinação (R²). 126
- Figura 31: Representação gráfica da curva analítica de calibração de Zn (213,856 nm) através da correlação da resposta de intensidade de emissão em relação aos níveis de concentrações pré-determinadas (0,01; 0,25; 0,05; 0,10; 0,25; 0,50 e 2,00 mg L⁻¹); a equação da reta e o coeficiente de determinação (R²). 126
- Figura 32 Gráfico de scores (A) e de loadings (B) de todas as amostras analisadas por ICP OES, com elipses de região de confiabilidade de 95%. Classes: Δ1 – Amostras de tomates de cultivo orgânico; +2 – Amostras de tomates de cultivo convencional. Variância explicada: PC1 x PC2, 64,6 e 16,6%, respectivamente. 127
- Figura 33: Clustergram - dendrograma bidimensional de análise hierárquica de agrupamentos (HCA) combinado com visualização por mapa de calor (Heatmap), de todas as amostras de tomate analisadas por ICP OES. Classes: 1 – Amostras de tomates de cultivo orgânico; 2 – Amostras de tomates de cultivo convencional; os maiores e menores valores de concentração são representados pelas cores vermelho e azul, respectivamente. 128

Figura 34 Representação gráfica do modelo de previsão OPLS-DA de todas as amostras analisadas por ICP OES, com elipses de região de confiabilidade de 95%. (A) scores e (B) VIP scores. Classes: 1 – Amostras de tomates de cultivo orgânico; 2 – Amostras de tomates de cultivo convencional. 129

ÍNDICE DE TABELAS

<i>Tabela 1: Tipos e exemplos de hortaliças.</i>	<i>27</i>
<i>Tabela 2: Produção Mundial de Tomate em toneladas e área de plantio.</i>	<i>27</i>
<i>Tabela 3: Principais componentes do tomate Solanum lycopersicum – valores referentes a cada 100 g.....</i>	<i>32</i>
<i>Tabela 4: Composição mineral do tomate Solanum lycopersicum – valores referentes a cada 100 g.....</i>	<i>32</i>
<i>Tabela 5: Tipos de fertilizantes e a natureza de sua composição.</i>	<i>33</i>
<i>Tabela 6: Subdivisão de nutrientes e os elementos de sua classificação.....</i>	<i>35</i>
<i>Tabela 7: Minérios concentrados autorizados para fabricação de fertilizantes complexos fornecedores de micronutrientes</i>	<i>35</i>
<i>Tabela 8: Tipos de fertilizantes orgânicos.</i>	<i>37</i>
<i>Tabela 9: Principais funções dos micronutrientes de plantas.</i>	<i>38</i>
<i>Tabela 10: Levantamento das áreas da aplicação do ICP OES.....</i>	<i>49</i>
<i>Tabela 11: Lista de elementos que podem ser determinados por ICP OES.....</i>	<i>49</i>
<i>Tabela 12: Identificação das amostras de tomate por tipo, diretriz de cultivo e origem de coleta.</i>	<i>72</i>
<i>Tabela 13: Massa inicial das amostras de tomates in natura, antes da secagem em estufa a 65 °C por 72 horas.....</i>	<i>73</i>
<i>Tabela 14: Detalhamento das etapas e patamares do processo de mineralização via digestor com micro-ondas.</i>	<i>75</i>
<i>Tabela 15: Parâmetros do equipamento ICP OES.....</i>	<i>78</i>
<i>Tabela 16: Representação do comprimento de onda da linha de emissão, da faixa de trabalho e quantidade de pontos na curva de calibração.....</i>	<i>81</i>
<i>Tabela 17: Massa inicial e final das amostras de tomate, após secagem em estufa a 65 °C por 72 horas.</i>	<i>83</i>
<i>Tabela 18: Parâmetros de confiabilidade analítica calculados para cada elemento químico analisado.</i>	<i>85</i>
<i>Tabela 19: Valores dos parâmetros de confiabilidade analítica, precisão e exatidão, expressa por erro relativo percentual, calculados para três níveis (n=3); alto médio e baixo, calculados para cada elemento.</i>	<i>86</i>

<i>Tabela 20: Valores das concentrações calculadas para as amostras in natura para cada amostra.</i>	<i>88</i>
<i>Tabela 21: Concentrações de Fe nas amostras 1a, 1b, 2a e 2b.</i>	<i>89</i>
<i>Tabela 22: Dados relativos ao desvio padrão e a variância entre o menor e o maior valores das concentrações dos elementos entre as amostras.....</i>	<i>90</i>
<i>Tabela 23: Parâmetros de pré-tratamento de dados aplicados a HCA.....</i>	<i>93</i>

ÍNDICE DE ABREVIATURAS, SIGLAS E ACRÔNIMOS

Conab	Companhia Nacional de Abastecimento
e.g.	por exemplo, do latim <i>exempli gratia</i>
FAO	<i>Food and Agriculture Organization</i>
HCA	Análise Hierárquica de Agrupamentos, do inglês, <i>Hierarchical Cluster Analysis</i>
i.e.	isto é, ou seja; do latim <i>id est</i>
ICP OES	Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado, do inglês, <i>Inductively Coupled Plasma – Optical Emission Spectrometry</i>
IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i> , em português, "União Internacional da Química Pura e Aplicada".
LD	Limite de detecção
LQ	Limite de quantificação
ND	Não detectado
OPLS-DA	Análise Discriminante de Mínimos Quadrados Parciais com correção ortogonal de sinal, do inglês, <i>Orthogonal Partial Least Squares - Discriminant Analysis</i>
PA	Padrão analítico
PCA	Análise de Componentes Principais, do inglês, <i>Principal Component Analysis</i>
pH	Potencial hidrogeniônico
PLS-DA	Análise Discriminante de Mínimos Quadrados Parciais, do inglês, <i>Partial Least Squares - Discriminant Analysis</i>

ÍNDICE DE SÍMBOLOS E UNIDADES

%	Porcentagem
Σ	Somatória
®	Marca registrada
°C	Graus Célsius
µm	Micrograma
eV	Eletro Volt
g	Grama
G	Giga, 10 ⁶
GHz	Giga Hertz
K	Quilo, 10 ³
kg	Quilograma
kPA	Quilo pascal
L	Litro
L min⁻¹	Litros por minuto
mg	Miligrama
mL	Mililitro
rpm	Rotações por minuto
s	Segundos
W	Watts

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	VII
RESUMO	IX
ABSTRACT	X
ÍNDICE DE FIGURAS	XI
ÍNDICE DE TABELAS	XV
ÍNDICE DE ABREVIATURAS, SIGLAS E ACRÔNIMOS	XVII
ÍNDICE DE SÍMBOLOS E UNIDADES	XVIII
SUMÁRIO	XIX
1 INTRODUÇÃO	22
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	25
2.1 Hortaliças.....	26
2.1.1 <i>Tomate (Solanum lycopersicum)</i>	29
2.2 Fertilizantes	33
2.3 Sistema de Produção Orgânica	36
2.3.1 <i>Adubação no sistema orgânico de produção</i>	36
2.4 Micronutrientes	38
2.4.1 <i>Agentes interferentes na disponibilidade de micronutrientes</i>	39
2.5 Pré-tratamento de amostras	42
2.5.1 <i>Secagem</i>	42
2.5.2 <i>Moagem</i>	44
2.5.3 <i>Decomposição de amostras por via úmida assistida por radiação micro-ondas</i>	44
2.5.4 <i>Espectrometria atômica</i>	47
2.5.5 <i>Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado</i>	48
2.6 Quimiometria	51
2.6.1 <i>Análise exploratória dos dados</i>	53
2.6.2 <i>Análise de Agrupamentos por Métodos Hierárquicos</i>	57

2.6.3	<i>Análise de Componentes Principais</i>	61
2.6.4	<i>Análise Discriminante de Mínimos Quadrados Parciais com correção ortogonal de sinal</i>	62
2.7	Validação de métodos analíticos.....	65
2.7.1	<i>Linearidade e faixa de trabalho</i>	66
2.7.2	<i>Limite de detecção e quantificação</i>	67
2.7.3	<i>Precisão e Exatidão</i>	68
3	OBJETIVO	70
3.1	Objetivos gerais.....	70
3.2	Objetivos específicos.....	70
4	MATERIAIS E MÉTODOS	71
4.1	Instrumentação.....	71
4.1.1	<i>Amostragem</i>	71
4.1.2	<i>Secagem</i>	73
4.1.3	<i>Moagem</i>	74
4.1.4	<i>Decomposição de Amostras por Via Úmida Assistida por Radiação Micro-ondas</i>	75
4.1.5	<i>Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES)</i>	78
4.2	Validação do método analítico.....	80
4.3	Análise quimiométrica.....	82
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	83
5.1	Análise Por Espectrometria De Emissão Óptica Com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES).....	85
5.1.1	<i>Parâmetros do Método</i>	85
5.1.2	<i>Determinação da concentração dos elementos</i>	87
5.2	Análise Estatística Multivariada.....	91
5.2.1	<i>Pré-tratamento de dados</i>	91
5.2.2	<i>Clustergram – Análise Hierárquica de Agrupamentos (HCA) com Mapa de Calor (Heatmap)</i>	93
5.2.3	<i>Análise de Componentes Principais – PCA</i>	98
5.2.4	<i>Análise Discriminante de Mínimos Quadrados Parciais com correção ortogonal de sinal – OPLS-DA</i>	102
6	CONCLUSÃO	106
7	RECOMENDAÇÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS	108

8	REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA	109
9	ANEXOS	122
	ANEXO I. CURVAS ANALÍTICAS DE CALIBRAÇÃO.....	122
	ANEXO II. ANÁLISE MULTIVARIADA SEM O ELEMENTO FERRO	127

1 INTRODUÇÃO

Os processos de mudanças de hábitos alimentares, a partir da década de 1960, advindos da agricultura industrial e sua automação, proporcionaram um modelo de agricultura, predominantemente, extrativo e não planejado adequadamente, de forma que crescentes mudanças efetivaram-se no campo. O que trouxe à tona um modelo de produção altamente extrativista, no qual, pouco se considera as práticas ecológicas de produção.

Esse modelo de produção, conseqüentemente, gera diversos impactos ambientais e socioeconômicos, e, como conseqüência, novos costumes alimentares, que visam a praticidade, o baixo custo de produção e, conseqüentemente, causam a perda da qualidade nutritiva dos alimentos (ABREU, E. S. DE *et al.*, 2001; GUIMARÃES; MESQUITA, DE, 2010; MARINHO, M. C. S. *et al.*, 2007; MORATOYA *et al.*, 2013; SANTOS, F. P. Dos; CHALUB-MARTINS, 2012).

É necessário, contudo, assinalar que tal modelo de extrativismo não se caracteriza como um fato novo na sociedade brasileira. Pelo contrário, insere-se em um contexto de colonização que remonta aos primeiros anos do século XVI, no qual o país (Brasil) se constitui, desde a sua origem, como um polo exportador de produtos primários tropicais, e assim, ao longo do tempo, se configura socialmente como participante subalterno das relações capitalistas internacionais (RIBEIRO, A. M., 2011).

Tal inserção socioeconômica subordinada será a diretriz e o perfil que conduzirão o país na sua construção histórica, definindo uma formação sociocultural extremamente hierarquizada, excludente e baseada na concentração de renda de um grupo minoritário da população, em detrimento da qualidade de vida dos grandes contingentes populacionais que constituirão a mão de obra, em princípio escrava e, posteriormente, assalariada, nos estados da Federação (RIBEIRO, A. M., 2011).

Essa compreensão histórica é fundamental para entendermos que, todo o processo social brasileiro, ao longo da sua trajetória histórica colonial, possui, na sua

essência, uma forma típica de desenvolvimento, categorizada por Darcy Ribeiro¹, no artigo de Adélia M. Ribeiro (2011, p. 35), como “atualização histórica”, que se define antropológicamente como *“a inserção subordinada de povos atrasados em formações socioculturais estruturadas e em sistemas tecnologicamente superiores, implicando em efetiva perda de autonomia ou em sua destruição como entidade étnica”*.

É assim que a produção de alimentos, objeto do presente trabalho, e os respectivos hábitos alimentares, bem como os valores culturalmente produzidos que promovem as concepções de saúde, ambiente, equilíbrio, natureza etc., trarão, na sua configuração ideológica, o substrato de uma organização social extremamente desigual, consolidada nos últimos quinhentos anos de nossa história.

Todavia, nas últimas décadas, a população foi levada à reflexão sobre a relevância das fontes alimentícias e da procedência do que ingere; no qual a busca por fontes de alimentação saudáveis tem aumentado na sociedade, não apenas pelo apelo midiático, mas também pelas visíveis consequências do aumento dos casos de obesidade, hipertensão, diabetes e outras doenças causadas pela má qualidade da alimentação (MARINHO, M. C. S., 2007; MORATOYA, 2013).

Uma das importantes vertentes dessa mudança de pensamento é o desejo do consumo de alimentos saudáveis, que são aqueles classificados através do seu processo de cultivo como orgânicos, paralelamente, nas últimas décadas, houve aumento da produção e consumo de vegetais que não seguem essas mesmas diretrizes de processo produtivo.

O cultivo apresenta interferências químicas, garantindo o aumento da quantidade da produção, em toneladas, fazendo, assim, necessário que o agronegócio busque meios de minimizar as perdas da produção, principalmente pelas pragas, o que ocorre pelo amplo uso de agrotóxicos (ASSIS, 2006; GRAZIANO DA SILVA, 2016).

¹ Darcy Ribeiro, foi um antropólogo, historiador, sociólogo, escritor e político brasileiro e conhecido por seu foco em relação aos indígenas e à educação no país. Foi Ministro da Educação no Brasil de 1962 a 1963 e o primeiro reitor da UnB (FRAZÃO, 2021). Teve papel de destaque com suas ideias, no qual apresentava a evolução dos povos americanos, em que os povos passaram por um “processo civilizatório”, marcado por revoluções tecnológicas, dentre elas a revolução agrícola, urbana, de irrigação, metalúrgica, pecuária, mercantil, industrial e termonuclear (RIBEIRO, D., 1998).

Complementarmente, uma alimentação corretamente planejada e saudável, pode suprir todas as necessidades nutricionais de crianças, adolescentes, ou pessoas em quaisquer outras faixas etárias. Contudo, se não for bem elaborada, pode originar déficits nutricionais, tais como: carência de vitaminas – principalmente do complexo B-, deficiência de ferro e minerais como: cálcio, zinco e potássio.

A deficiência nutricional na alimentação compromete, conseqüentemente, o crescimento e desenvolvimento adequados, principalmente em crianças e adolescentes, refletindo-se em uma fase adulta caracterizada por complicações de saúde, em todas as suas dimensões (BUENO; CZEPIELEWSKI, 2008; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2007).

Com isso, a população começa a almejar melhores condições alimentares e, assim, a consumir alimentos que cumprem as diretrizes de cultivo orgânico. Dentre os benefícios do consumo de alimentos orgânicos há a retirada de produtos que possam causar danos à saúde do consumidor.

Todavia, não há a explícita distinção dos alimentos em relação aos processos de produção que seguem as diretrizes de plantio e cultivo de alimentos orgânico e dos alimentos cujo esse processo segue o padrão industrial comercial, com a utilização de agrotóxicos (produtos convencionais ou comerciais), ressalvada essa distinção através da certificação legal.

Esse questionamento, em relação a possível contaminação, é levantado pelo fato de o transporte de agrotóxicos residuais pode ocorrer através de mecanismos naturais (MOREIRA *et al.*, 2012), os quais não estão sob o controle e predição dos produtores, podendo, acidentalmente ser transportado através pelas chuvas e solo às demais localidades rurais onde é realizada a produção dos alimentos.

Através da investigação da composição química, a identidade química desses alimentos e, da quantificação desses compostos que os compõe, é possível realizar a análise e, conseqüentemente, propor um método que proporcione a separação e identificação do tipo de alimento, correlacionando-o sua composição química.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A venda de produtos orgânicos tem aumentado aproximadamente 20% ao ano, apresentando, assim, uma procura expressiva da população por fontes de alimentos melhores, mais saudáveis e nutritivos. Devido à conscientização da população em relação aos riscos à saúde consequentes da ingestão de alimentos de cultivo convencional (PENTEADO, 2003)

Os produtos orgânicos são comercializados em lojas especializadas, o que torna seu valor de mercado superior ao dos produzidos de forma convencional, e, por isso mesmo, proporciona redução de percentual de consumidores que podem ter acesso a alimentos considerados mais saudáveis(PENTEADO, 2003).

No Brasil, o acesso da população a esse tipo de alimentos é facilitado pela comercialização desses alimentos em feiras locais, o acesso a alimentos de maior qualidade nutricional. feiras especializadas e eventos de divulgação do produto em feiras regionais, principalmente; é relevante destacar que tal facilidade de acesso pela população é amplamente benéfica aos produtores e comerciantes e principalmente ao consumidor.

Embora possam apresentar preços, em comparação com os produzidos em larga escala, um pouco maiores, é dado que o investimento em melhores alimentos, a longo prazo, é válido e relevante a ingestão de alimentos que não contenham agrotóxicos em concentrações que possam ser prejudiciais ao consumidor.

2.1 Hortaliças

Majoritariamente, a produção de hortaliças é realizada em pequenas propriedades familiares tanto para subsistência quanto para finalidade de comercialização, embora produção seja limitada pela área. O aumento do interesse da população por fontes alimentícias mais saudáveis, conseqüentemente, a fonte de vitaminas, sais minerais e fibras (MONTEZANO *et al.*, 2014) o que leva a população a buscar produtores que contemplem as diretrizes de produção orgânica.

Como apresentado por Amaro *et al.* (2007, pp. 1–2), a definição de hortaliças é dada como:

[...] plantas de consistência herbácea, geralmente de ciclo curto e tratos culturais intensivos, cujas partes comestíveis são diretamente utilizadas na alimentação humana, ou seja, in natura ou com pouco processamento. Fornecem folhas, hastes, flores, frutos, raízes e outras partes que são utilizadas na alimentação, cruas ou cozidas. As hortaliças complementam a alimentação básica pois são importantes fontes de vitaminas, sais minerais e fibras, além de apresentarem valor medicinal. Assim, a produção e utilização das hortaliças é importante como alternativa para a agricultura familiar, tanto pelo fornecimento de nutrientes, como pela facilidade de adaptação a essa prática, principalmente por demandar mais mão-de-obra e menos área.

Como apresentado na Tabela 1, há uma variedade de hortaliças, compreendidas em um grande grupo, com mais de 70 espécies, as quais, foram separadas pelo seu tipo e características:

Tabela 1: Tipos e exemplos de hortaliças.

Tipo de hortaliça	Exemplo
Folhosas	alface, almeirão, agrião, espinafre, couve, cebolinha, salsa, rúcula
Flores	couve-flor, couve brócolos
Frutos	berinjela, jiló, abóbora, quiabo, chuchu, tomate, pimentão, pepino
Tubérculos	batata; cará
Raízes	cenoura, beterraba, rabanete, nabo, batata-doce
Bulbos	cebola, alho
Rizomas	inhame
Hastes	asparago, aipo ou salsão
Condimentos	cebolinha, coentro, pimenta, salsa, manjeriço, hortelã

Fonte: adaptado de Amaro *et al.*, (2007, p. 2).

Dentre as hortaliças buscadas para a realização deste estudo, o tomate apresenta relevância devido ao seu amplo alcance, grande consumo pela população e sua alta produtividade; o que amplia, assim, a extensão e aplicabilidade deste estudo. As Figura 1 e Figura 2 apresentam os dados de produção mundial em toneladas e a área de plantio em hectares, por países, de tomate e, na Tabela 2 a produção mundial em toneladas dos principais produtores.

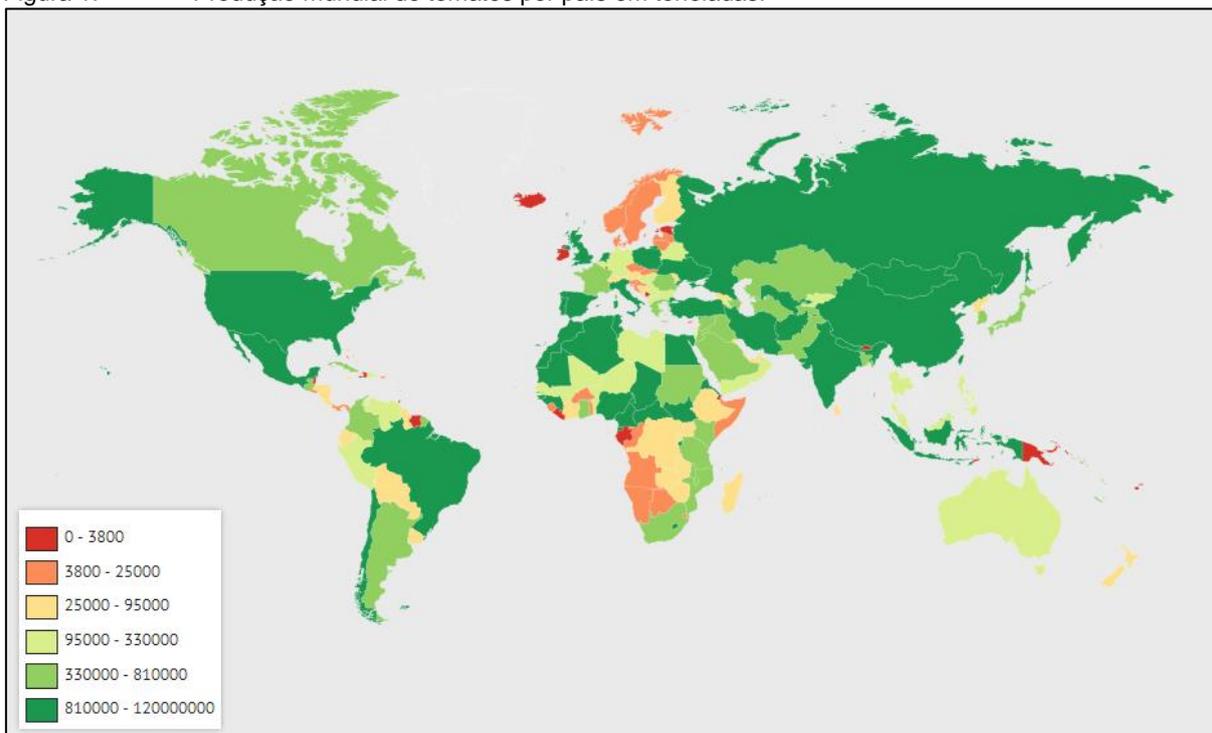
Tabela 2: Produção Mundial de Tomate em toneladas e área de plantio.²

Posição	País	Produção (ton)	Área (ha)
1º.	China	62.869.502	1.086.771
2º.	Índia	19.007.000	781.000
3º.	Turquia	12.841.990	181.488
4º.	Estados Unidos da América	10.858.990	110.760
5º.	Egito	6.751.856	173.276
6º.	Itália	5.252.690	91.410
7º.	República Islâmica do Irã	5.248.904	12.1203
8º.	Espanha	5.000.560	56.940
9º.	México	4.271.914	87.917
10º.	Brasil	3.917.967	54.537
	Demais Países	44.744.956	2.285.243
	Total	180.766.329	5.030.545

Fonte: Food and Agriculture Organization (FAO), disponível em <http://knoema.com/FAOPRDSC2020/production-statistics-crops-crops-processed>, acesso em 20/04/2021.

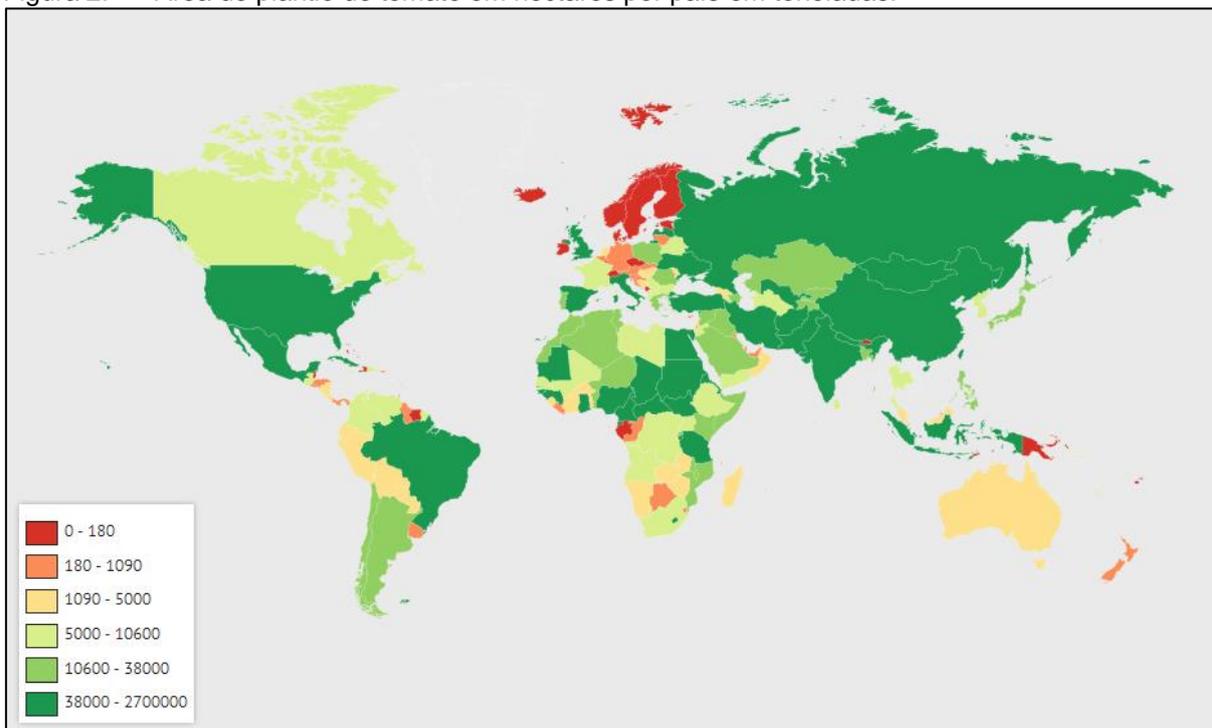
² Até a data da elaboração deste estudo os dados de produção mundial no ano de 2020 não foram disponibilizados pela FAO (Tabela 2, Figura 1 e Figura 2).

Figura 1: Produção mundial de tomates por país em toneladas.



Fonte: Food and Agriculture Organization (FAO), disponível em <https://knoema.com/FAOPRDSC2020/production-statistics-crops-crops-processed?item=1001600-tomatoes&action=export&gadget=visualization> – acessado em 20/04/2021.

Figura 2: Área de plantio de tomate em hectares por país em toneladas.



Fonte: Food and Agriculture Organization (FAO), disponível em <https://knoema.com/FAOPRDSC2020/production-statistics-crops-crops-processed?item=1001600-tomatoes&action=export&gadget=visualization> – acessado em 20/04/2021.

2.1.1 Tomate (*Solanum lycopersicum*)

O tomate, *Solanum lycopersicum*, é cultivado mundialmente, originário da costa oeste da América do Sul, tem seu cultivo sendo mais favorável em regiões com temperatura moderada entre 15 e 19 °C e com chuvas pouco intensas, além disso é importante destacar que tomateiro é uma solanácea herbácea, de caule flexível e que é incapaz de suportar o peso dos frutos (DOSSA; FUCHS, 2017).

O tomate é um fruto que tem uma vida útil pós-colheita relativamente curta, possui alto valor nutricional, constituído também por diferentes tipos de micronutrientes: antioxidantes, licopeno, β -caroteno, vitamina C, polifenóis e cofatores de enzimas antioxidantes (BEECHER, 1998; ZAPATA *et al.*, 2008).

Os tomates comumente destinados ao consumo *in natura*, pode ser separado em quatro grandes grupos, cereja, santa cruz, italiano e salada. Dos quais os tomates de interesse desse estudo, cereja (Figura 3) e italiano (Figura 4), são apresentados pela Companhia Nacional de Abastecimento, Conab, (2019, p. 8) como:

[...] Cereja: As variedades apresentam frutos pequenos, com pencas de 12 a 18 cachos, formato periforme e coloração vermelha a amarela, com elevados teores de sólidos solúveis. Utilizados na ornamentação de pratos e couvert, este grupo vem apresentando grande demanda pelos consumidores, alcançando preços compensadores no mercado. [...]

[...] Italiano: Frutos compridos (7 – 10 cm), em alguns casos pontiagudos e oblongos. Polpa espessa com coloração intensa, firmes e saboroso. Utilizado principalmente para molhos, podendo ainda fazer parte de saladas. Embora se tenha observado aumento frequente na demanda, muitos consumidores ainda não o conhecem. [...]

Figura 3: Foto ilustrativa com tomate cereja (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*)



Fonte: Agro 2.0, disponível em <https://i0.wp.com/files.agro20.com.br/uploads/2020/04/Tomate-cereja-2.jpg?w=1024&ssl=1>, acessado em 03/03/2021.

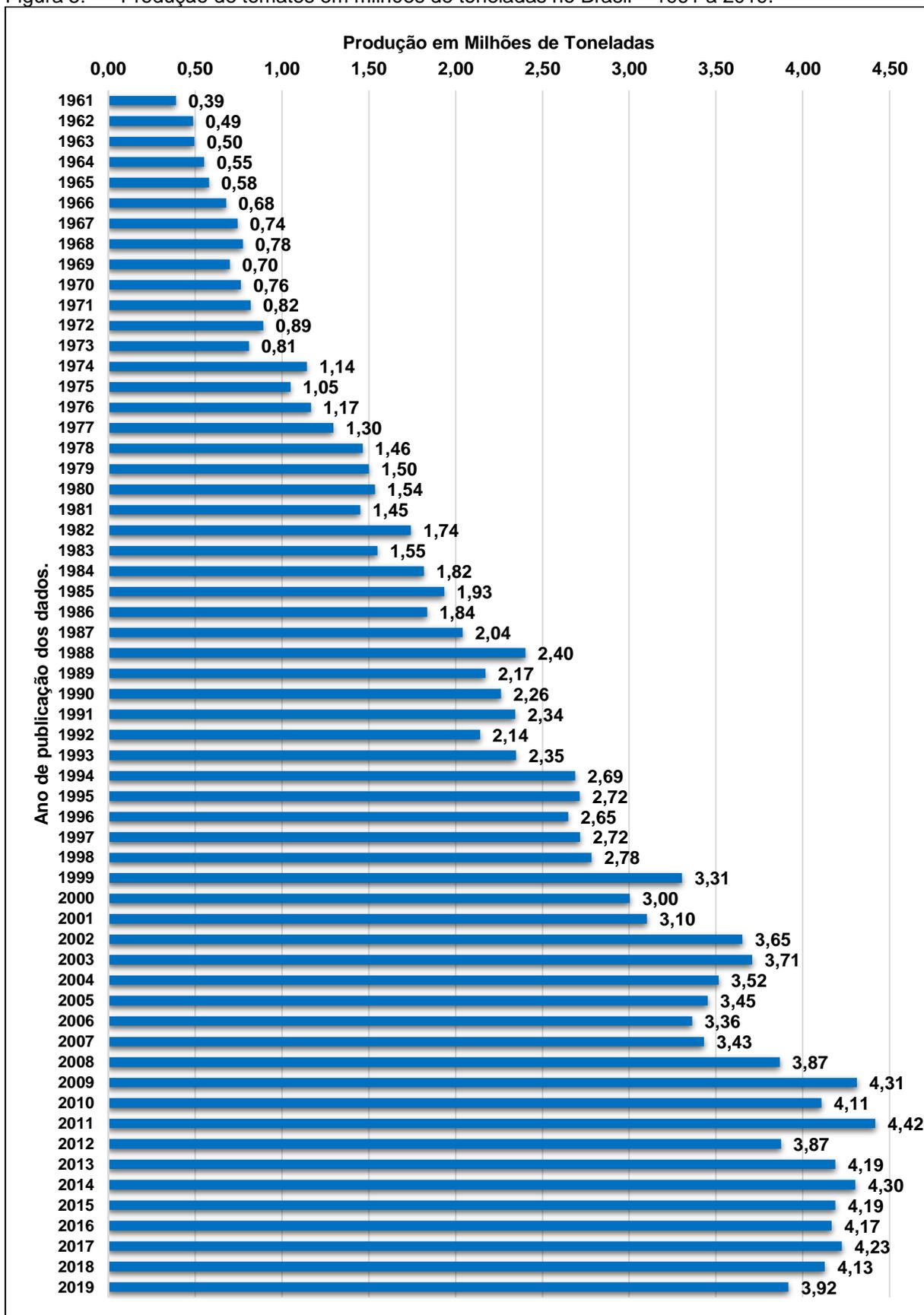
Figura 4: Foto ilustrativa do tomate italiano (*Solanum lycopersicum* 'Roma').



Fonte: Agro 2.0, disponível em <https://i2.wp.com/files.agro20.com.br/uploads/2020/06/Tomate-italiano-1.jpg?resize=600%2C338&ssl=1>, acessado em 20/04/2021

Complementarmente, o tomate tem ganhado espaço no mercado, e, conseqüentemente, há o aumento da sua produção, representada através da Figura 5, na qual há o gráfico da produção de tomates em milhões de toneladas no território brasileiro.

Figura 5: Produção de tomates em milhões de toneladas no Brasil – 1961 a 2019.



Fonte: Food and Agriculture Organization (FAO), disponível em <http://knoema.com/FAOPRDSC2020/production-statistics-crops-crops-processed>, acesso em 20/04/2021

O fruto do tomateiro possui em sua composição de 93 a 95% de água. Nos 5 a 7% restantes, encontram-se compostos inorgânicos, ácidos orgânicos, açúcares, sólidos insolúveis em álcool e outros compostos (SILVA, J. B. C. Da *et al.*, 2006), conforme a apresentação detalhada nas tabelas abaixo (Tabela 3 e Tabela 4).

Tabela 3: Principais componentes do tomate *Solanum lycopersicum* – valores referentes a cada 100 g.

COMPOSIÇÃO	VALOR
Água	94,52 g
Valor energético (kcal)	16,00 kcal
Valor energético (kJ)	74 kJ
Proteína	0,88 g
Gorduras totais	0,20 g
Cinzas	0,50 g
Carboidratos	3,89 g
Fibra alimentar	1,40 g
Monossacarídeos	2,63 g
Glicose	1,49 g
Frutose	1,37 g

Fonte adaptado de (HAYTOWITZ *et al.*, 2014)

Tabela 4: Composição mineral do tomate *Solanum lycopersicum* – valores referentes a cada 100 g.

Composição	
Cálcio	10,00 mg
Ferro	0,27 mg
Magnésio	11,00 mg
Fósforo	24,00 mg
Potássio	237,00 mg
Sódio	5,00 mg
Zinco	0,17 mg
Cobre	0,059 mg
Manganês	0,114 mg

Fonte: adaptado de (HAYTOWITZ, 2014).

2.2 Fertilizantes

De acordo com a legislação brasileira Decreto nº 4.954, de 14 de janeiro de 2004, no Regulamento da Lei no 6.894, de 16 de dezembro de 1980, (2006), [...] *Art. 2º, inciso III – fertilizantes são substâncias minerais ou orgânicas, naturais ou sintéticas, fornecedoras de um ou mais nutrientes das plantas [...].*

Os quais são qualificados de acordo com sua composição, em: fertilizante mineral, fertilizante orgânico, fertilizante mononutriente, fertilizante binário, fertilizante ternário, fertilizante com outros macronutrientes, fertilizante micronutrientes, fertilizante mineral simples, fertilizante mineral misto, fertilizante mineral complexo, fertilizante orgânico simples, fertilizante orgânico misto, fertilizante orgânico composto e fertilizante organomineral (BRASIL, 2006).

A constituição de cada um dos tipos de fertilizantes supracitados é apresentada na Tabela 5:

Tabela 5: Tipos de fertilizantes e a natureza de sua composição.

Tipo de fertilizante	Natureza da composição do fertilizante
Mineral	Produto de natureza fundamentalmente mineral, natural ou sintético, obtido por processo físico, químico ou físico-químico, fornecedor de um ou mais nutrientes de plantas
Orgânico	Produto de natureza fundamentalmente orgânica, obtido por processo físico, químico, físico-químico ou bioquímico, natural ou controlado, a partir de matérias-primas de origem industrial, urbana ou rural, vegetal ou animal, enriquecido ou não de nutrientes minerais
Mononutriente	Produto que contém um só dos macronutrientes primários
Binário	Produto que contém dois macronutrientes primários
Ternário	Produto que contém os três macronutrientes primários

Com Outros Macronutrientes	Produto que contém os macronutrientes secundários, isoladamente ou em misturas destes, ou ainda com outros nutrientes
Micronutrientes	Produto que contém micronutrientes, isoladamente ou em misturas destes, ou com outros nutrientes
Mineral Simples	Produto formado, fundamentalmente, por um composto químico, contendo um ou mais nutrientes de plantas
Mineral Misto	Produto resultante da mistura física de dois ou mais fertilizantes minerais
Mineral Complexo	Produto formado de dois ou mais compostos químicos, resultante da reação química de seus componentes, contendo dois ou mais nutrientes
Orgânico Simples	Produto natural de origem vegetal ou animal, contendo um ou mais nutrientes de plantas
Orgânico Misto	Produto de natureza orgânica, resultante da mistura de dois ou mais fertilizantes orgânicos simples, contendo um ou mais nutrientes de plantas;
Orgânico Composto	Produto obtido por processo físico, químico, físico-químico ou bioquímico, natural ou controlado, a partir de matéria-prima de origem industrial, urbana ou rural, animal ou vegetal, isoladas ou misturadas, podendo ser enriquecido de nutrientes minerais, princípio ativo ou agente capaz de melhorar suas características físicas, químicas ou biológicas;
Organomineral	Produto resultante da mistura física ou combinação de fertilizantes minerais e orgânicos;

Fonte: adaptado de Decreto nº 4.954, de 14 de janeiro de 2004, no Regulamento da Lei no 6.894, de 16 de dezembro de 1980, (BRASIL, 2006, Art. 2º, inciso II).

Como definido pelo Decreto nº 4.954, de 14 de janeiro de 2004, no Regulamento da Lei no 6.894, de 16 de dezembro de 1980, (BRASIL, 2006, Art 2º) [...] *XIV – nutriente: elemento essencial ou benéfico para o crescimento e produção dos vegetais*, [...] e a subdivisão destes nutrientes e os elementos que compõem sua classificação são apresentados na Tabela 6:

Tabela 6: Subdivisão de nutrientes e os elementos de sua classificação.

Subdivisão de nutrientes	Elementos
Macronutrientes Primários	Nitrogênio (N), Fósforo (P), Potássio (K), expressos nas formas de Nitrogênio (N), Pentóxido de Fósforo (P ₂ O ₅) e Óxido de Potássio (K ₂ O);
Macronutrientes Secundários	Cálcio (Ca), Magnésio (Mg) e Enxofre (S), expressos nas formas de Cálcio (Ca) ou Óxido de Cálcio (CaO), Magnésio (Mg) ou Óxido de Magnésio (MgO) e Enxofre (S)
Micronutrientes	Boro (B), Cloro (Cl), Cobre (Cu), Ferro (Fe), Manganês (Mn), Molibdênio (Mo), Zinco (Zn), Cobalto (Co), Silício (Si) e outros elementos que a pesquisa científica vier a definir, expressos nas suas formas elementares;

Fonte: adaptado de Decreto nº 4.954, de 14 de janeiro de 2004, no Regulamento da Lei no 6.894, de 16 de dezembro de 1980, (BRASIL, 2006, Art. 2º, inciso XIV)

No processo de fabricação de fertilizantes minerais, são utilizados minérios específicos, nos quais, em sua composição há maior concentração dos elementos químicos de interesse. A obtenção e aplicação desses minérios, *i.e.*, matéria-prima de fertilizantes minerais, deve atender a critérios determinados pelo MAPA, que são introduzidos pela Instrução Normativa Nº 39, de 8 de agosto de 2018.

Na Tabela 7, são apresentadas as matérias-primas utilizadas e o percentual de elementos que estão presentes nos minérios que são extraídos para a fabricação de fertilizantes.

Tabela 7: Minérios concentrados autorizados para fabricação de fertilizantes complexos fornecedores de micronutrientes

MATÉRIA-PRIMA	Concentração (% m/m)	Minério utilizado na obtenção do fertilizante
Minério concentrado de Cobre	8% de Cu	Cuprita Malaquita Calcopirita Rodocrisita
Minério concentrado de Manganês	15% de Mn	Pirocroita Piroluzita
Minério Concentrado de Molibdênio	8% de Mo	Molibdenita Willemita
Minério Concentrado de Zinco	10% de Zn	Herminorfita Hidrocincita Smithsonita Esfarelita

Fonte: adaptado de (MAPA, 2017).

2.3 Sistema de Produção Orgânica

O sistema de produção orgânica é aquele que visa melhorias nas condições de sustentabilidade em todo o seu processo, proporcionando a otimização dos recursos naturais e socioeconômicos respeitando a integridade cultural das comunidades rurais (BRASIL, 2003).

Conforme a Lei Nº 10.831 de 23 de dezembro de 2003, o sistema orgânico de produção agropecuária é definido por:

[...] Art. 1º Considera-se sistema orgânico de produção agropecuária todo aquele em que se adotam técnicas específicas, mediante a otimização do uso dos recursos naturais e socioeconômicos disponíveis e o respeito à integridade cultural das comunidades rurais, tendo por objetivo a sustentabilidade econômica e ecológica, a maximização dos benefícios sociais, a minimização da dependência de energia não renovável, empregando, sempre que possível, métodos culturais, biológicos e mecânicos, em contraposição ao uso de materiais sintéticos, a eliminação do uso de organismos geneticamente modificados e radiações ionizantes, em qualquer fase do processo de produção, processamento, armazenamento, distribuição e comercialização, e a proteção do meio ambiente [...] (BRASIL, 2003).

2.3.1 Adubação no sistema orgânico de produção

A adubação apresenta como principal objetivo a ativação e manutenção da vida no solo através da reposição dos nutrientes e, assim, os ciclos biogeoquímicos naturais podem ser ativados e otimizados (ANVISA, 2003).

Como apresentado no Manual de Adubação e Calagem elaborado pela Comissão de Química e Fertilidade do Solo:

[...] A adubação orgânica é a aplicação ao solo de materiais orgânicos, constituídos por resíduos (vegetais, animais, urbanos e industriais) e por adubos verdes. Já a agricultura orgânica é um método de produção, tal como a agricultura convencional. [...] Tanto a agricultura orgânica como a convencional propõem um desenvolvimento agrícola sustentável, visando manter a capacidade produtiva do solo a longo prazo e a preservação dos recursos naturais. Geralmente apregoa-se que os alimentos produzidos organicamente são mais naturais, mais saudáveis ou mais nutritivos que os produzidos convencionalmente, no entanto os trabalhos de pesquisa no assunto ainda não comprovaram tal fato. [...] (CQFS-RS/SC, 2004, p. 114).

Assim também, como discutido por Oliveira *et al.*, (2004), sobre o uso de compostagem em sistemas agrícolas orgânicos, a adubação orgânica é benéfica ao fortalecer a nutrição do solo, melhora o aproveitamento dos adubos minerais, promove a solubilização de nutrientes em solos minerais, melhora a granulação do solo, aumenta a atividade microbiana no solo, eleva a capacidade de troca catiônica no solo, melhora a capacidade de tamponamento do sol e reduz a toxidez por pesticidas e de outros agrotóxicos.

Na Tabela 8 são apresentados os tipos de fertilizantes orgânicos e exemplos destes.

Tabela 8: Tipos de fertilizantes orgânicos.

Tipos de fertilizantes orgânicos	
Orgânicos Simples	Fertilizante de origem animal ou vegetal. Exemplos: esterco animal, torta de mamona, borra de café.
Orgânicos Mistos	Produto da mistura de dois ou mais fertilizantes orgânicos simples. Exemplo: cinzas (fonte principalmente de potássio (K)) + torta de mamona (fonte principalmente de nitrogênio (N)).
Orgânicos Compostos	Fertilizante não natural, ou seja, obtido por um processo químico, físico, físico-químico ou bioquímico, sempre a partir de matéria-prima orgânica, tanto vegetal como animal. Pode ser enriquecido com nutrientes de origem mineral. Exemplos: composto orgânico, vermicomposto (húmus de minhoca)
Organominerais	Não passam por nenhum processo específico, são simplesmente o produto da mistura de fertilizantes orgânicos (simples ou compostos) com fertilizantes minerais. No caso específico da agricultura orgânica, estes fertilizantes minerais a serem misturados devem ser naturais (não processados quimicamente) e de baixa solubilidade, permitidos pela legislação para produção orgânica de alimentos.

Fonte: extraído e adaptado de Circular Técnica EMBRAPA (SOUZA; ALCÂNTARA, 2008, pp. 1–2).

2.4 Micronutrientes

Micronutrientes são os elementos que são encontrados e necessários ao crescimento dos organismos, embora sejam necessários em baixas concentrações, são essenciais para que processos metabólicos ocorram. Para que haja o desenvolvimento metabólico das plantas, é necessário que além dos macronutrientes, que os micronutrientes estejam presentes, em baixas concentrações, de modo que possibilitem a atuação nas funções metabólicas, sejam essas primárias ou secundárias (BROETTO *et al.*, 2017; ZUÑIGA *et al.*, 2017).

Embora estejam presentes em baixa concentração, cada um dos nutrientes apresenta funções cruciais no desenvolvimento das plantas, como genericamente apresentado na Tabela 9.

Tabela 9: Principais funções dos micronutrientes de plantas.

Micronutriente	Função
Cobre (Cu) Ferro (Fe) Manganês (Mn) Níquel (Ni)	Constituinte de enzimas (metaloproteínas)
Cobre (Cu) Ferro (Fe) Manganês (Mn)	Envolvimento no transporte de elétrons na fotossíntese
Manganês (Mn) Zinco (Zn)	Ativação de enzimas
Manganês (Mn) Molibdênio (Mo) Zinco (Zn)	Envolvimento na tolerância ao estresse
Boro (B) Cobre (Cu) Manganês (Mn) Zinco (Zn)	Envolvimento no crescimento reprodutivo (indução ao florescimento, polinização, estabelecimento do fruto)
Boro (B) Zinco (Zn)	Constituinte de paredes celulares e membranas

Fonte: adaptado de Micronutrientes na fisiologia de plantas: funções, absorção e mobilidade (KIRKBY; RÖMHELD, 2007)

2.4.1 Agentes interferentes na disponibilidade de micronutrientes

Embora o estudo do solo não tenha sido objeto de estudo dessa tese, é relevante abordar as principais variáveis que possam implicar no aumento ou diminuição da absorção de nutrientes pelas plantas.

Como apresentado por Malavolta, (1989), há fatores internos³ e externos⁴ que podem influenciar a disponibilidade de nutrientes às plantas pelo solo e sua absorção. Dentre os fatores externos são destacados a disponibilidade de nutrientes, dentre eles:

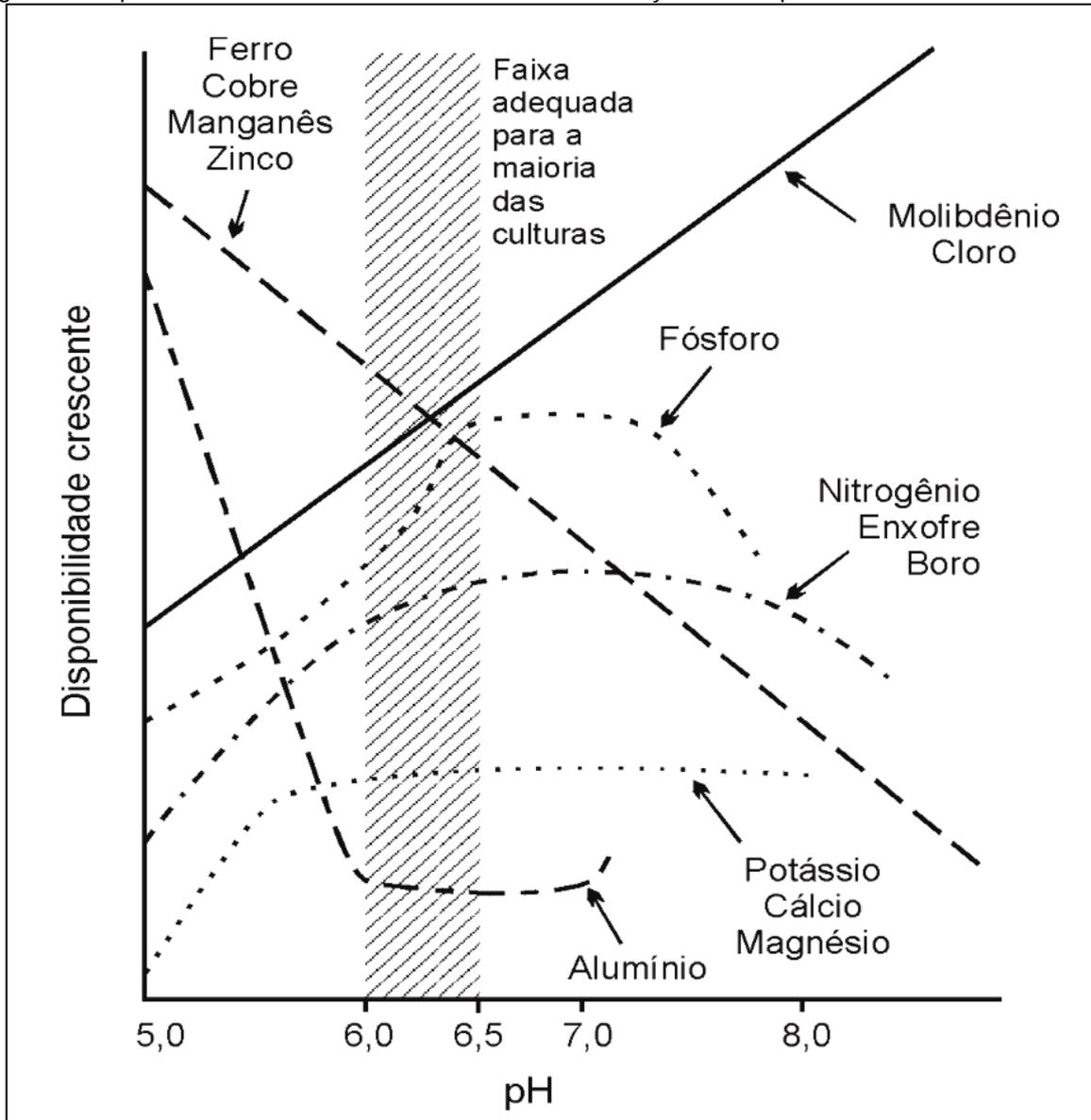
- i. Umidade: responsável, principalmente, pela disponibilização de alguns elementos como nitrogênio, enxofre e boro, contidos na matéria orgânica, que passam para a solução do solo através da mineralização;
- ii. Aeração: onde há a transformação da matéria orgânica, por microrganismos, ao oxidar NH_4^+ a NH_3 e S^{2-} a SO_4^{2-} , que são as formas absorvidas pelas plantas; em contrapartida diminui a disponibilidade de ferro, ao oxidar a forma ferrosa à férrica;
- iii. Matéria orgânica: ajuda a manter a disponibilidade de H_2PO_4^- , assim como, os cátions K^+ , Ca^{2+} e Mg^{2+} , que ficam disponíveis na forma trocável;
- iv. pH: fator que, isoladamente, é um dos maiores influenciadores à disponibilidade; no qual, na faixa de pH de 6,0 a 6,5, ou o elemento se apresenta com disponibilidade máxima (macronutrientes) ou afastada do mínimo (micronutrientes).

³ Discutido no livro de Malavolta, (1989), os fatores internos estão relacionados as estrutura da planta, dentre eles o fator genético, onde, (I) a informação contida no DNA da planta determina a velocidade de absorção dos nutrientes do solo, (II) o estado iônico interno, que diz respeito à limitação da raiz em absorver certa quantidade de nutrientes, (III) o nível de carboidratos respiráveis que são a fonte de energia para o processo de absorção, (IV) a intensidade transpiratória, que, indiretamente, interfere na intensidade no qual os nutrientes são absorvidos pelas raízes, pelo xilema, aumentando também a quantidade de água, e, (V) a morfologia da raiz, no qual a sua estrutura e sua área de distribuição no solo podem favorecer ou dificultar a absorção de nutrientes.

⁴ Também discutidos por Malavolta (1989), há, outros fatores que devem ser levados em consideração como: (I) a temperatura, (II) a velocidade de absorção de cada elemento, (III) as micorrizas, que são as associações entre fungos e raízes, que aumenta a superfície de exposição das raízes, aumentando a absorção dos elementos e (IV) a rizosfera, que é a área na qual o solo e as raízes das plantas entram em contato.

Uma importante observação é a interferência na disponibilidade de micronutrientes no solo, em relação ao seu pH, que, como apresentado na Figura 6, mostram que na faixa de pH 5,0 a 6,0, há maior disponibilidade dos elementos Al, Cu, Fe, Mn e Zn.

Figura 6: Disponibilidade de micronutrientes no solo em relação ao seu pH.



Fonte: Extraído de (POTAFOS, 1998, p. 28 adaptado de MALAVOLTA; VITTI; OLIVEIRA, S. A. DE, 1997, p. 31)

Na rizosfera, o pH pode divergir em mais de duas unidades em relação ao restante do solo, em razão das excreções de H^+ quando cátions são mais absorvidos

que ânions. Essa acidificação promove a maior disponibilidade de Fe, Cu, Mn e Zn (MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, 1989).

Assim, a calagem do solo, que é consiste na correção do pH do solo através da aplicação de calcário (carbonato de cálcio e carbonato de magnésio) sobre o solo, a fim de promover a neutralização do alumínio livre no solo, e assim, precipitá-lo. Conseqüentemente, através da correção do pH do solo, há a diminuição da disponibilidade de Al, Mn e Fe no solo, em contrapartida, a fornece cálcio (Ca) e magnésio (Mg), auxilia a fixação de fósforo (P) e aumenta a eficiência dos fertilizantes (LOPES, A. S. *et al.*, 1991).

2.5 Pré-tratamento de amostras

Os procedimentos envolvidos na análise de uma amostra devem levar em consideração processos que o antecedem, a fim de que haja a melhor abordagem instrumental e metodológica. Assim, a etapa do preparo da amostra é crucial para a eficiência e cumprimento dos objetivos de um estudo. É necessário, assim, levar em consideração as características físico-químicas da amostra é fundamental para a uma decomposição eficiente (ROCHA *et al.*, 2016).

Dentre as etapas que sucedem a análise química, a secagem, moagem e a decomposição da amostra, *i.e.*, a digestão por via úmida assistida por radiação micro-ondas; etapas importantes para esse estudo.

2.5.1 Secagem

No decorrer das etapas envolvidas no processo de preparo de amostra, para que a análise química seja realizada, o processo de secagem de amostras apresenta um papel fundamental, principalmente, para amostras orgânicas. A secagem possibilita que haja a prevenção das amostras pela inibição da atividade microbiana evitando, assim que a decomposição da amostra e, proporciona, também, que os resultados analíticos sejam apresentados em massa seca (SANTOS JÚNIOR *et al.*, 2016).

De acordo com o tipo de amostra, a temperatura é determinada com a finalidade de preservar a amostra e garantir que não haja perdas de elementos por volatilização. Em amostras inorgânicas, *i.e.*, rochas, solos, minérios e sedimentos, a secagem pode ser realizada em temperatura de até a 105 °C; amostras de materiais biológicas e vegetais são, geralmente, secas em estufa, entre 60 a 65 °C, com circulação forçada de ar; e amostras que haja interesse na determinação de espécies químicas altamente voláteis a 40 °C (SANTOS JÚNIOR, 2016).

Outrossim, o tempo de secagem depende da quantidade de água presente em cada amostra e, deve ser levada em consideração de modo que haja o acompanhamento da massa dessa amostra e que esta apresente constância nas suas

medições. Em amostras vegetais, é recomendado que a secagem seja realizada a 65 °C no intervalo de 45 a 72 horas, de modo que haja a preservação de espécies químicas voláteis (SANTOS JÚNIOR, 2016).

Durante o processo de secagem de alimentos, ocorrem mudanças químicas e físicas que alteram, inicialmente, sua cor e textura. Dentre essas mudanças químicas, podem ocorrer: o escurecimento enzimático ou não enzimático, reações de oxidação de vitaminas e a degradação de pigmentos; e quanto as alterações físicas, ocorre o encolhimento e formação de uma capa dura (CELESTINO, 2010).

O processo de escurecimento enzimático é, predominantemente, constituído pelas polifenoloxidasas⁵, ocorrendo em vegetais que não foram pasteurizados ou branquejados, ocorrendo em processos de secagem cuja temperatura não seja suficiente para inativar as enzimas (CELESTINO, 2010). Processo que causa o aparecimento de cheiros estranhos, escurecimento do vegetal e lignificação da parede celular (SILVA, M. V. DA *et al.*, 2009).

No processo de escurecimento não-enzimático, estão envolvidos aminoácidos e açúcares redutores relacionados na formação de melanoidinas; esse processo tem início em a partir de 70 °C. O escurecimento está também relacionado aos tipos de açúcares presentes, como mostrado por Celestino (2010, p. 37), [...] *Hexoses (monossacarídeos com seis carbonos – glicose e frutose) são mais reativas que dissacarídeos (sacarose e lactose) [...]*.

Por fim, quanto as mudanças físicas, há o encolhimento do vegetal, podendo esse apresentar a formação de fendas, rachaduras ou uma estrutura do tipo colmeia ou capa dura. Consequências da velocidade de secagem, relacionada a temperatura aplicada; *i.e.*, quando ocorre rapidamente, em temperaturas mais altas, o encolhimento é maior e sua estrutura se apresenta, predominantemente, oca; em menores temperaturas, é mais densa e concava (CELESTINO, 2010, p. 40).

⁵ Como definido por Silva (2009, p. 85): [...] *As polifenoloxidasas (PPO) (1,2 benzenodiol: oxigênio óxido-reductase) são denominadas frequentemente de tirosinase, polifenolase, fenolase, catecol oxidase, creolase ou catecolase, dependendo dos substratos utilizados na reação de escurecimento dos tecidos vegetais [...]*.

2.5.2 Moagem

A fim de garantir que, para a realização de uma análise química, haja homogeneidade das amostras, é frequentemente necessário que as amostras sejam submetidas ao processo de moagem, que, ao diminuir o tamanho das partículas proporciona, conseqüentemente, o aumento da relação de área superficial e o volume da solução, facilitando, assim, o processo de dissolução, digestão e de extração (SANTOS JÚNIOR, 2016).

Dentre os modelos de moinhos existentes, são fundamentados nos princípios de pressão (*e.g.* moinho de tipo triturador oscilante/vibratório ou de martelo), fricção (*e.g.* moinhos do tipo almofariz), impacto (*e.g.* moinhos centrífugos e moinhos de energia fluida; moinhos de disco ou pinos; moinhos com bolas, moinhos de mistura e moinhos criogênicos), cisalhamento (*e.g.* moinhos centrífugos e moinhos com rotor de impacto) e corte (*e.g.* moinhos de facas, processadores e liquidificadores) (SANTOS JÚNIOR, 2016, pp. 110–111); que são utilizados de acordo com o tipo de amostras estudadas.

Através do processo de moagem, é possível realizar a quebra de estruturas sólidas, *i.e.*, de acordo com o seu princípio de funcionamento há a produção de partículas menores, *e.g.*, em moinho analítico, na qual uma superfície em alta velocidade, *i.e.*, lâmina de impacto, se choca contra as amostras, conseqüentemente, os sucessivos impactos produzem partículas cada vez menores.

2.5.3 Decomposição de amostras por via úmida assistida por radiação micro-ondas

A técnica de decomposição de amostras utilizando a radiação por micro-ondas teve início em 1975 e, a partir da década de 90 houve um aumento exponencial do uso de radiação micro-ondas no preparo de amostras, que foi possível, principalmente, após o desenvolvimento de frascos a base de fluoropolímeros que permitiram a decomposição de amostras em altas temperaturas e pressão (MORAES *et al.*, 2016).

Como explicado por Moraes *et al.*, (2016, p. 315),

[...] a com a consolidação das técnicas de espectrometria óptica e de massas, com capacidade multi-elementar e elevada sensibilidade, exigiu avanços significativos das técnicas de preparo de amostras no que se refere à redução do tempo de decomposição e qualidade de reagentes [...]

A radiação micro-ondas é um tipo de energia radiante caracterizada como radiação eletromagnética, não ionizante, na qual, a interação do componente elétrico da onda de radiação micro-ondas resulta em movimento molecular pela migração de elétrons ou rotação de dipolos. Essa interação não causa mudanças estruturais moleculares, pois nessa frequência⁶, não há energia suficiente para que haja a quebra de ligações químicas.

Consequentemente, os processos de migração iônica e rotação de dipolos, resultam em um processo de aquecimento localizado, causado pela oscilação de do campo elétrico na frequência de radiação micro-ondas induzindo um novo alinhamento de moléculas dipolares e alteração da trajetória dos íons em solução; assim há a dissipação da energia micro-ondas na forma de calor, resultando, assim, no aquecimento da solução (MORAES, 2016, pp. 318–320).

O investimento na pesquisa tem proporcionado a evolução e aprimoramento da instrumentação utilizada no processo de decomposição de amostras. Dentre os fornos de radiação micro-ondas, há os tipos monomodo, em que é possível a formação de ondas estacionárias de mesma amplitude, mas que oscilam em direções diferentes; multimodo, em que a liberação da radiação micro-ondas acontece através de uma cavidade, *i.e.*, guia de onda, que permite a utilização de múltiplos frascos de decomposição; e, multimodo direcionado, que é a combinação dos sistemas monomodo e multimodo, *i.e.*, possibilita a irradiação mais homogênea através de uma cavidade compacta (MORAES, 2016, pp. 327–328).

Dentre os modelos disponíveis e as suas particularidades, em relação a tecnologia de cada fabricante, o modelo *Speedwave Four* da Berghof, utilizado neste estudo, possui um sistema óptico de medição de temperatura e pressão, na qual a temperatura é medida através de um sensor que opera na região do infravermelho médio e a pressão através de um feixe de luz polarizada incidida sobre um dispositivo

⁶ Frequência da radiação micro-ondas: 2,45 GHz, comprimento de onda 12,2 cm e energia 10⁻⁵ eV, (MORAES, 2016, p. 319)

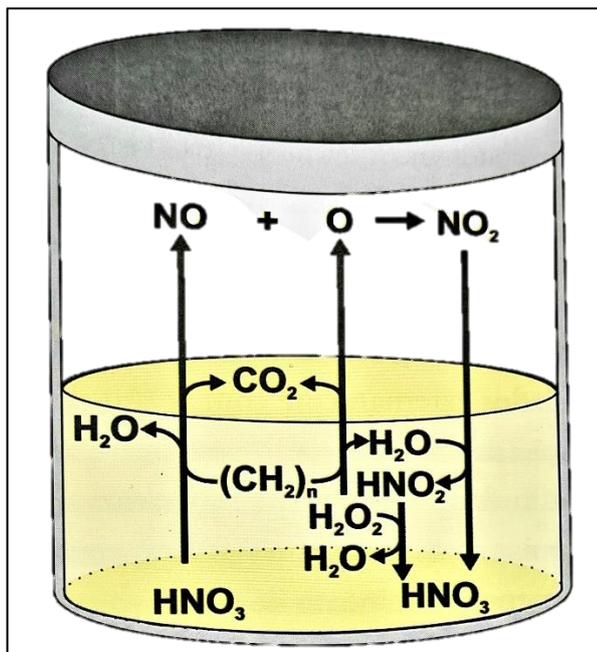
de vidro, ao qual, o seu deslocamento por ação da pressão, desviando o feixe de luz, permite a medição da pressão com precisão (MORAES, 2016, p. 331).

A utilização de frascos fechados no processo de decomposição por radiação de micro-ondas apresenta vantagens em relação ao sistema com frascos abertos, pois possibilita o aumento da temperatura e pressão, promovendo a decomposição completa da matriz. Como apresentadas por Moraes *et. al.* (2016, p. 338), dentre as vantagens em relação ao sistema aberto, estão:

- i. Maior eficiência na decomposição devido ao uso de temperaturas superiores às temperaturas de ebulição dos ácidos;*
- ii. Risco reduzido de perdas de analitos por volatilização;*
- iii. Risco reduzido de contaminações devidas ao ambiente de trabalho;*
- iv. Menor consumo de reagentes.*

Outrossim, a utilização de ácidos para a decomposição da amostra em sistema fechado, apresenta a vantagem da regeneração do ácido, como quando utilizado ácido nítrico (HNO_3) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2). O H_2O_2 atua como oxidante da matéria orgânica e, o seu uso combinado com HNO_3 apresenta vantagens na manutenção da eficiência de decomposição da matriz, como apresentado na Figura 7, na qual são representadas as etapas do processo de regeneração de HNO_3 , as reações que envolvem H_2O_2 na oxidação da matéria orgânica, a decomposição térmica e a formação de O_2 e oxidação de HNO_2 a HNO_3 (MORAES, 2016, pp. 352–359).

Figura 7: Representação de um frasco fechado com as regenerações do HNO_3 na presença de H_2O_2 .



Fonte: extraído de Moraes *et al.* (2016, p. 357, Figura 10.27).

É relevante, a esse sistema, o gradiente de temperatura no frasco, pois esse fator garante que haja a condensação de NO_2 nas paredes do frasco de reação e, assim, o seu retorno a mistura na forma de HNO_3 (MORAES, 2016).

2.5.4 Espectrometria atômica

Segundo Harris (2008), a espectrometria atômica é a compreensão dos fenômenos que envolvem a valência dos elétrons relacionados a decomposição de uma substância ou composto químico em átomos através da mensuração das radiações visíveis ou ultravioleta que são emitidas ou absorvidas pelos átomos de uma substância ao ser submetida e decomposta por chama, forno ou plasma.

Como discutido na revisão de Bings *et al.* (2010), o princípio de análise da espectrometria atômica se baseia no sinal gerado pela decomposição da amostra por fonte de aquecimento, dentre esses as técnicas de espectrometria de absorção atômica, espectrometria de fluorescência atômica, espectrometria de emissão atômica, espectroscopia de dissolução induzida por laser e a espectrometria de massa

por plasma indutivamente acoplado e as suas variações, são amplamente utilizadas e aplicadas em diversas matrizes.

Dentre os estudos analisados para a escolha da técnica deste estudo, no levantamento bibliográfico, são apresentados os alguns trabalhos que demonstram a eficiência das técnicas aplicada à análise de micronutrientes em tomates.

2.5.5 Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado

A espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES⁷), é uma técnica espectrométrica moderna e robusta amplamente utilizada em pesquisas e rotinas laboratoriais. A necessidade de estudos e investigação cujo objetivo é a determinação multi elementar em matrizes nas quais as análises são realizadas, podem necessitar que o seu alcance quantitativo seja na faixa de parte por bilhão (DONATI *et al.*, 2017), a técnica é amplamente aplicada.

Como apresentado por Hou e Jones, (2000, p. 1):

[...] ICP OES é uma das ferramentas analíticas mais poderosas e populares para a determinação de elementos de traço em vários tipos de amostras, abrangendo desde pesquisas com alimentos e fertilizantes a materiais sintéticos. A técnica é baseada na emissão espontânea de fótons de átomos e íons que foram excitados através de uma descarga de rádio frequência (RF) [...].

Para que seja garantido o bom funcionamento do equipamento é necessário que a amostra a ser submetida a análise esteja diluída em meio aquoso e livre de particulados, o que contribui para a alta precisão na determinação dentre uma ampla faixa de concentração. Ressaltando, assim, que essa ferramenta analítica permite a escolha de linhas de emissão distintas para um mesmo elemento, possibilitando assim que haja a medição em diferentes concentrações, e que haja análises sequenciais multi elementares (BECKER, 2005; VINET; ZHEDANOV, 2011).

⁷ ICP OES, sigla do inglês - *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*

Como apresentado na Tabela 10, apresenta ampla aplicação em diversas áreas de estudo, sendo também de grande valia a pesquisa e a indústria.

Tabela 10: Levantamento das áreas da aplicação do ICP OES.

Categorias	Exemplos de amostras
Agricultura e alimentos	Tecidos animais, bebidas, rações, fertilizantes, alho, nutrientes, pesticidas, materiais vegetais, farinha de arroz, solos, legumes e farinha de trigo
Biológico e clínico	Tecido cerebral, sangue, osso, fígado bovino, fezes, peixe, leite em pó, folhas de pomar, farmacêuticos, pólen, soro e urina
Geológica	Carvão, minerais, fósseis, combustível fóssil, minério, rochas, sedimentos, solos e água
Meio ambiente e água	Salmouras, cinzas de carvão, água potável, poeira, água mineral, águas residuais municipais, banho de revestimento, lodo de esgoto, escórias, água do mar e solo
Metais	Ligas, alumínio, metais de alta pureza, ferro, metais preciosos, soldas, aço e estanho
Orgânico	Adesivos, aminoácidos, anticongelantes, materiais de combustão, cosméticos, celulose de algodão, madeira seca, corantes, elastômeros, epóxi, lubrificante, organometálico, organofosfatos, óleos, solvente orgânico, polímeros e açúcares
Outros materiais	Ácidos, carbono, materiais catalíticos, eletrônicos, fibras, película, materiais de embalagem, tintas e revestimentos, fosfatos, semicondutores e materiais supercondutores

Fonte: Extraído e adaptado de (HOU, 2000, p. 2) – tabela 1 – compilado de (ACETO *et al.*, 2002; BOSS; FREDEEN, 1999; CAREY *et al.*, 1992; DAVIS *et al.*, 2006; KORN, M. Das G. A. *et al.*, 2007; LINGE, 2005; MEIJA *et al.*, 2004)

A técnica ICP OES é amplamente utilizada na determinação de metais e metaloides em grande variedade de amostras, através dela é possível determinar, sequencialmente, até 70 (setenta) elementos, como apresentado na Tabela 11. O princípio da técnica é baseado na emissão atômica, a partir de uma fonte de excitação, o plasma de argônio, o qual causa a emissão de radiações em comprimentos de onda específicos (DONATI, 2017; HOU, 2000; SKOOG *et al.*, 2017).

Tabela 11: Lista de elementos que podem ser determinados por ICP OES.

Metais alcalinos e alcalinos terrosos	Terras raras	Metal de transição	Outros
		Cádmio (Cd)	
		Cobalto (Co)	
		Cobre (Cu)	
		Cromo (Cr)	
		Escândio (Sc)	Alumino (Al)
		Ferro (Fe)	Antimônio (Sb)
		Háfnio (Hf)	Arsênio (As)
	Céριο (Ce)	Íridio (Ir)	Bismuto (Bi)
	Disprósio (Dy)	Ítrio (Y)	Boro (B)
	Érbio (Er)	Lantânio (La)	Bromo (Br)
Bário (Ba)	Európio (Eu)	Manganês (Mn)	Carbono (C)
Berílio (Be)	Gadolínio (Gd)	Mercúrio (Hg)	Cloro (Cl)
Calcio (Ca)	Hólmio (Ho)	Molibdênio (Mo)	Enxofre (S)
Césio (Cs)	Itérbio (Yb)	Nióbio (Nb)	Estanho (Sn)
Estrôncio (Sr)	Lutécio (Lu)	Níquel (Ni)	Fósforo (P)
Lítio (Li)	Neodímio (Nd)	Ósmio (Os)	Gálio (Ga)
Magnésio (Mg)	Praseodímio (Pr)	Ouro (Au)	Germânio (Ge)
Potássio (K)	Samário (Sm)	Paládio (Pd)	Índio (In)
Rubídio (Rb)	Térbio (Tb)	Platina (Pt)	Iodo (I)
Sódio (Na)	Tório (Th)	Prata (Ag)	Nitrogênio (N)
	Túlio (Tm)	Rênio (Re)	Paládio (Pb)
	Urânio (U)	Rutênio (Ru)	Selênio (Se)
		Tântalo (Ta)	Silício (Si)
		Titânio (Ti)	Tálio (Tl)
		Tório (Th)	Telúrio (Te)
		Tungstênio (W)	
		Vanádio (V)	
		Zinco (Zn)	
		Zircônio (Zr)	

Fonte: Extraído e adaptado de (HOU, 2000, p. 18, tabela 6).

Na literatura, há diversos estudos no qual a técnica ICP OES foi aplicada, dentre eles: no trabalho de Al-Musharafi *et al.*, (2013), foi realizado o estudo no qual foi investigado por ICP OES das concentrações de metais pesados em solos de tomateiros nos quais foram empregados efluentes de esgoto tratado aplicados a irrigação.

No estudo de Bressy *et al.*, (2013), foi realizada a determinação das concentrações de elementos traço presentes em amostras de tomate de cultivo orgânico e convencional, no qual foi notado que há diferenças significativas nas identidades químicas das amostras de tomates dos tipos caqui, cereja e italiano.

No estudo de Morte *et al.*, (2012), utilizando o ICP OES com visão axial para o monitoramento de estanho em amostras de molho de tomate enlatado, mostrando bons resultados em relação aos valores de concentração abaixo do indicado pela ANVISA.

2.6 Quimiometria

A compreensão dos dados obtidos através da análise de uma ou mais matrizes, almejadas em um estudo, pode, muitas vezes, ser dificultosa e demandar um extensivo trabalho e tempo do pesquisador. Comumente, nessa etapa, é gerada uma grande quantidade de informações, dados que são, muitas vezes, variados e complexos (FERREIRA, M. M. C. *et al.*, 1999).

Para que haja a compreensão destes dados e, conseqüentemente, a interpretação do conjunto de informações obtidas através da análise química – e.g. absorvância, concentração etc. – das matrizes, é necessário que sejam utilizadas ferramentas sofisticadas e modernas. Assim, para que seja suprida essa necessidade, a quimiometria é apresentada como uma ferramenta altamente eficiente na análise estatística dos dados mais relevantes de uma amostra (FERREIRA, M. M. C., 1999; SENA *et al.*, 2000).

Como apresentado por Ferreira *et. al.* (1999, p. 724),

“[...] a quimiometria não é uma disciplina matemática, mas sim química, isto é, os problemas que ela se propõe a resolver são de interesse e originados na química, ainda que as ferramentas de trabalho provenham principalmente da matemática, estatística e computação [...]”.

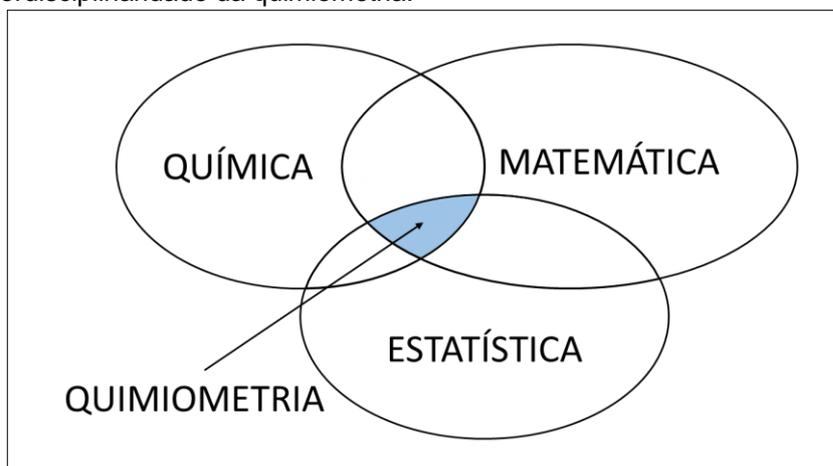
Como definido pela IUPAC⁸, a “quimiometria é a aplicação de estatística a análise de dados químicos (a partir da química orgânica, analítica ou medicinal) e ao desenho de experimentos químicos e simulações”⁹ (IUPAC, 2014 - TRADUÇÃO). De modo que, através dela é possível (I) planejar e otimizar procedimentos experimentais, (II) extrair o máximo de informações químicas relevantes, a partir da análise dos dados e, (III) obter informações relevantes sobre sistemas químicos (FERREIRA, M., 2015).

⁸ IUPAC – abreviatura de *International Union of Pure and Applied Chemistry*, em português, "União Internacional da Química Pura e Aplicada".

⁹ Tradução livre da definição “*Chemometrics is the application of statistics to the analysis of chemical data (from organic, analytical or medicinal chemistry) and design of chemical experiments and simulations.*”

A interdisciplinaridade da quimiometria, dada pela aplicação de ferramentas matemáticas e estatísticas à química, é bem ilustrada através da Figura 8, que representa a intersecção de três grandes áreas:

Figura 8: Interdisciplinaridade da quimiometria.



Fonte: Extraído de Ferreira, (2015, p. 25, figura 3).

As ferramentas quimiométricas possibilitam a análise de dados multivariáveis complexos, o que possibilita a identificação de variáveis ou identidade química, de uma amostra, que sejam mais relevantes (KJELDAHL; BRO, 2010), ou seja, a relevância de um elemento estudado, não é dada, necessariamente, pela concentração de um elemento em uma amostra, *i.e.*, nas menores concentrações, pode-se, também, obter dados importantes da identidade química de uma amostra (MOITA NETO; MOITA, 1998).

Como é discutido por Barros Neto; (2006), em artigo explanando sobre a quimiometria no Brasil, a técnica proporciona o reconhecimento de padrões a partir do grande volume de dados gerados podendo agrupá-los e obter a tendência comportamental dos dados.

2.6.1 Análise exploratória dos dados

Como explanado no guia de usuário apresentado pela *Infometrix, Inc*¹⁰:

[...] O objetivo da análise exploratória é proporcionar a verificação da qualidade dos dados, determinar o conteúdo da informação e a exatidão das medidas. [...] é a visualização gráfica e computacional de associações e padrões em variáveis independentes de conjuntos de dados multivariados. (INFOMETRIX, 2014, cap. 5, p. 1 - TRADUÇÃO).

As informações extraídas de experimentos químicos, como discutido no trabalho de Neto e Moita (1998), englobam a análise de grande quantidade de dados e variáveis. Destas informações são obtidos os perfis químicos das amostras, nas quais, muitas vezes, de uma pequena quantidade de variáveis é possível obter s informações químicas mais relevantes, ao passo que a maioria das variáveis não contribui relevantemente a compreensão e interpretação dos resultados.

A obtenção de dados, como apresentado por Ferreira, (2015, p. 30), é realizada através da obtenção de uma medição analítica, *i.e.*, “*medir um sinal significa registrar a magnitude da resposta de um instrumento em função de uma variável determinada pelo domínio da medida*”.

A organização dos dados é uma etapa importante para que o arranjo de dados proporcione a interpretação adequada dessas informações. Os dados coletados são apresentados em *i* (amostras) e *j* (variáveis), onde: *i* = 1, 2, 3, ..., *I* e *j* = 1, 2, 3, ..., *J*.

Assim, é possível obter a matriz genética apresentada na Equação 1:

$$X = \begin{bmatrix} \mathbf{x}_1^T \\ \mathbf{x}_2^T \\ \vdots \\ \mathbf{x}_I^T \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} x_{11} & x_{12} & \dots & x_{1J} \\ x_{21} & x_{22} & \dots & x_{2J} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ x_{I1} & x_{I2} & \dots & x_{IJ} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \mathbf{x}_1 & \mathbf{x}_2 & \dots & \mathbf{x}_J \end{bmatrix} \quad \text{Equação 1}$$

¹⁰ *Infometrix, Inc.* – empresa responsável pelo desenvolvimento e distribuição de *softwares* que possibilitam a manipulação de dados multivariados, localizada em *Bothell, Washington*. Dentre eles o *software Piroulette®*, que foi utilizado, inicialmente, nesse estudo.

A constituição de matriz de dados X é dada pela disposição de J medidas de diferentes propriedades (variáveis) realizadas em I amostras, apresentando assim uma matriz formada por $I \times J$ elementos, ou seja, I linhas correspondentes as amostras e J colunas correspondentes as variáveis, no qual, o elemento x_{ij} é a resposta para uma variável j à uma amostra i (FERREIRA, M., 2015; INFOMETRIX, 2014; MOITA NETO, 1998).

A partir desses dados são realizados os cálculos de covariância, correlação e as medidas de distâncias – a covariância entre duas variáveis proporciona a medida de sua associação e conseqüentemente o coeficiente de correlação entre as variáveis (MOITA NETO, 1998).

No processo de identificação de semelhanças e diferenças entres as amostras inseridas no conjunto de dados, são utilizados métodos quimiométricos para o agrupamento e classificação de dados, esses métodos são divididos em dois grupos: os métodos “não-supervisionados” e os métodos “supervisionados” com a finalidade de reconhecer padrões de semelhanças (FERREIRA, M., 2015).

Os métodos supervisionados, são aqueles em que são preestabelecidas as classes das quais as amostras são originadas e em métodos não-supervisionados não são inseridas quaisquer informações a respeito da origem das amostras, assim, não há conhecimento prévio sobre classes. Isto é, o agrupamento de dados ocorre naturalmente, com base nos dados experimentais utilizados (FERREIRA, M., 2015).

Assim, como apresentado por Ferreira, (2015, p. 108), ambos os métodos são baseados nas suposições em que *(i) as amostras do mesmo tipo são semelhantes, (ii) existem diferenças significativas entre diferentes tipos de amostras, e (iii) o conjunto de medidas disponíveis é capaz de detectar essas semelhanças e diferenças.*

Uma vez que há a organização dos dados em uma matriz, a aplicação de métodos matemáticos que possibilitam organização das informações contidas na matriz, pode converter as unidades observadas em algo que possa ser visualizado bi ou tridimensionalmente. Assim, dois métodos que possibilitam essa visualização são apresentados com as ferramentas para a aplicação aos dados: Análise de Componentes Principais, representada por PCA, do inglês *Principal Component*

Analysis, e a Análise de Agrupamentos por Métodos Hierárquicos, representada por HCA, do inglês *Hierarchical Cluster Analysis*, métodos que serão apresentados a seguir (ANDRADE *et al.*, 2017; FERREIRA, M., 2015; MOITA NETO, 1998).

2.6.1.1 Pré-tratamento de dados

Com o objetivo de obter melhores resultados antes da realização da análise quimiométrica, se necessário, é relevante que os dados sejam submetidos a procedimentos que possibilitem a redução de variações indesejadas, que não serão eliminados, naturalmente, durante a análise, e que, conseqüentemente, podem influenciar nos resultados obtidos (FERREIRA, M., 2015; GERRETZEN *et al.*, 2015).

Para que haja a melhoria na análise de dados esses podem, quando necessário, ser submetidos a processos de pré-tratamento aplicados às amostras (linhas da matriz **X**) ou às variáveis (colunas da matriz **X**) (FERREIRA, M., 2015). Os processos de pré-tratamento aplicados às amostras, como alisamento¹¹ e suas subdivisões, e.g., derivada, normalização, logaritmo, dentre uma gama de processos disponíveis, não foram aplicados nesse estudo.

Para melhor compreensão dos métodos, serão apresentados, abaixo, os processos de pré-tratamento aplicado às variáveis de interesse a esse estudo.

Como explicado por Ferreira, (FERREIRA, M., 2015), alguns dos principais pré-tratamento aplicados às variáveis são:

- **Centragem dos dados na média** ($x_{ij(cm)}$): primeiro é calculado o valor médio de cada coluna da matriz de dados (x_{ij}), em seguida, o valor é subtraído de cada um dos valores da respectiva coluna (\bar{x}_j), apresentado na Equação 2. O resultado desse pré-tratamento aplicado às variáveis preserva totalmente a estrutura dos dados.

$$x_{ij(cm)} = x_{ij} - \bar{x}_j$$

Equação 2

¹¹ Do inglês *smoothing*

Onde $\bar{x}_j = \frac{1}{I} \sum_{i=1}^I x_{ij}$ é a j -ésima coluna de dados.

- **Escalonamento pela variância:** nos métodos de escalonamento, os dados são divididos por um fator de escala que é a medida de dispersão de dados. Assim, os elementos de cada uma das variáveis (coluna **X**) são divididos pelo fator de escala (desvio-padrão), apresentado na Equação 3:

$$x_{ij(v)} = \frac{x_{ij}}{S_j} \quad \text{Equação 3}$$

Onde $S_j^2 = \frac{1}{I-1} \sum_{i=1}^I (x_{ij} - \bar{x}_j)^2$ é a variância da j -ésima variável (o quadrado do desvio padrão).

- **Auto escalamento**¹²: é a aplicação de ambos os pré-tratamentos supracitados, *i.e.*, é dado ao subtrair de cada elemento de uma coluna da matriz de dados o valor médio da respectiva coluna e dividir o resultado pelo desvio-padrão dessa coluna, como Equação 4:

$$x_{ij(a)} = \frac{x_{ij} - \bar{x}_j}{S_j} \quad \text{Equação 4}$$

Com isso, é, também, importante ressaltar que todos os métodos de pré-tratamento são sensíveis à presença de amostras anômalas, o que também auxilia na identificação de amostras que não estejam presentes em nenhum dos grupos, por suas características que são dadas fora dos parâmetros dos grupos, denominadas assim como *outliers* (FERREIRA, M., 2015).

¹² Também chamado de “auto escalonamento”, por alguns autores (FERREIRA, M., 2015, p. 91).

2.6.2 Análise de Agrupamentos por Métodos Hierárquicos

A análise por agrupamentos hierárquicos, HCA¹³, tem sua origem na taxonomia numérica, que foi desenvolvida a fim de estudar as semelhanças de organismos de diferentes espécies, gêneros, famílias etc. (FERREIRA, M., 2015). Que é baseada na análise de agrupamentos, *i.e.* vizinhos mais próximos, apresentado pela medida da distância entre as “características” mensuráveis de um grupo de objetos (ALENCAR, DE *et al.*, 2013).

A principal finalidade da HCA é proporcionar a identificação e o agrupamento de amostras de modo a realizá-lo segundo as similaridades apresentadas por um grupo de amostras, a fim de reuni-las em um mesmo grupo, nos quais sejam mais parecidas entre si. De modo que seja encontrada a maior homogeneidade interna, dentro dos grupos e, a maior heterogeneidade entre os grupos (ALENCAR, DE, 2013; FERREIRA, M., 2015).

O agrupamento hierárquico das amostras, pode ocorrer de duas formas: através de método aglomerativo ou divisivo; o método aglomerativo, como a HCA é classificada, cada amostra é processada como um grupo unitário, *i.e.*, de um único elemento, e em seguida são agrupados, sistematicamente, por ordem de similaridade. Em contrapartida, no método divisivo, as amostras são, inicialmente, consideradas de um único grupo, e, este grupo inicial, é dividido em dois ou mais subgrupos considerando as suas diferenças, essa divisão é repetida iterativamente, concluída quando cada amostra constitua um grupo por si mesma (FERREIRA, M., 2015).

Quando há a análise dos dados por uma variável por vez ou duas a duas, a extração dessa informação não é eficiente quando aplicada a conjuntos multivariáveis, pois sua visualização é comprometida pela ausência dos demais dados. Assim a aplicação da HCA a análise de dados multivariados é interessante pois esse processo oferece o agrupamento hierárquico dos dados multivariados em uma representação gráfica bidimensional.

Por ser um método não supervisionado de reconhecimento de padrões, a HCA é adequada a redução da dimensionalidade dos dados, permitindo, também, a

¹³ HCA – sigla do inglês, *Hierarchical Cluster Analysis*

identificação de amostras com comportamento anômalo, *i.e. outliers* (FERREIRA, M., 2015).

Levando em consideração que a HCA é uma técnica aglomerativa, e que, assim, cada amostra representa um grupo separado, a determinação da relação de semelhança de uma amostra em relação a outra, em um espaço multidimensional, é dada através do cálculo das distâncias entre elas. Dentre os métodos de cálculo de medida de distância¹⁴, a distância Euclidiana é a medida mais comumente e intuitivamente utilizada, pois satisfaz três propriedades do conceito de distância em um espaço vetorial (I) positividade definida, (II) homogeneidade e (III) desigualdade triangular (FERREIRA, M., 2015).

O cálculo da distância Euclidiana entre dois pontos A e B, d_{AB} , é realizado de acordo com a Equação 5:

$$d_{AB} = \left[\sum_{j=1}^J (x_{aj} - x_{bj})^2 \right]^{1/2} \quad \text{Equação 5}$$

Onde, x_{aj} e x_{bj} são os valores numéricos da j -ésima coordenada de A e B, respectivamente.

Após o cálculo de cada uma das distâncias entre todos os objetos da matriz de dados, *i.e.*, o agrupamento das amostras, esses dados obtidos são representados através de um gráfico bidimensional denominado dendrograma, ou árvore hierárquica, que é a representação através de um gráfico de uma estrutura hierárquica de dados. No dendrograma, o comprimento dos ramos dessa árvore representa o índice de similaridade entre as amostras, em um intervalo de 0 a 1, no qual, quanto mais próximo for esse valor a 1, maior será o índice de similaridade dentro deste grupo, calculado através da Equação 10 (FERREIRA, M., 2015).

$$S_{AB} = 1,0 - \frac{d_{AB}}{d_{max}} \quad \text{Equação 6}$$

¹⁴ Dentre as técnicas apresentadas, de cálculo de medida de distância, há a distância Euclidiana, distância de Manhattan e distância de Mahalanobis; as duas últimas não foram ferramentas utilizadas neste estudo.

Onde: S_{AB} é o índice de similaridade entre os grupos A e B, d_{AB} é a distância entre os dois grupos A e B, e, d_{max} é a distância entre os dois grupos mais distantes do conjunto de dados.

Conseqüentemente, aos cálculos das distâncias entre as amostras, o método hierárquico de agrupamento das amostras é aplicado com o objetivo de identificar as amostras mais próximas e as mais distintas. Dentre elas:

- **Método do vizinho mais próximo:** a distância entre os dois grupos é dada pela menor de todas as distâncias entre as amostras dos dois grupos. Este método tende a formar agrupamentos mais espalhados e tem a vantagem de não ser tão sensível às amostras anômalas.
- **Método do vizinho mais distante:** a distância entre os grupos é dada pela maior de todas as distâncias entre quaisquer duas amostras de um grupo. Este método tende a formar agrupamentos mais compactos e apresenta maior sensibilidade a amostras anômalas.
- **Método da média:** a distância entre os grupos é dada pela média ponderada entre as amostras de ambos os grupos, podendo ser utilizado o método da média ponderada, média de ponderações não uniforme ou média não ponderada.
 - **Método de média ponderada:** a distância entre os grupos resulta da soma das distâncias originais multiplicados pelos seus pesos respectivos;
 - **Método de média de ponderações não uniformes:** a distância entre os grupos resulta da soma das distâncias originais multiplicados pelos seus pesos, na qual, são atribuídos pesos diferentes para grupos de tamanhos diferentes;
 - **Método de média não-ponderado:** a distância entre os grupos resulta da soma das distâncias originais todas com o mesmo peso;
- **Método centroide e de Ward:** utilizam a soma quadrática das distâncias para agrupar as amostras, *i.e.*, utilizam o centro de cada grupo para representá-lo como um todo.

O método Ward, que é método de agrupamento utilizado neste estudo, também conhecido como:

[...] método de variação mínima, pois, a cada etapa do processo, os dois grupos com melhor acréscimo na soma quadrática total dentro do grupo são unidos. A distância entre os agrupamentos nesse método é obtida calculando a soma dos quadrados das distâncias do centro médio de cada grupo. Esse método favorece grupos pequenos, de tamanhos iguais, com uma dispersão mínima dentro do grupo [...] ((FERREIRA, M., 2015, p. 171).

Seguindo Hair *et al.* (2009, p. 452), consiste em processo de agrupamento hierárquico no qual:

[...] a seleção de qual par de agrupamentos a combinar é baseada em qual combinação de agregados minimiza a soma interna de quadrados no conjunto completo de agrupamentos separados ou disjuntos. Em cada passo, os dois agrupamentos combinados são aqueles que minimizam o aumento na soma total de quadrados em todas as variáveis em todos os agrupamentos. Esse procedimento tende a combinar agrupamentos com um pequeno número de observações, pois a soma de quadrados é diretamente relacionada com o número de observações envolvidas. O uso de uma medida de soma de quadrados torna este método facilmente distorcido por observações atípicas; [...] o método de Ward também tende a produzir agregados com aproximadamente o mesmo número de observações [...] o emprego desta abordagem também torna mais difícil identificar agrupamentos que representem pequenas proporções da amostra.

Em adição a ao método de visualização ao HCA, o método foi combinado com mapas de calor ¹⁵, dando origem ao termo *clustergram*, *i.e.*, mapa de calor hierarquicamente agrupado (FERNANDEZ *et al.*, 2017), que é a representação através de uma imagem bidimensional, na qual são representadas as participações de cada linha de dados com cada coluna de variáveis, através da indicação por blocos de cores, *i.e.*, a intensidade da cor é proporcional ao nível da variável (LEE *et al.*, 2016).

¹⁵ Do inglês, *heatmap*

2.6.3 Análise de Componentes Principais

A análise de componentes principais, PCA¹⁶, é um método utilizado projetar dados multivariados em um espaço de dimensão menor, o que, conseqüentemente, diminui a dimensionalidade do espaço original do conjunto de dados.

Através deste método, é possível encontrar a menor quantidade de variáveis que sejam capazes de descrever, explicando, assim, a proximidade das informações contidas no conjunto de dados, quando há correlações significativas entre as variáveis deste conjunto. Conseqüentemente, o agrupamento desses dados, através das combinações lineares, fornece as informações de semelhança entre essas variáveis ou eixos.(FERREIRA, M., 2015)

Por esse agrupamento, são apresentadas novas variáveis, chamadas de componentes principais, PC¹⁷, *i.e.*, por elas serem não correlacionadas e ortogonais entre si, a informação presente em uma delas não está presente na outra e, também apresenta a quantidade de informações que cada uma dessas novas variáveis é capaz de descrever, em outras palavras, como descrito por Ferreira, 2015:

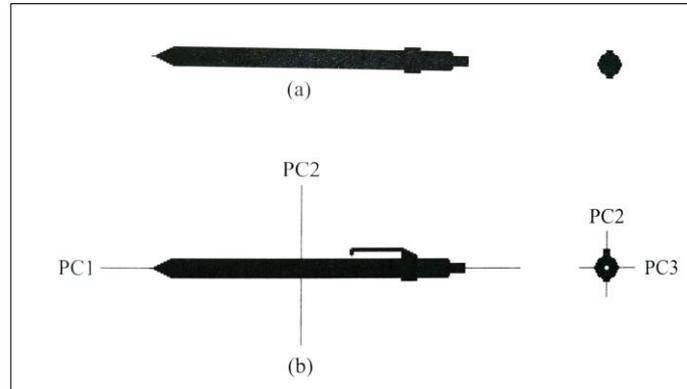
A primeira delas, PC1, é definida pela direção que descreve a máxima variância dos dados originais. A segunda componente principal, PC2, tem a direção de máxima variância dos dados no subespaço ortogonal à PC1, e as componentes subsequentes são ortogonais e orientadas de maneira que descrevam, uma a uma, a máxima variância restante. Pela própria maneira como essas novas variáveis são definidas, uma vez que as redundâncias são removidas, é possível descrever quase toda a informação contida nos dados originais utilizado apenas algumas e poucas componentes principais. (FERREIRA, M., 2015, p. 114).

Em outras palavras, considerando que uma lapiseira seja a matriz de dados, como na Figura 9, o objeto tridimensional é apresentado em um espaço bidimensional, através de um corte transversal e um outro longitudinal (Figura 9 (a)), na visão bidimensional, através dos componentes principais, é possível apresentar as informações do seu comprimento (Figura 9 (b)), *i.e.* maior variância (PC1), altura (PC2), e, largura (PC3) (FERREIRA, M., 2015) .

¹⁶ Sigla do nome em inglês: *Principal Component Analysis*.

¹⁷ Sigla do nome em inglês, *Principal Component*.

Figura 9: Exemplo ilustrativo da representação de uma lapiseira. (a) Projeção longitudinal e transversal. (b) Indicação das direções das três componentes principais que definem a lapiseira.



Fonte: extraído de Ferreira (2015, p. 155, figura 3).

A representação gráfica das PCs das amostras é denominada *scores*, que expressam as relações entre as amostras e, a das variáveis *loadings*, que expressam as relações entre as variáveis.

2.6.4 Análise Discriminante de Mínimos Quadrados Parciais com correção ortogonal de sinal

Como ferramenta a busca de informações específicas dentro de uma amostra ou conjunto de dados, os métodos de análise supervisionados são importantes da viabilização de reconhecimento de padrões de similaridade entre as classes determinadas em uma matriz de dados (FERREIRA, M., 2015).

A análise pelo método de mínimos quadrados parciais, PLS¹⁸, assim como a PCA tem o objetivo de reduzir a dimensão dos dados originais, com a diferença que a PLS proporciona que a decomposição de dados seja mais eficiente, pois maximiza a correlação da variância e previsão da variável dependente, mantendo, assim, o compromisso com a sua explicação e direciona a decomposição de dados as propriedades de interesse (FERREIRA, M., 2015; LILAND, 2011).

Aplicando a PLS à análise discriminatória, denominada: análise discriminante de mínimos quadrados parciais, PLS-DA¹⁹; há melhores resultados obtidos através da

¹⁸ PLS, sigla do inglês - *Partial Least Squares*

¹⁹ PLS-DA, sigla do inglês - *Partial Least Squares - Discriminant Analysis*

estimativa de covariância entre dados de uma matriz (FERREIRA, M., 2015; INDAHL *et al.*, 2007). A PLS-DA é aplicada quando se almeja a predição em medições realizadas em dois ou mais grupos experimentais (WORLEY; POWERS, 2016), *e.g.* diretrizes de cultivo e o tipo de tomate.

A análise discriminante de mínimos quadrados parciais ortogonais, OPLS-DA²⁰, é a aplicação de uma correção ortogonal de sinal, OSC²¹, à PLS-DA. A OPLS-DA é um método de regressão multivariada utilizada na extração de variações sistemáticas das variáveis (K TRIVEDI, 2012). Método que almeja proporcionar um modelo de separação máxima, que é dada pela variância máxima de um modelo, *i.e.*, essa separação ocorre ao serem informadas as classes conhecidas de uma matriz de dados (GUILLOCHEAU, 2020).

A OPLS-DA proporciona a discriminação de duas ou mais classes, esse método de análise tem a vantagem de um único componente ser utilizado com preditor de uma classe, enquanto as outras componentes descrevem a variação ortogonal ao primeiro componente preditivo (WESTERHUIS *et al.*, 2010).

Através da OPLS-DA é possível obter o gráfico de importância de variáveis, VIP²², que proporciona um gráfico de coeficientes que resume as variáveis que estão diretamente ligadas às classes informadas. Descrevendo, assim, quais variáveis têm maior contribuição sobre todos os outros componentes de uma classe (K TRIVEDI, 2012).

A determinação da acurácia preditiva do modelo de previsão de classes é dada através de um conjunto de critérios que facilitam essa avaliação, entre eles, o coeficiente de determinação (R^2), que varia entre 0 e 1, no qual 1 representa acurácia preditiva completa, e, são considerados valores de acurácia preditiva substancial, moderada e fraca, quando os valores se aproximam à 0,75, 0,50 e 0,25, respectivamente; e, a redundância de validação cruzada²³ (Q^2), que representa a um meio de avaliar a relevância preditiva interna de um modelo, no qual, quanto menor a diferença entre os valores preditivos e os originais, maior será o valor de Q^2 , e,

²⁰ OPLS-DA, sigla do inglês – *Orthogonal Partial Least Squares - Discriminant Analysis*

²¹ OSC, sigla do inglês – *Orthogonal Signal Correction*

²² VIP, sigla do inglês – *Variable Importance Plot*

²³ Do inglês, *Cross-validated redundancy*

consequentemente, a acurácia preditiva do modelo (HAIR, J. F. *et al.*, 2014, pp. 113–114).

Diversos trabalhos de ICP OES e quimiometria, aplicados ao estudo de alimentos podem ser destacados, dentre eles, a caracterização de química de amostras de mel (YÜCEL; SULTANOĞLU, 2013), a análise discriminante aplicada a diferenciação geográfica e análise elementar de amostras de lentilha (FOSCHI *et al.*, 2020), a análise de macro e micronutrientes em amostras de tomate cereja e tomate ameixa, com interesse na distinção entre os tipos de cultivo orgânico e convencional (CVIJANOVIĆ *et al.*, 2021).

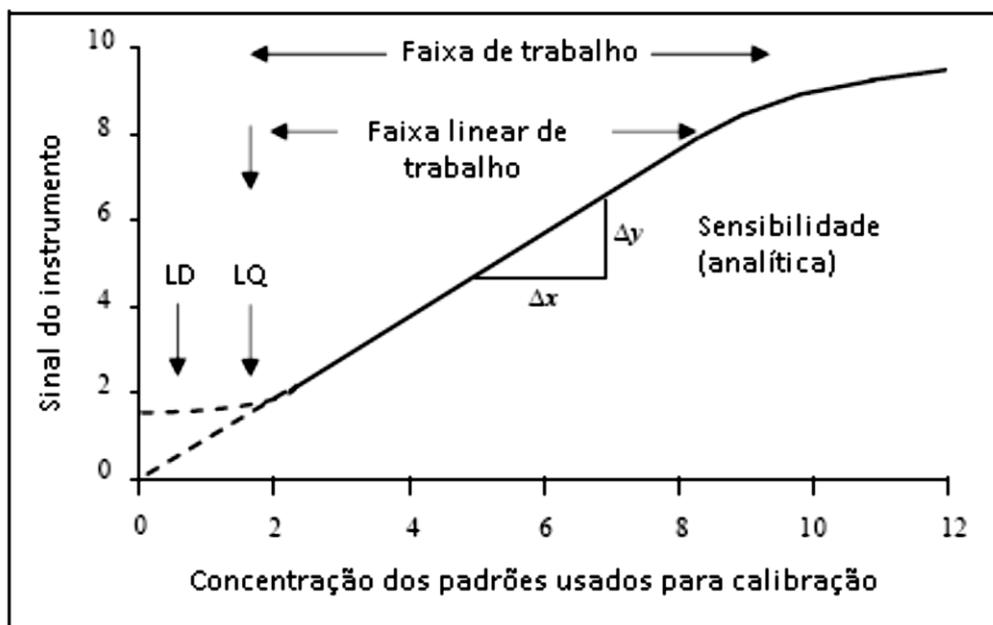
Também aplicados ao controle de qualidade de amostras de tomate, com o interesse na autenticação de tomates processado do tipo italiano, e, a busca pela identidade química das amostras de tomate, para a discriminação das origens dos tomates (FRAGNI *et al.*, 2018).

2.7 Validação de métodos analíticos

O processo de validação tem por objetivo garantir se os dados gerados no método desenvolvido são confiáveis e se podem ser aplicados em análise de rotina. No Brasil a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) através da Resolução da Diretoria Colegiada, RDC nº 166 de 2017 possui recomendações para validação em métodos analíticos e bioanalíticos (ANVISA, 2017). Além disso, o Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO) fornece guias de validação analítico através do documento DOQ-CGCRE – 008 de 2020 (INMETRO, 2020).

Os parâmetros analíticos normalmente utilizados para validação de métodos analíticos são a linearidade, precisão, exatidão, limite de detecção e limite de quantificação, como representado na Figura 10, parâmetros os quais serão brevemente descritos a seguir.

Figura 10: Exemplo típico de uma curva analítica com a identificação dos parâmetros de desempenho da faixa de trabalho, faixa linear de trabalho, sensibilidade, limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ).



Fonte: extraído de (INMETRO, 2020, p. 11 apud Eurachem, 2014, p. 28 - TRADUÇÃO)

2.7.1 Linearidade e faixa de trabalho

A linearidade corresponde a capacidade de uma metodologia analítica de demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, dentro de um intervalo especificado (ANVISA, 2003), parâmetro que deve ser apresentado através dos seguintes dados (I) representação gráfica das respostas em função da concentração do analito; (II) gráfico de dispersão dos resíduos, acompanhado de sua avaliação estatística; (III) equação da reta de regressão de y em x , estimada pelo método dos mínimos quadrados; (IV) avaliação da associação linear entre as variáveis por meio do coeficientes de correlação (R) e de determinação (R^2); e, (V) avaliação da significância do coeficiente angular (ANVISA, 2017, Art. 27).

Através da relação entre o a resposta da medição e a concentração da espécie química é possível realizar a sua quantificação dentro de uma amostra. Essa quantificação é possível através do cálculo da linearidade obtida através da padronização interna ou externa. Assim, é necessário estabelecer uma relação matemática entre a resposta instrumental e uma concentração pré-determinada (ANVISA, 2017). A relação entre essas duas variáveis é dada, matematicamente, através da Equação 7.

$$y = a + bx \qquad \text{Equação 7}$$

Onde:

- y = valor da resposta instrumental medida;
- x = valor de concentração;
- a = coeficiente linear (interseção com eixo y , quando $x = 0$);
- b = coeficiente angular (inclinação da curva analítica, *i.e.*, sensibilidade).

Os coeficientes da equação da reta são calculados através das equações, Equação 8 e Equação 9:

$$a = \frac{\sum y_i - b \sum x_i}{n} = \bar{y} - b\bar{x} \quad \text{Equação 8}$$

$$b = \frac{\sum(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sum(x_i - \bar{x})^2} \quad \text{Equação 9}$$

Onde:

- x_i , são os valores individuais de concentração;
- y_i , são os valores individuais de sinal instrumental;
- \bar{x} , é a média dos valores de x (concentração);
- \bar{y} , é a média dos valores de y (sinal instrumental).

Quanto mais sensível a técnica analítica, maior é a variação na resposta, ou seja, maior inclinação (b) (ANVISA, 2017). Para a ANVISA (2017) um coeficiente de correlação acima de 0,990 é considerado ideal.

A faixa de trabalho de um procedimento analítico, estabelecido entre a menor concentração e a maior concentração de um analito em uma amostra. Ela deve ser estabelecida a partir do estudo da linearidade, esse fator é dependente da aplicação pretendida, *i.e.*, para determinação de teor, deve ser considerada o valor entre 80 a 120% e para uniformidade de conteúdo, de 70 a 130% (ANVISA, 2017).

2.7.2 Limite de detecção e quantificação

O limite de detecção (LD) é utilizado, durante a validação, para estabelecer o limite inferior da faixa de operação prática do método. O limite de detecção pode variar conforme o tipo de amostra, devido a isso é de grande importância assegurar que todas as etapas do procedimento do método analítico sejam inclusas na determinação desse limite de detecção. Ao realizar uma validação de método analítico é

fundamental distinguir a detecção do analito do sinal do branco ou ruído (ELLISON *et al.*, 2000)

Com a finalidade de garantir a confiabilidade dos dados, com relação a determinação dos metais nas amostras de tomate, foram calculados os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) conforme Equação 10 de cada metal (SKOOG, 2017).

$$LD = \frac{3 \cdot SB}{m} \quad \text{Equação 10}$$

O limite de quantificação (LQ) é a quantidade mínima de um analito que é quantificada com um nível aceitável de precisão e exatidão no método desenvolvido. Equivale normalmente ao padrão de calibração de menor concentração, sem considerar o branco. (ANVISA, 2017; BRITO, N. M. *et al.*, 2003; INMETRO, 2020)

O LQ foi calculado de acordo com a Equação 11:

$$LQ = \frac{10 \cdot SB}{m} \quad \text{Equação 11}$$

Onde, para as equações Equação 10 e Equação 11, **SB** é o desvio padrão de medidas do branco e **m** é a sensibilidade da calibração, *i.e.*, coeficiente angular da equação da curva analítica de calibração (ANVISA, 2017; BRITO, N. M., 2003; FELIX *et al.*, 2005; INMETRO, 2020).

2.7.3 Precisão e Exatidão

A precisão tem como objetivo a avaliação da proximidade entre os resultados obtidos por meio de ensaios com amostras preparadas de acordo com os parâmetros a serem validados segundo a metodologia analítica proposta (ANVISA, 2017).

Os resultados foram expressos em valores de desvio padrão relativo (DPR) através da Equação 12.

$$\text{Precisão (DPR\%)} = \left(\frac{DP}{\bar{x}} \right) \cdot 100$$

Equação 12

Onde:

- DPR% é o desvio padrão relativo
- DP é o desvio padrão
- \bar{x} é a concentração média calculada;

A exatidão de um método pode ser medida através do cálculo do erro relativo percentual (*ER%*), *i.e.*, quanto menor o valor, maior a precisão (INMETRO, 2020), como expresso na Equação 13:

$$\text{Exatidão} = (ER\%) = \left(\frac{C_{\text{experimental}} - C_{\text{teórica}}}{C_{\text{teórico}}} \right) \cdot 100$$

Equação 13

Onde:

- *ER%* é o erro relativo percentual
- *C_{experimental}* é o valor de concentração medido experimentalmente
- *C_{teórico}* é o valor teórico de concentração

3 OBJETIVO

3.1 Objetivos gerais

Determinar a concentração de micronutrientes em amostras de tomate dos tipos cereja e italiano por meio da técnica analítica espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado, a fim de investigar por análises estatísticas multivariadas uma possível correlação entre as concentrações desses micronutrientes e os tipos de cultivo (orgânico ou convencional).

3.2 Objetivos específicos

- Realizar a otimização dos parâmetros utilizados digestão por micro-ondas para a matriz deste estudo;
- Estabelecer parâmetros na metodologia por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) para determinação da concentração de micronutrientes em tomates;
- Realizar análises estatísticas multivariadas para os dados de ICP OES das amostras em relação do seu cultivo (orgânico e convencional).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Instrumentação

4.1.1 Amostragem

Para a realização deste estudo foram utilizadas amostras de tomates de variedades e origens distintas, sendo estas das variedades tomate cereja e italiano, sub classificados em orgânicos e convencionais. Os termos “orgânico” e “convencional” foram escolhidos como *umbrella term* – “termo guarda-chuva” para as classes de tomates, tomando como princípio seu tipo de plantio e cultivo.

Foram obtidas, para realização deste estudo, amostras de 14 fontes distintas de tomates maduros, com pele, com massa total de aproximadamente 1 kg de cada fonte, sendo obtidos de 7 fontes de tomates de cultivo convencional, adquiridos em mercados da cidade de Campo Grande, Mato Grosso do Sul (3 amostras de tomate cereja e 4 amostras de tomate italiano) e 7 fontes de tomates de cultivo orgânico (2 amostras de tomates cereja de feira especializada em produtos orgânicos, 2 amostras de tomate cereja comercializados em mercados e 3 amostras de tomate italiano de produtores locais).

Dessas amostras foram selecionados, aleatoriamente, 7 tomates de cada um dos conjuntos de amostras de cada fontes; os tomates foram higienizados com água ultrapura, não houve a utilização de sabão nem detergentes, e tiveram sua pele preservada. Esses tomates foram assim armazenados em placas Petri de vidro, previamente higienizadas, identificadas e pesadas.

Conforme apresentado na Tabela 12, para identificação das amostras foi utilizado a identificação por números de acordo com a quantidade de fontes coletadas (de 1 a 14), e organizadas de acordo com o tipo de tomate (cereja ou italiano), a diretriz de cultivo (orgânico ou convencional) e, a origem da coleta (feira de produtos orgânicos, produtor local ou mercado)

Tabela 12: Identificação das amostras de tomate por tipo, diretriz de cultivo e origem de coleta.

Amostra	Tipo de tomate	Diretriz de cultivo	Origem de coleta
1	Cereja	Orgânico	Feira de Produtos Orgânicos
2	Cereja	Orgânico	Feira de Produtos Orgânicos
3	Cereja	Orgânico	Mercado
4	Cereja	Orgânico	Mercado
5	Italiano	Orgânico	Produtor local
6	Italiano	Orgânico	Produtor local
7	Italiano	Orgânico	Produtor local
8	Cereja	Convencional	Mercado
9	Cereja	Convencional	Mercado
10	Cereja	Convencional	Mercado
11	Italiano	Convencional	Mercado
12	Italiano	Convencional	Mercado
13	Italiano	Convencional	Mercado
14	Italiano	Convencional	Mercado

4.1.2 Secagem

De cada uma das fontes de tomates, foram retiradas, aleatoriamente, 7 tomates maduros e com pele, que foram pesados e acomodados em placas de vidro; placas que foram devidamente higienizadas, secas e pesadas.

O processo de secagem, para eliminação do maior percentual de água presente nos tomates, foi realizado seguindo as diretrizes recomendadas por Santos Junior (2016) e utilizadas no estudo de Bressy (2013), a fim de eliminar a volatilização de espécies químicas voláteis e preservar as amostras, inibindo a atividade microbiana; o processo de secagem foi realizado em estufa, com aquecimento em uma etapa isotérmica de 65 °C por 72 horas.

A estufa foi previamente limpa com álcool isopropílico e mantida em um patamar isotérmico de 150 °C por 24 horas, com a finalidade de eliminar possíveis agentes voláteis contaminantes.

Conforme apresentado na Tabela 13, as massas iniciais de cada uma das amostras analisadas, seguindo o padrão de selecionar 7 tomates, aleatoriamente, dentro de um conjunto de tomates coletados em cada fonte.

Tabela 13: Massa inicial das amostras de tomates in natura, antes da secagem em estufa a 65 °C por 72 horas.

Amostra	Massa inicial(g)
1	30,7822
2	64,1722
3	56,9934
4	88,7948
5	69,1194
6	71,7497
7	41,8409
8	71,7016
9	100,8550
10	453,1120
11	408,8810
12	848,5768
13	679,0531
14	742,0805

4.1.3 Moagem

O processo de moagem foi realizado através de colaboração com Laboratório de Pesquisa 2 (LP2), com moinho analítico, aumentando assim a superfície de contato da matriz, otimizando a técnica de análise.

Foi utilizado o Moinho Analítico – Q298A, moinho de impacto, cuja velocidade de rotação é de até 16000 rpm, potência 180 W, capacidade de volume de carga de até 50 mL. A moagem foi realizada em temperatura ambiente, em ciclos de moagem de 30 segundos, até que houvesse a identificação visual da moagem completa das amostras.

O armazenamento dos tomates, foi realizado em potes esterilizados, para que a possibilidade de contaminação fosse eliminada e armazenadas em freezer, para que não houvesse degradação da matriz.

Figura 11: Foto ilustrativa da moagem das amostras de tomate



Fonte: Elaborado pelo autor.

4.1.4 Decomposição de Amostras por Via Úmida Assistida por Radiação Micro-ondas

O processo de decomposição da amostra foi realizado através de digestor com micro-ondas *SpeedWave®four* da BERGHOF, na Faculdade de Medicina na Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, FAMED-UFMS, do laboratório de metabolismo mineral, de potência total 1650 W, no qual as amostras foram submetidas ao processo de digestão descrito na Tabela 14.

As amostras foram previamente pesadas, as quais foram retiradas de um *pool* homogêneo de cada uma das amostras, para cada uma das amostras X, foram separadas duplicatas Xa e Xb, as massas foram padronizadas em massa de $\approx 0,250$ g, devido a capacidade de massa do tubo digestor. O meio ácido selecionado foi determinado 2 mL de ácido nítrico 65% e 3 mL de peróxido de hidrogênio 30% PA e 5 mL de água ultrapura, totalizando 10 mL, os volumes foram transferidos para os tubos digestores através de micropipeta de volume variável.

Após testes iniciais no equipamento, seguindo a programação inicial, recomendada pelo fabricante, foram feitos ajustes de temperatura, pressão e tempo de duração dos patamares isotérmicos, foram obtidos os seguintes parâmetros apresentados na Tabela 14:

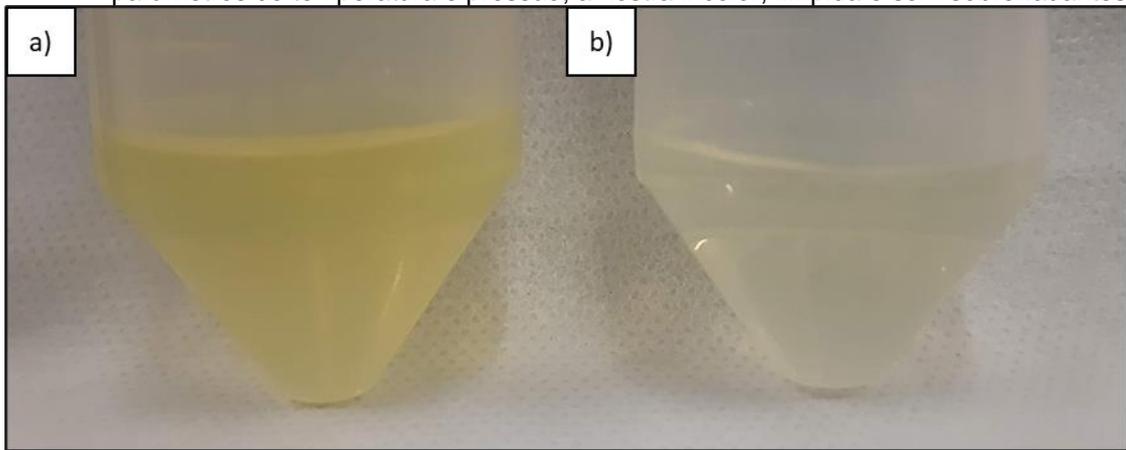
Tabela 14: Detalhamento das etapas e patamares do processo de mineralização via digestor com micro-ondas.

Patamar	Temperatura (°C)	Pressão (kPA)	Tempo (s)	Potência (W)
1	150	3000	300	1106
2	190	3000	600	1106
3	50	2500	60	-*

*Não é aplicada potência nessa etapa – patamar de resfriamento dos tubos digestores.

O processo tem a duração de 21 minutos, a diferença de tempo do total apresentado na Tabela 14 é devido ao tempo das rampas de aquecimento e resfriamento dos tubos de digestão.

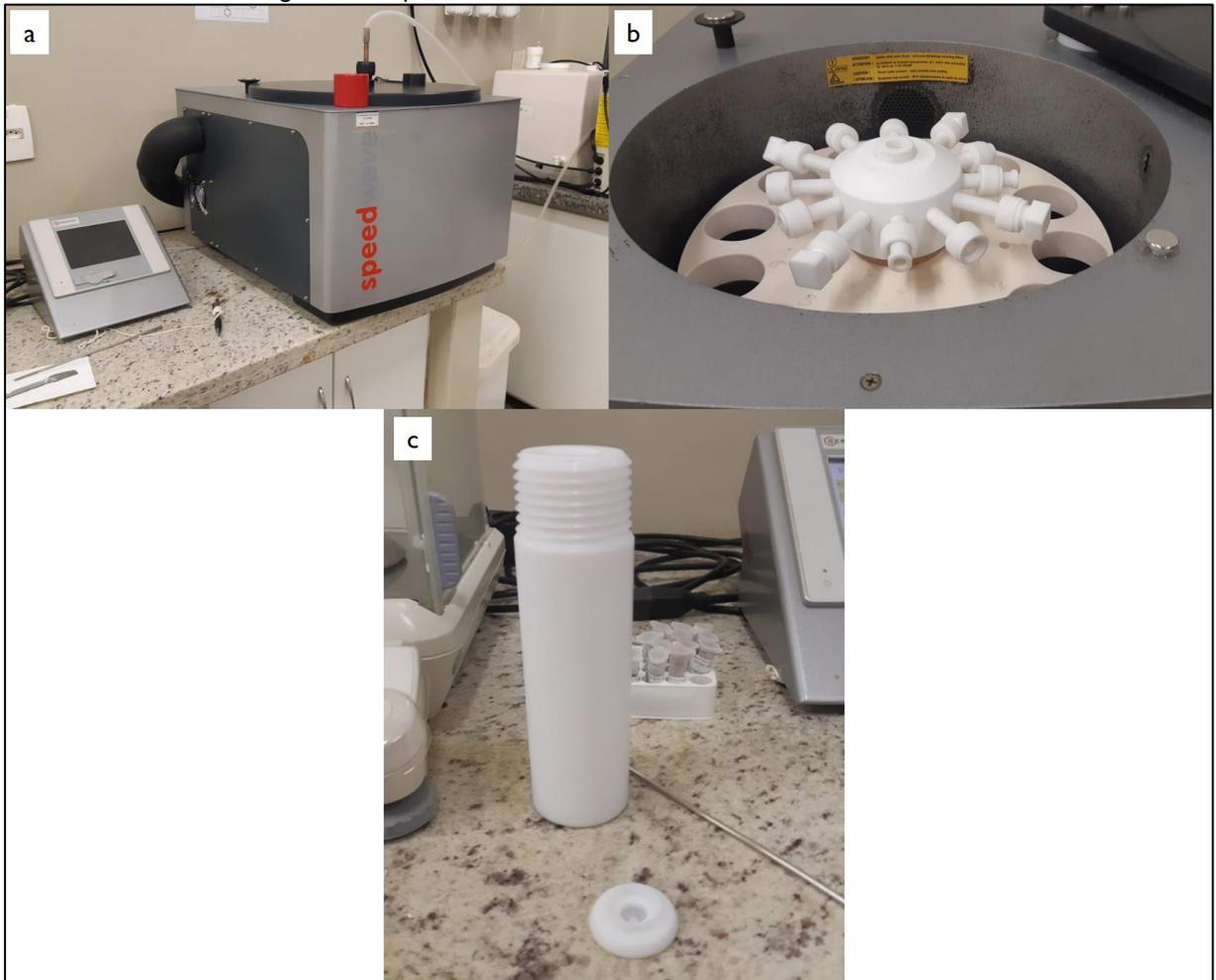
Figura 12: Foto ilustrativa da comparação da decomposição de amostras por via úmida assistida por radiação micro-ondas. (a) Utilizando os parâmetros sugeridos pelo fabricante; amostra com coloração amarelada intensa, turva e com sobrenadantes. (b) Após ajustes dos parâmetros de temperatura e pressão; amostra incolor, límpida e sem sobrenadantes.



Fonte: Elaborado pelo autor.

O equipamento utilizado para a realização deste estudo, cedido pela FAMED-UFMS, é apresentada na Figura 13 sua estrutura e alguns de seus componentes:

Figura 13: Foto ilustrativa do equipamento utilizado na decomposição de amostras por via úmida assistida por radiação micro-ondas: **a.** Digestor por micro-ondas *SpeedWave@four*; **b.** Disco rotativo para os tubos de digestão, com suporte e válvulas de ejeção de gases; **c.** Tubo de digestão de poliuretano.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Após o processo de mineralização e resfriamento dos tubos, estes foram levados a capela, para sua abertura, foi realizada a despressurização dos tubos e em seguida transferidos para tubos de centrifuga tipo Falcon de 50 mL, com volume final de 10 mL, posteriormente analisado por ICP OES.

4.1.5 Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES)

As análises foram realizadas do espectrômetro de emissão óptica com plasma de modelo *iCAP6300 Duo* da *Thermo Scientific®*, utilizando a argônio ultrapuro como gás nebulizador, refrigerador e auxiliar.

Para a introdução das amostras no equipamento foram utilizados os parâmetros descritos na Tabela 15, os quais não são alteráveis, por recomendação do fabricante.

Tabela 15: Parâmetros do equipamento ICP OES.

Injeção de amostras	
Injetor de amostra utilizado	Nebulizador
Tipo de tudo da bomba	<i>Tygon</i> laranja/branco
Taxa de fluxo da bomba (rpm)	50
Tempo do fluxo de amostragem (s)	30,00
Potência de Rádio Frequência (W)	1150
Tempo de estabilização da bomba (s)	5,00
Taxa de análise da bomba (rpm)	50
Fluxo do gás nebulizador – Argônio ultrapuro (L min⁻¹)	0,70
Fluxo do gás refrigerador – Argônio ultrapuro (L min⁻¹)	12,00
Fluxo do gás auxiliar – Argônio ultrapuro (L min⁻¹)	0,50
Ângulo de visão	<i>Dual view</i> (radial/axial)

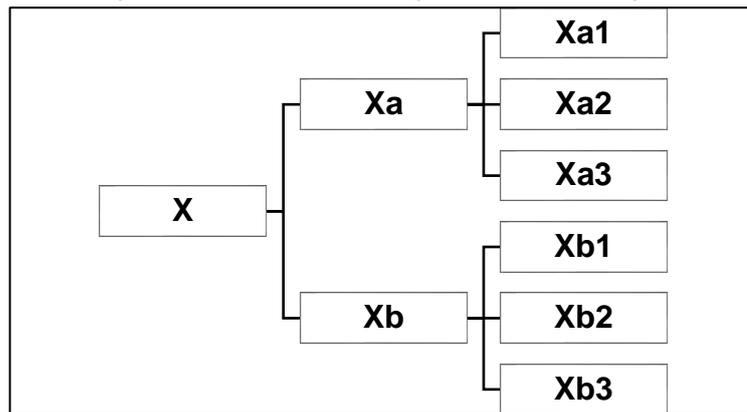
A análise das amostras realizada através da sucção da amostra dos tubos com as amostras, através de uma bomba peristáltica, levada ao nebulizador cônico concêntrico em vidro uma das partes do equipamento considerada crucial para a eficiência da técnica analítica, pois através deste há a formação do aerossol com particulado de dimensão em torno de 2 µm.

O nebulizador está conectado a câmara de nebulização do tipo ciclone, que promove a seleção das gotículas de menor diâmetro, que são direcionadas pela parte superior da câmara a entrada ao canal em que haverá a excitação do particulado através do plasma.

Após a nebulização da amostra ocorrer esta é direcionada a parte superior da câmara de nebulização, no qual se localiza o plasma gerado com gás argônio. Oposto a entrada da nébula da amostra, na parte inferior da câmara, está localizada a purga da amostra cuja nebulização não gerou particulados com diâmetro adequado.

Para cada uma das amostras X, foram separadas duplicatas Xa e Xb e, foi realizada a leitura em triplicada (Xa1, Xa2, Xa3, Xb1, Xb2, Xb3), como representado no esquema na Figura 14.

Figura 14: Esquema de duplicatas de amostras e triplicatas de leitura para cada amostra.



Fonte: Elaborada pelo autor.

4.2 Validação do método analítico

A validação do método analítico aplicado as amostras de tomate na técnica de análise ICP OES foram realizadas através dos critérios aceitos pela comunidade científica, os parâmetros selecionados para a validação foram: linearidade, limite de detecção, limite de qualificação, precisão e a exatidão, expressa em recuperação percentual.

A linearidade foi avaliada através das curvas analíticas foi construída através de calibração externa com padrões analíticos, em seguida as amostras foram submetidas ao processo de digestão por via úmida assistido por micro-ondas e análise em ICP OES.

A equação da reta Equação 7, foi obtida através da curva de calibração, por meio de software Excel, assim como o coeficiente de determinação (R^2) e coeficiente de correlação linear (R).

Foram utilizados na construção da curva analítica de calibração oito níveis de concentração, (0,01, 0,025, 0,050, 0,100, 0,250, 0,500, 1,000 e 2,000 mg kg⁻¹) em triplicata, com a obtenção de $n = 24$ pontos iniciais de calibração, no qual, para cada elemento foi analisado a faixa de trabalho mais adequada, e a quantidade de pontos na curva de calibração adequada para melhores valores de precisão no cálculo da concentração e coeficiente de correlação e determinação, como exposto na Tabela 16:

Tabela 16: Representação do comprimento de onda da linha de emissão, da faixa de trabalho e quantidade de pontos na curva de calibração.

Elemento químico	Comprimento de onda da linha de emissão (nm)	Faixa de trabalho (mg kg ⁻¹)	Número de Pontos na curva de calibração
Al	167,079	0,100 – 2,000	13
Cd	228,802	0,010 – 0,250	12
Co	228,616	0,010 – 0,500	11
Cr	283,563	0,010 – 0,250	10
Cu	324,754	0,010 – 1,000	16
Fe	259,940	0,500 – 2,000	15
Mn	257,610	0,010 – 0,500	14
Ni	221,647	0,010 – 0,250	12
V	309,311	0,025 – 0,500	16
Zn	213,856	0,010 – 2,000	22

Fonte: Elaborado pelo autor.

As curvas analíticas de calibração (Anexo I, p. 122), foram determinadas para cada elemento químico analisado através da correlação da resposta de intensidade de emissão em relação aos níveis de concentrações pré-determinadas, onde também são apresentadas as equações da reta e o coeficiente de determinação (R^2) correspondentes.

O limite de detecção (LD) foi estabelecido através da Equação 10 e o limite de quantificação (LQ) através da Equação 11.

A precisão foi avaliada em triplicata em três níveis diferentes baixo, médio e alto, calculada pela Equação 12 e a exatidão foi expressa através do erro relativo percentual pela Equação 13.

Os cálculos de concentração de cada elemento foram realizados para cada uma das leituras, através da equação da reta obtida para cada elemento através da curva analítica de calibração. O valor da concentração das leituras de cada um dos elementos analisados, expresso em miligrama por litro (mg L⁻¹), foi calculado para o volume amostra de 10 mL. A partir desse valor foi calculada a concentração de cada elemento em mg na para a amostra desidratada e, em seguida a concentração para cada elemento em mg kg⁻¹ para as amostras in natura.

4.3 Análise quimiométrica

Os dados obtidos através da análise por ICP OES, foram submetidos ao programa computacional *online MetaboAnalyst*, versão 5.0, programa de licença livre. Para a realização das análises estatísticas multivariadas, os dados foram submetidos ao método de pré-tratamento auto escalamento, análise realizada por PCA (*Principal Component Analysis*), HCA (*Hierarchical Clusters Analysis*), no qual, foi utilizada a distância euclidiana e para o método de agrupamento (*clusters*), foi utilizado o método Ward; e representação por dendrograma e mapa de calor (*Heatmap*) e, a OPLS-DA (*Orthogonal Partial Least Squares - Discriminant Analysis*).

As matrizes de dados foram construídas no programa *Microsoft Office 365 Excel*, salvo em arquivo do tipo “.csv”, onde, nele foram nomeadas as amostras, designadas suas respectivas classes e discriminadas as concentrações para cada uma das variáveis (elementos), nas quais as amostras correspondem às linhas e as variáveis às colunas da matriz.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através do processo de secagem as amostras, foram calculados os percentuais de água presentes em cada uma das amostras, Tabela 17, na qual são apresentadas as massas iniciais de cada amostra, as massas finais de cada amostra, e, o percentual de água, calculado para cada uma das amostras; do qual foi obtido o percentual médio de $93,59\% \pm 1,36$ de água em sua composição.

Tabela 17: Massa inicial e final das amostras de tomate, após secagem em estufa a 65 °C por 72 horas.

Amostra	Massa inicial(g)	Massa final (g)	Água (%)
1	30,7822	2,9397	90,45
2	64,1722	4,1327	92,96
3	56,9934	3,9496	93,54
4	88,7948	6,6241	93,56
5	71,7497	4,6350	93,07
6	69,1194	4,8660	92,54
7	41,8409	3,0920	93,19
8	71,7016	4,8829	94,85
9	100,8550	6,0412	94,01
10	453,1120	30,2317	92,61
11	408,8810	21,0546	93,33
12	848,5768	40,4443	95,23
13	679,0531	37,1734	95,53
14	742,0805	34,6761	95,33

Fonte: Elaborado pelo autor.

Para fins de ilustração do processo de secagem, a Figura 15 representa um dos estágios do escurecimento dos tomates, o qual, possivelmente, ocorreu nas primeiras 24 ou 48 horas. Nessa etapa, possivelmente, houve o início do processo de escurecimento dos tomates, *i.e.*, escurecimento do tipo enzimático, relacionado a temperatura aplicada e ao alto percentual de água disponível.

Figura 15: Foto ilustrativa dos tomates em processo de secagem em estufa, após 24 horas em estufa a 65 °C.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Ao final da etapa de secagem das amostras, processo que durou 72 horas, houve a observação do processo de escurecimento das amostras de tomates, Figura 16, o qual, pode ter ocorrido pelo escurecimento do tipo não-enzimático, devido à ausência de água, inativando, assim, as enzimas e promovendo a degradação de açúcares e aminoácidos presentes no tomate.

Figura 16: Foto ilustrativa dos tomates em processo de secagem em estufa, a 65 °C, após 72 h.



Fonte: Elaborado pelo autor.

5.1 Análise Por Espectrometria De Emissão Óptica Com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES)

5.1.1 Parâmetros do Método

Foram avaliados os parâmetros de confiabilidade analítica do método através das curvas analíticas de calibração de cada elemento (Anexo I, pp. 122-126), das quais foram determinados o coeficiente de determinação (R^2), coeficiente de correlação linear (R), limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ), organizados na Tabela 18:

Tabela 18: Parâmetros de confiabilidade analítica calculados para cada elemento químico analisado.

Elemento	R^2	R	LD (mg L ⁻¹)	LQ (mg L ⁻¹)
Al	0,9978	0,9989	0,0018	0,0060
Cd	0,9979	0,9989	0,0002	0,0008
Co	0,9979	0,9989	0,0002	0,0008
Cr	0,9988	0,9994	0,0005	0,0016
Cu	0,9984	0,9992	0,0006	0,0021
Fe	0,9989	0,9994	0,0008	0,0028
Mn	0,9981	0,9990	0,0001	0,0002
Ni	0,9983	0,9991	0,0004	0,0014
V	0,9963	0,9981	0,0005	0,0018
Zn	0,9996	0,9998	0,0003	0,0011

R^2 - Coeficiente de determinação

R - Coeficiente de correlação linear

LD - Limite de detecção

LQ - Limite de quantificação

Na Tabela 18 é possível observar que para todos os elementos foram obtidos excelentes valores de correlação linear, sendo o menor valor 0,9981.

A determinação dos níveis de precisão e exatidão foi obtida através da avaliação e cálculos para cada elemento, calculados em três níveis, alto médio e baixo, definidos dentro da faixa linear de trabalho para cada elemento, nos quais, foram obtidos bons valores de precisão, entre 0,02 e 2,52%. Os valores de exatidão foram calculados através do cálculo do erro relativo percentual para os mesmos níveis, apresentando valores entre 0,13 e 8,53%. Os dados foram tabulados e apresentados na Tabela 19:

Tabela 19: Valores dos parâmetros de confiabilidade analítica, precisão e exatidão, expressa por erro relativo percentual, calculados para três níveis (n=3); alto médio e baixo, calculados para cada elemento.

Elemento	Nível	Concentração do Nível (mg L ⁻¹)	Precisão (DPR (%))	Exatidão (%)
Al	Baixo	0,250	0,96	2,95
	Médio	0,500	0,27	1,80
	Alto	2,000	1,73	1,46
Cd	Baixo	0,025	0,90	8,01
	Médio	0,100	0,30	6,84
	Alto	0,250	0,18	0,97
Co	Baixo	0,050	0,21	7,97
	Médio	0,100	0,52	1,85
	Alto	0,500	0,67	1,03
Cr	Baixo	0,250	0,70	1,14
	Médio	1,000	0,62	6,36
	Alto	2,000	0,19	0,60
Cu	Baixo	0,050	2,52	8,53
	Médio	0,250	0,07	0,13
	Alto	1,000	0,71	4,58
Fe	Baixo	0,100	0,53	0,99
	Médio	0,500	0,51	3,52
	Alto	2,000	0,25	3,72
Mn	Baixo	0,050	1,48	2,73
	Médio	0,100	0,80	4,43
	Alto	0,500	0,47	1,00
Ni	Baixo	0,050	0,63	6,91
	Médio	0,100	0,06	1,13
	Alto	0,250	0,02	0,33
V	Baixo	0,050	1,70	7,33
	Médio	0,100	0,50	0,50
	Alto	0,500	0,24	1,83
Zn	Baixo	0,050	0,40	5,43
	Médio	0,500	0,73	0,37
	Alto	2,000	0,37	0,35

DPR – Desvio Padrão Relativo

5.1.2 Determinação da concentração dos elementos

O cálculo das concentrações de cada elementos, almejados nesse estudo, presentes em cada amostra foi realizado através da equação da reta determinada através da curva de calibração analítica, obtida para cada elemento. A determinação da concentração foi realizada em relação as massas das amostras ($\approx 0,250$ mg), em seguida calculado para a massa dos tomates in natura (Tabela 13) e, conseqüentemente calculados para a concentração em mg kg^{-1} de amostra.

Os dados de concentração obtidos foram organizados de forma a apresentar a concentração de cada elemento (colunas) e o seu desvio padrão relativo percentual, e as amostras (linhas), na Tabela 20.

Tabela 20: Valores das concentrações calculadas para as amostras in natura para cada amostra.

Amostra	Al (mg kg ⁻¹)	DPR (%)	Cd (mg kg ⁻¹)	DPR (%)	Co (mg kg ⁻¹)	DPR (%)	Cr (mg kg ⁻¹)	DPR (%)	Cu (mg kg ⁻¹)	DPR (%)	Fe (mg kg ⁻¹)	DPR (%)	Mn (mg kg ⁻¹)	DPR (%)	Ni (mg kg ⁻¹)	DPR (%)	V (mg kg ⁻¹)	DPR (%)	Zn (mg kg ⁻¹)	DPR (%)
1a	5,2455	0,51	ND	-	0,0529	1,56	0,1880	4,19	1,0869	0,83	8,0782	0,33	1,3123	0,25	0,0880	5,74	0,3771	0,33	2,1560	0,43
1b	5,3135	0,89	ND	-	0,0517	0,87	0,2040	8,40	1,0756	0,52	8,4319	0,91	1,3042	0,46	0,0818	4,96	0,3728	0,29	2,1097	0,49
2a	3,9739	2,94	ND	-	ND	-	0,1078	3,27	0,6580	1,63	6,4711	2,27	1,0866	2,42	0,0627	9,67	0,3487	2,17	1,4751	2,57
2b	3,7242	0,72	ND	-	ND	-	0,1304	12,29	0,6847	0,68	6,7411	0,94	1,1343	0,56	0,0617	5,02	0,3703	0,63	1,4796	0,11
3a	1,2903	3,20	ND	-	ND	-	0,1569	8,31	0,6478	3,15	3,2949	4,21	0,4893	4,14	0,0434	8,97	0,2518	3,48	0,9191	2,67
3b	1,8852	1,37	ND	-	ND	-	0,1830	0,71	0,6714	1,36	3,4899	0,73	0,5157	0,66	0,0676	1,11	0,2684	0,71	0,9879	0,26
4a	1,0594	1,44	ND	-	ND	-	0,1478	8,17	0,3802	2,14	3,2837	3,63	0,4567	2,83	0,0332	4,67	0,2285	2,08	0,9033	2,16
4b	1,0798	0,42	ND	-	ND	-	0,1732	2,51	0,4094	1,27	3,6129	0,85	0,4883	0,32	0,0479	2,68	0,2404	0,51	0,9557	0,59
5a	1,1573	2,40	ND	-	ND	-	0,1047	6,21	0,5807	2,06	3,9093	3,22	0,4883	3,61	0,0225	12,97	0,2701	3,03	1,4084	3,07
5b	1,1462	0,80	ND	-	ND	-	0,0938	5,39	0,5776	0,68	3,8584	0,53	0,4824	0,59	0,0178	3,22	0,2684	0,30	1,3690	0,35
6a	1,5580	3,74	ND	-	ND	-	0,0865	4,37	0,6943	2,50	3,7676	3,62	0,4466	4,74	0,0806	11,04	0,2272	3,73	1,4805	3,21
6b	1,4616	0,74	ND	-	ND	-	0,1071	0,72	0,7201	1,98	4,0433	0,77	0,4827	0,63	0,0866	1,52	0,2448	0,54	1,5248	0,19
7a	1,7633	1,69	ND	-	ND	-	0,0607	3,23	0,5652	0,61	3,7687	1,37	0,4918	1,53	ND	-	0,2461	1,59	1,3763	1,24
7b	1,6230	0,72	ND	-	ND	-	0,0780	1,09	0,7275	2,24	4,5942	1,24	0,4987	1,44	ND	-	0,2489	0,89	1,4678	0,13
8a	0,8680	2,67	ND	-	ND	-	0,0390	3,03	0,4158	1,96	2,3531	2,80	0,6718	2,54	0,0388	7,98	0,2381	2,39	0,9158	2,13
8b	0,9392	0,64	ND	-	ND	-	0,0476	1,02	0,4206	1,56	2,2338	0,82	0,6733	1,03	0,0552	0,32	0,2430	0,82	0,9799	0,79
9a	1,5268	1,68	ND	-	ND	-	0,0151	6,51	0,2128	1,83	3,1804	1,28	0,6490	1,62	ND	-	0,2046	1,87	1,0782	1,25
9b	1,4717	0,48	ND	-	ND	-	0,0185	7,54	0,2098	2,22	3,3576	1,02	0,6432	0,99	ND	-	0,2085	0,93	1,1249	1,37
10a	2,2507	1,74	ND	-	ND	-	0,0616	2,33	0,5968	1,08	3,7952	1,48	1,2948	1,74	ND	-	0,3258	1,57	1,3197	1,72
10b	2,0704	0,53	ND	-	ND	-	0,0611	2,17	0,6155	0,96	4,5289	0,22	1,3335	0,25	ND	-	0,3388	0,31	1,3376	0,27
11a	1,1506	1,95	ND	-	ND	-	0,0329	9,67	0,9974	1,39	2,3559	1,84	0,8274	1,64	0,0177	1,20	0,2752	1,26	1,0473	1,36
11b	0,8905	0,86	ND	-	ND	-	0,0435	5,23	1,0281	1,55	2,4111	1,43	0,8554	1,06	0,0263	4,11	0,2809	1,28	1,0855	0,19
12a	0,8538	1,84	ND	-	ND	-	0,0132	9,24	0,4800	1,59	1,7187	2,11	0,4621	2,35	ND	-	0,1705	1,95	0,5676	1,40
12b	1,0133	0,45	ND	-	ND	-	0,0185	2,06	0,4903	1,67	1,7661	0,72	0,4851	0,78	ND	-	0,1836	0,87	0,6231	0,87
13a	1,0714	1,95	ND	-	ND	-	0,0129	3,06	0,4704	2,29	2,2376	2,26	0,6257	2,56	ND	-	0,2161	2,29	0,7572	1,66
13b	1,1336	0,67	ND	-	ND	-	0,0154	4,55	0,4796	1,07	2,1200	0,47	0,6420	0,14	ND	-	0,2243	0,54	0,7840	0,30
14a	1,0147	1,06	ND	-	ND	-	0,0118	4,52	0,5400	1,97	1,8542	1,83	0,6140	1,88	ND	-	0,1538	2,16	0,7882	1,20
14b	1,0529	0,78	ND	-	ND	-	0,0256	1,85	0,5645	0,53	1,9974	0,49	0,6652	0,70	ND	-	0,1704	0,22	0,8585	0,37

Identificação das amostras: 1a, 1b, 2a e 2b – tomates do tipo cereja de cultivo orgânico obtidos em feira de produtos orgânicos; 3a, 3b, 4a e 4b – tomates do tipo cereja de cultivo orgânico obtidos em mercado; 5a, 5b, 6a, 6b, 7a e 7b – tomates do tipo italiano de cultivo orgânico obtidos de produtores locais; 8a, 8b, 9a, 9b, 10a e 10b – tomates cereja de cultivo convencional obtidos em mercado; 11a, 11b, 12a, 12b, 13a, 13b, 14a e 14b – tomates do tipo italiano de cultivo convencional obtidos em mercado.; DPR% - Desvio padrão relativo percentual; ND – Não detectado.

No conjunto de amostras analisadas nesse trabalho, o elemento Cd não foi detectado nas amostras. O elemento Co detectado apenas nas amostras 1a e 1b, e, nas demais amostras, não, pois, a intensidade de emissão também ficou muito abaixo do início da faixa linear de trabalho. Assim, esses elementos foram retirados das variáveis discutidas nesse estudo, focando, assim, nas demais.

Nos cálculos de quantificação do elemento Fe, as amostras 1a, 1b, 2a e 2b apresentaram valores de concentração acima da faixa linear de trabalho, Tabela 21. Embora, de acordo com a Resolução nº 899, de 29 de maio de 2003 (ANVISA, 2003), possa se considerar valores na quantificação de analitos de até 20% acima da faixa linear de trabalho, que se aplica as amostras 1 e 2, essas amostras serão submetidas a nova análise para a quantificação na faixa de trabalho linear adequada para a elaboração do artigo, fruto deste estudo.

Tabela 21: Concentrações de Fe nas amostras 1a, 1b, 2a e 2b.

Amostra	Concentração (mg L⁻¹)
1a	2,1252 ± 0,0071
1b	2,2531 ± 0,0204
2a	2,3787 ± 0,0532
2b	2,4464 ± 0,0230

Considerando as informações contidas na Tabela 20, é relevante observar que na interpretação dos dados dos valores de concentração obtidos é razoável considerar que para a diferenciação, em elementos que há diferenças significativas nos valores de concentrações é possível a tentativa da interpretação, quando não são levadas em consideração as demais variáveis.

Como apresentado na Tabela 22, há variações significativas entre as menores e maiores concentrações calculadas para cada elemento, assim, a tentativa de distinção entre as amostras pelas concentrações de Al, Fe e Zn, feita exclusivamente por esse fator, não possibilita afirmar que haja relação entre as concentrações das amostras e o seu tipo de cultivo.

Tabela 22: Dados relativos ao desvio padrão e a variância entre o menor e o maior valores das concentrações dos elementos entre as amostras.

Elemento	DP	Variância (%)
Al	124,7	155,49
Cr	6,14	0,38
Cu	22,59	5,11
Fe	179,49	322,18
Mn	30,19	9,12
Ni	2,47	0,06
V	6,19	0,38
Zn	39,04	15,24

DP – Desvio padrão.

Em relação às concentrações de Cr, Cu, Mn, Ni e V, a baixa variância entre os valores de concentração calculados, 0,38, 5,11, 9,12, 0,06 e 0,38%, respectivamente, mostram, o quão complexa e difícil pode ser a análise visual dos dados, quando, levado em consideração, como fator de qualificação, exclusivamente, a quantidade de dados envolvidas no estudo, *i.e.*, suas concentrações.

Assim, foi necessário que os dados desse estudo fossem submetidos a tratamentos estatísticos refinados, a fim de obter a maior quantidade de informações das identidades químicas das amostras, *i.e.*, identificar grupos no qual a interrelação de uma ou mais características não podem ser identificadas pela observação direta. Ao submeter aos tratamentos estatísticos adequados, através da quimiometria, foi possível identificar quais são as características de maior semelhança e as diferenças entre as amostras estudadas.

Dentre as características, foi possível identificar quais amostras são mais parecidas e quais são mais distintas, assim como quais elementos químicos apresentam correlação na identificação dos grupos, e, o quão relevantes são à determinadas diretrizes de cultivo e tipos de tomates, pontos que serão discutidos a seguir.

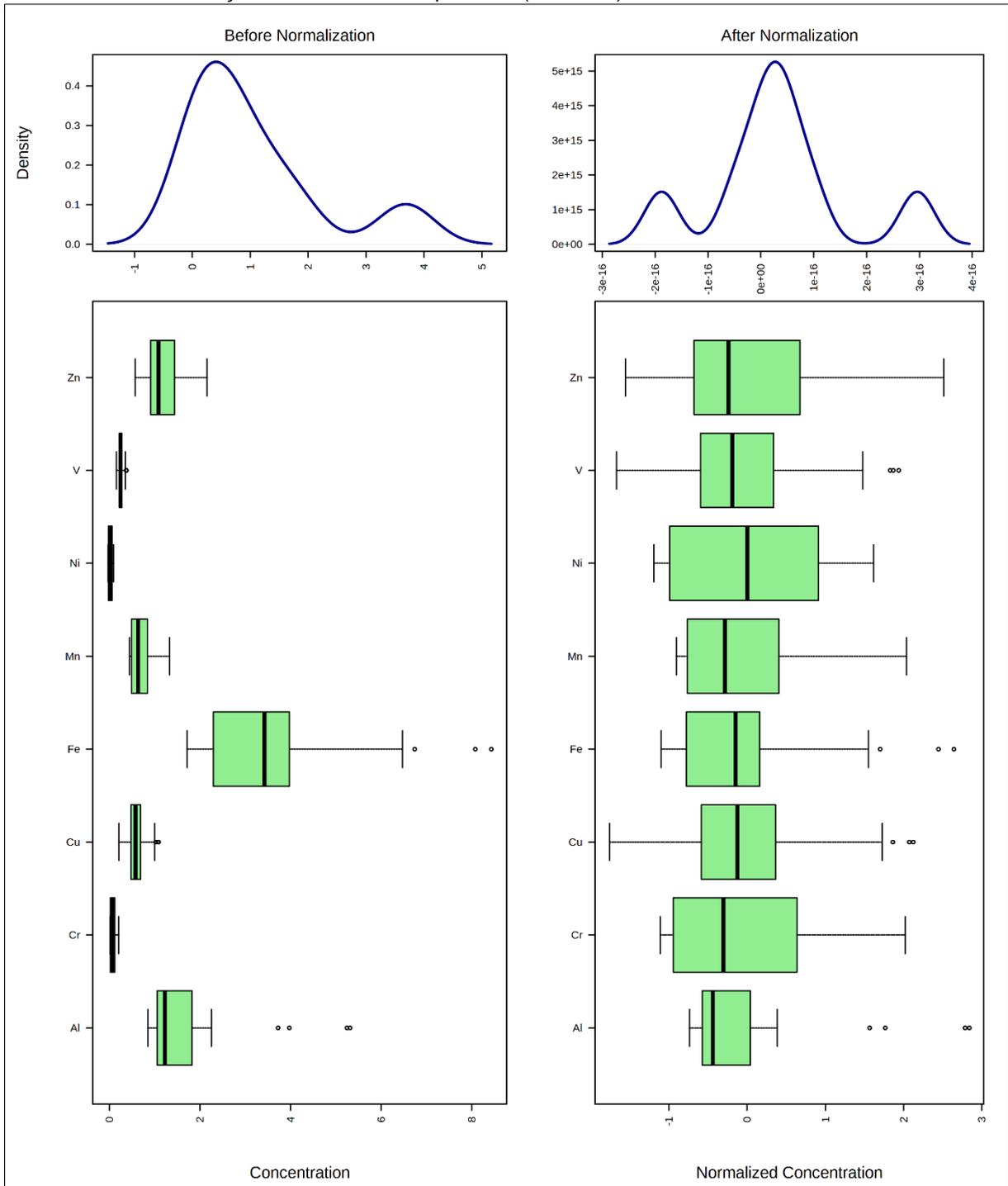
5.2 Análise Estatística Multivariada

5.2.1 Pré-tratamento de dados

Na análise quimiométrica da matriz de dados desse estudo, na análise estatística multivariada, foi aplicado o pré-tratamento às variáveis, *i.e.*, elementos, o auto escalamento; não foi aplicado nenhum método de pré-tratamento às amostras da matriz de dados.

A representação gráfica, apresentada na Figura 17, mostra o resultado do pré-tratamento aplicado às variáveis auto escalamento aplicado as variáveis (colunas) do conjunto de dados da matriz; no qual os dados de concentração são considerados à mesma importância, e não, somente, ao valor de concentração é levado em consideração.

Figura 17: Representação gráfica²⁴ do pré-tratamento aplicado às variáveis dos dados de concentrações dos elementos químicos (variáveis): auto escalamento.



²⁴ Tradução livre dos termos em inglês da Figura 17:
Density: Densidade
Concentration: Concentração
Normalized Concentration: Concentração Normalizada
Before Normalization: Antes da Normalização
After Normalization: Depois da Normalização

5.2.2 *Clustergram* – Análise Hierárquica de Agrupamentos (HCA) com Mapa de Calor (*Heatmap*)

A análise de todas as amostras do estudo empregando a análise hierárquica de agrupamentos (HCA) combinada com mapa de calor (*heatmap*) proporcionou a obtenção de um *clustergram*, Figura 18, no qual foi observada a separação de três grupos de amostras (horizontal) e, complementarmente, o agrupamento dos elementos químicos (vertical), apresentando assim suas similaridades.

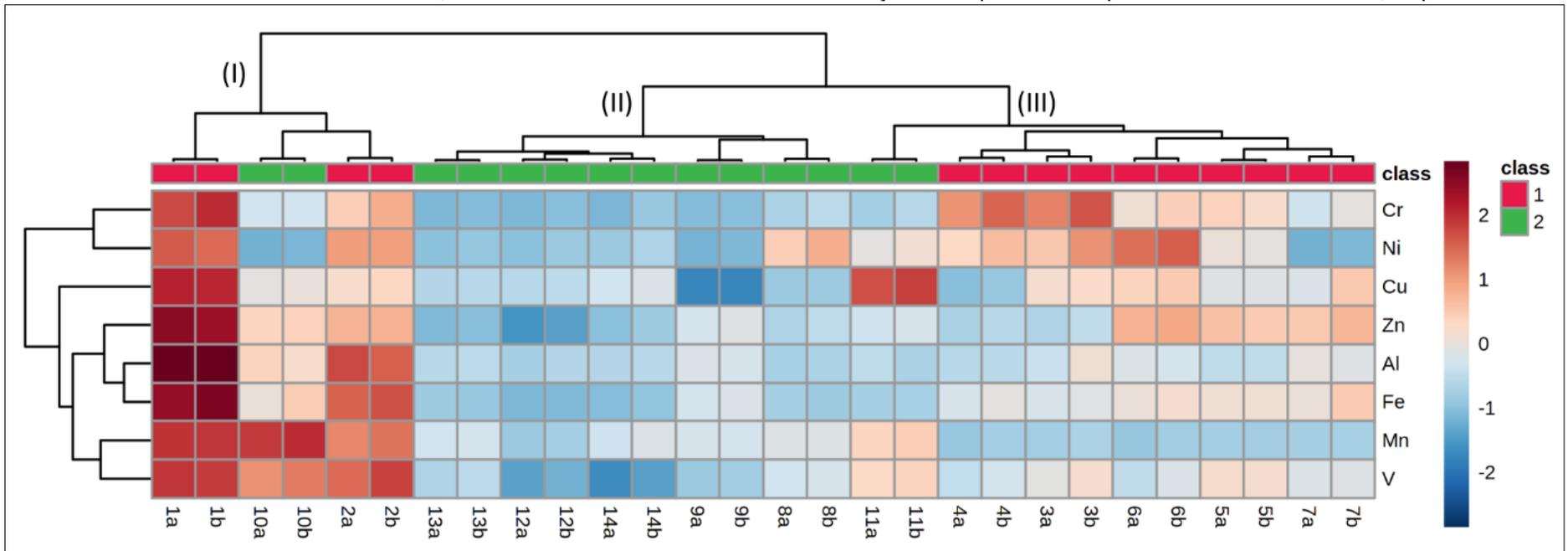
Os parâmetros utilizados no pré-tratamento foram tabulados na Tabela 23, as quais apresentaram as melhores condições para a análise.

Tabela 23: Parâmetros de pré-tratamento de dados aplicados a HCA

Parâmetros da HCA	
Medida de distância	Distância Euclidiana
Método de agrupamento	Método de conexão de Ward
Pré-tratamento (variáveis)	Auto escalamento
Pré-tratamento (amostras)	Nenhuma

Houve, portanto, através da análise da HCA e *heatmap*, a identificação de três agrupamentos distintos (I) amostras 1, 2 e 10; (II) amostras 8, 9, 12,13 e 14; e, (III) amostras 3, 4, 5, 6, 7 e 11.

Figura 18: *Clustergram* - dendrograma bidimensional de análise hierárquica de agrupamentos (HCA) combinado com visualização por mapa de calor (*Heatmap*), de todas as amostras de tomate analisadas por ICP OES. Classes: 1 – Amostras de tomates de cultivo orgânico; 2 – Amostras de tomates de cultivo convencional; os maiores e menores valores de concentração são representados pelas cores vermelho e azul, respectivamente.



Identificação das amostras: 1a, 1b, 2a e 2b – tomates do tipo cereja de cultivo orgânico obtidos em feira de produtos orgânicos; 3a, 3b, 4a e 4b – tomates do tipo cereja de cultivo orgânico obtidos em mercado; 5a, 5b, 6a, 6b, 7a e 7b – tomates do tipo italiano de cultivo orgânico obtidos de produtores locais; 8a, 8b, 9a, 9b, 10a e 10b – tomates do tipo cereja de cultivo convencional obtidos em mercado; 11a, 11b, 12a, 12b, 13a, 13b, 14a e 14b – tomates do tipo italiano de cultivo convencional obtidos em mercado.

Os valores representados no mapa de calor, correspondem aos valores obtidos pelo auto escalamento, através da Equação 4, página 56, assim, todos os valores têm o mesmo peso, ao serem centrados na média e divididos pelo desvio padrão.

5.2.2.1 Agrupamento I

O agrupamento I, Figura 18, é constituído pelas amostras 1, 2 e 10, onde, as amostras 1 e 2, apresentam as maiores concentrações dos elementos analisados, as quais são amostras de tomate orgânicos do tipo cereja obtidas de produtores em feira de produtos orgânicos, e a amostra 10, de tomates do tipo cereja de cultivo convencional obtidos em mercado.

Nas amostras 1 e 2 é possível notar que há maior concentração, principalmente, dos elementos Al, Fe, Zn e Mn, em relação às demais amostras, o que pode indicar que o solo no qual houve o plantio dessas amostras não foi realizada a correção de pH, pois, como explicado por Malavolta (1989), em solos com pH ácido, há a maior disponibilidade desses elementos, e, também apresentados nos trabalhos de Cardoso (2011) e Maeda (1997), os quais indicam que o solo sul-mato-grossense apresenta pH ácido, *i.e.*, pH entre 3,8 e 6,3.

Relacionando esse fator à região na qual as amostras foram obtidas, como apresentado por Coleti (2007), através do Relatório de Avaliação Ambiental do Programa de Desenvolvimento Integrado e Qualificação Urbana de Campo Grande/MS – Viva Campo Grande, o município, localizado no estado de Mato Grosso do Sul, tem o seu solo constituído pelas seguintes classes de solo: latossolos vermelhos distróficos, latossolos vermelhos distroféricos, neossolos quartzarênicos hidromórficos e neossolo lítólicos.

Os tipos de solos latossolos vermelho apresentam altos teores de óxido de ferro III (Fe_2O_3), dióxido de silício (SiO_2), óxido de alumínio (Al_2O_3), dióxido de manganês (MnO_2) e dióxido de titânio (TiO_2), e o solos dos tipos neossolos são, também, ricos em Fe_2O_3 (EMBRAPA, 2018). Esses tipos de solo, naturalmente, possuem maior disponibilidade dos elementos Fe, Al e Mn, combinados com o pH

ácido do solo dessa região, corroboram a maior concentração desses elementos nas amostras estudadas.

No agrupamento vertical, para esse grupo, há a proximidade dos elementos Al e Fe, e, na mesma ramificação Zn, o que pode ser relacionado à tendência de associação devido aos óxidos de ferro e manganês, que absorverem uma quantidade significativa de zinco (CAMARGO, 2006).

A amostra 10 faz parte desse agrupamento, pela proximidade dos valores de concentração de Al, Fe e Zn, mas também, e, principalmente, pelos elementos Mn e V, onde, o elemento Mn é, predominantemente, encontrado na forma de óxidos (CARVALHO FILHO *et al.*, 2011), os quais, são fontes para esse elemento.

A presença do elemento vanádio, com valores de concentração nesse grupo, chegando a ser, até, 2,45 vezes maior do que nas demais amostras, pode ser indicador da localidade na qual foi realizado o cultivo dos tomates. Uma das principais fontes de V no solo é relacionada a queima de combustíveis, através do pentóxido de vanádio (V_2O_5) (JATAV, H. S. *et al.*, 2020)

Como também discutidos nos estudos de Barwise, (1990), Bettinelli e Tittarelli, (1994) e Navarro *et al.*, (2007); no qual o acúmulo de V pode ser um indicativo da proximidade de centros urbanos e regiões industriais, e, também, no estudo de Anke, (2004), um indicativo de áreas com consideráveis níveis de poluição.

5.2.2.2 Agrupamento II

O agrupamento II, Figura 18 (p. 94), é constituído pelas amostras 8, 9, 12, 13 e 14, as amostras 8 e 9 são as amostras de tomates cereja de cultivo convencional obtidos em mercado, e, as amostras 12, 13 e 14 são as amostras de tomates do tipo italiano de cultivo convencional obtidos em mercado.

Com a análise do HCA e mapa de calor, indica para essas amostras, oposto ao agrupamento I, valores de concentração consideravelmente menores, relacionados aos elementos Al, Fe, Zn e Mn, como discutidos anteriormente, podendo, assim ser relacionados ao pH do solo, essa diminuição considerável da disponibilidade desses elementos no solo as plantas é um forte indicador que, o solo,

no qual houve o cultivo dessas amostras, foi submetido ao processo de calagem, *i.e.*, aplicação de calcário no solo a fim de elevar o seu pH a valores mais adequados ao plantio (LOPES, A. S., 1991; MALAVOLTA, 1980).

Como explicado por Potafos, (1998, cap. 7), o aumento do pH do solo, tem relação direta com a disponibilidade de micronutrientes no solo, onde, para elementos Mn e Zn, pode ocorrer a diminuição em até 30 vezes da disponibilidade desses elementos quando o pH do solo fica entre 5,0 e 7,0.

Complementarmente, através da análise do gráfico de HCA e mapa de calor, foi possível identificar no dendrograma horizontal, de amostras, a separação das amostras pelo seu tipo, cereja e italiano, mostrando que, há diferenças, também, na composição de micronutrientes nos diferentes tipos de tomates, *i.e.*, há diferenças significativas nos valores de concentração dos micronutrientes que possibilitam a diferenciação em um método supervisionado de análise exploratória.

5.2.2.3 Agrupamento III

O agrupamento III, Figura 18 (p. 94), é constituído pelas amostras 3, 4, 5, 6, 7 e 11; onde, as amostras 3 e 4 são as amostras de tomates do tipo cereja de cultivo orgânico obtidos em mercado; as amostras 5, 6 e 7 são as amostras de tomates do tipo italiano de cultivo orgânico obtidos de produtores locais; e a amostra 11, as amostras tomates do tipo italiano de cultivo convencional obtidos em mercado.

Na análise do gráfico de HCA e mapa de calor, é percebido, também a importância dos elementos Al, Fe e Zn, indicativos que, embora em menor concentração, em relação as amostras do agrupamento I, apresentam valores positivos no mapa de calor. Possível indicador que não houve alteração, ou baixa interferência no pH do solo, no qual houve o cultivo dos tomates. Uns dos indicadores relevantes são os valores de concentração de Zn nas amostras, pois como apresentado por Potafos, (1998, cap. 7), sua disponibilidade no solo é limitada em solos com pH superior a 5,0.

Os elementos Cr e Ni, embora apresentem baixos valores de concentração, entre 0,0607 e 0,1830 mg kg⁻¹ e 0,0178 e 0,0866 mg kg⁻¹, respectivamente, quando auto escalonados, apresentam “peso” relevante na diferenciação, entre as amostras

de tipos de cultivo orgânico e convencional. O elemento Ni não foi detectado na amostra 7.

Outrossim, é notável que, nesse conjunto de amostras, o elemento Cr, apresente valores de concentração até 15 vezes maior no conjunto de amostras de cultivo orgânico, em relação as amostras de cultivo convencional. Como apresentado no estudo de Bartlett (1979), sobre o comportamento do Cr no solo, o pH do solo é um dos principais fatores para a sua maior disponibilidade, quando em 3,0 e 5,0, promove maior absorção do elemento.

No estudo de Banks *et al.*, (2006), há a discussão sobre o comportamento do Cr, quando há matéria orgânica adicionada ao solo, no qual é apresentado que em solos no qual há maiores concentrações de Fe e Mn, e, matéria orgânica, combinado com pH ácido do solo, há o favorecimento da mobilidade do Cr no solo e, conseqüentemente, há maior absorção do elemento pelas plantas.

O elemento Ni, também tem sua disponibilidade do solo afetada diretamente pelo pH do solo, *i.e.*, em solos com pH mais ácidos há maior distribuição e disponibilidade do elemento no solo (UREN, 1992).

5.2.3 Análise de Componentes Principais – PCA

Através da análise estatística multivariada da matriz de dados, de todas as amostras²⁵, foi realizada a análise de componentes principais, PCA, no qual, em um gráfico em um plano bidimensional, composto pelas componentes principais 1 e 2, PC1 e PC2, respectivamente; apresentou os dados da distribuição espacial das amostras.

A distribuição espacial das informações contidas na matriz de dados, gerou a representação gráfica das informações referentes à distância entre as amostras, *i.e.*,

²⁵ Identificação das amostras:

- 1a, 1b, 2a e 2b – tomates do tipo cereja de cultivo orgânico obtidos em feira de produtos orgânicos;
- 3a, 3b, 4a e 4b – tomates do tipo cereja de cultivo orgânico obtidos em mercado;
- 5a, 5b, 6a, 6b, 7a e 7b – tomates do tipo italiano de cultivo orgânico obtidos de produtores locais;
- 8a, 8b, 9a, 9b, 10a e 10b – tomates do tipo cereja de cultivo convencional obtidos em mercado;
- 11a, 11b, 12a, 12b, 13a, 13b, 14a e 14b – tomates do tipo italiano de cultivo convencional obtidos em mercado.

semelhanças e diferenças. A representação gráfica de *scores*, Figura 19 (A), com 82,1% de variância explicada nas duas primeiras componentes principais, contém a informação de todas as amostras analisadas por ICP OES, onde, também são mostradas as elipses de intervalo de confiança de 95% da distribuição espacial das amostras, onde, amostras com perfil químico parecido ao das amostras se localizariam; e de *loadings*, Figura 19 (B), no qual, são apresentadas as contribuições de cada um dos elementos químicos para a distribuição espacial das amostras.

Assim, a seguir, são apresentadas as análises comparativas através dos gráficos de *scores* e *loadings*. O gráfico de *loadings* possibilita a visualização da discriminação das amostras.

Através da análise do gráfico de *scores*, Figura 19 A, as amostras 1 e 2, apresentaram certo distanciamento em relação às demais amostras do grupo de cultivo orgânico, localizadas em PC1, $\approx -6,0$ e $\approx -3,0$, respectivamente, opostos às demais amostras, as quais, na PC1, estão localizadas entre $\approx -1,0$ e $\approx 4,0$.

A análise do gráfico de *loadings* possibilita atribuir aos elementos Al, Fe, Zn e V a discriminação das classes, apresentando valores negativos para PC1, entre -0,42 e -0,38 e valores mais positivos para PC2, entre 0,0 e 0,2.

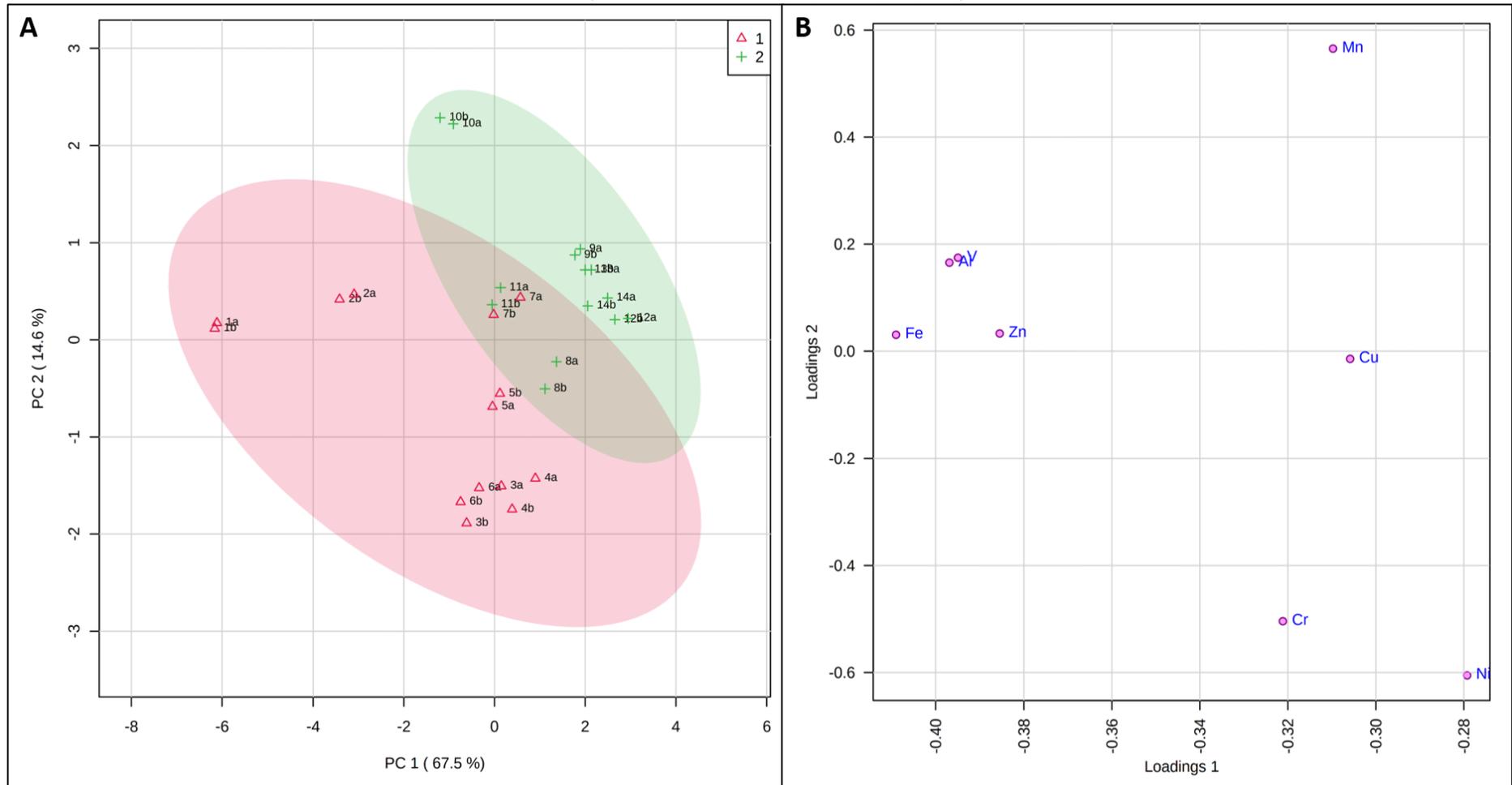
Na análise do gráfico de *scores*, a amostra 5 está localizada em PC1 $\approx 0,0$ e PC2 $\approx -0,5$, onde, no gráfico de *loadings*, podem ser atribuídos aos elementos Zn, Ni e Cr maior peso para o seu deslocamento, no plano bidimensional, em relação às demais amostras desse grupo. Para as amostras 3, 4 e 6, na análise do gráfico de *scores*, apresenta relativa proximidade, localizadas na PC1, entre $\approx -1,0$ e $\approx 1,0$ e PC2 entre $\approx -1,5$ e $\approx -2,0$; às quais podem ser atribuídas aos maiores pesos de deslocamento aos elementos Cr, Ni e Cu.

Nas elipses de intervalo de confiança de 95%, notou-se uma intercessão, indicando a proximidade das características de algumas amostras, principalmente nos conjuntos de amostras 11 e 7, localizadas em PC1 ≈ 0 e PC2 $\approx 0,5$, e a amostra 8 em PC1 $\approx 1,0$ e PC2 $\approx -0,5$.

Para essas amostras, na análise do gráfico de *scores* pode ser atribuído ao elemento Cu maior peso no gráfico de *loadings* às amostras 7 e 11, como principal fator para a intersecção dos grupos, e para a amostra 8, através da análise do gráfico

de *loadings* podem ser atribuídos os elementos Ni e Cr, em PC1 valores próximos a $\approx -0,30$ e PC2 com valores mais próximos à $\approx 0,0$.

Figura 19: Representação gráfica da Análise de Componentes Principais (PCA), gráfico bidimensional de *scores* (A) e de *loadings* (B) de todas as amostras analisadas por ICP OES, com elipses de região de confiabilidade de 95%. Classes: $\Delta 1$ – Amostras de tomates de cultivo orgânico; +2 – Amostras de tomates de cultivo convencional. Variância explicada: PC1 x PC2, 67,5 e 14,6%, respectivamente.



Identificação das amostras: 1a, 1b, 2a e 2b – tomates do tipo cereja de cultivo orgânico obtidos em feira de produtos orgânicos; 3a, 3b, 4a e 4b – tomates do tipo cereja de cultivo orgânico obtidos em mercado; 5a, 5b, 6a, 6b, 7a e 7b – tomates do tipo italiano de cultivo orgânico obtidos de produtores locais; 8a, 8b, 9a, 9b, 10a e 10b – tomates cereja de cultivo convencional obtidos em mercado; 11a, 11b, 12a, 12b, 13a, 13b, 14a e 14b – tomates do tipo italiano de cultivo convencional obtidos em mercado.

5.2.4 Análise Discriminante de Mínimos Quadrados Parciais com correção ortogonal de sinal – OPLS-DA

Na representação gráfica da OPLS-DA, o eixo X representa a primeira componente, ou variável latente, e, o eixo Y representa a primeira componente ortogonal, é possível interpretar, com maior facilidade, as informações contidas nas componentes obtidos da análise discriminante de mínimos quadrados parciais (PLS-DA), aplicando, a esses dados, a correção ortogonal de sinal (OSC).

Através da remoção, no eixo X, da variação sistemática não correlacionada, obtém-se um modelo no qual a predição dos agrupamentos é preservada, e a interpretação das correlações é melhorada. (TRYGG; WOLD, 2002). A representação gráfica *VIP scores*²⁶, indica a razão da importância de cada variável na projeção OPLS-DA, na qual há a indicação das variáveis mais relevantes na composição da modelo de predição.

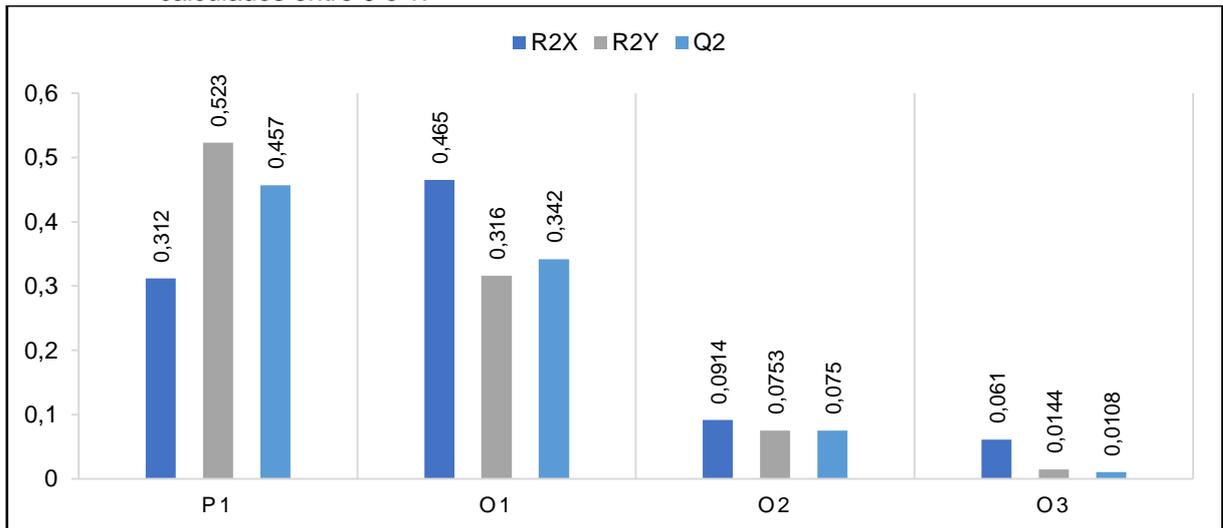
Os valores de parâmetros para o modelo OPLS-DA, Figura 20, foram calculados entre 0 e 1, onde, foram os obtidos os valores da variância explicada no eixo X (R2X), da variância explicada no eixo Y (R2Y) e da performance preditiva do modelo (Q2), valores referentes a componente preditiva (P1) e as componentes ortogonais (O1, O2 e O3).

Quando os valores referentes a R2Y e Q2, são mais próximos à 1,0, melhor será a capacidade de previsão do modelo, todavia, pode-se dizer que para modelos com valores são maiores que 0,5, há a indicação que o modelo tem boa previsibilidade e, também, deve haver pouca diferença entre os valores de R2Y e Q2. Esses valores podem indicar, em um modelo OPLS-DA, a sua capacidade de predição de classes (SHANG, J. *et al.*, 2014)

Para o modelo OPLS-DA, os valores para de R2Y e Q2, na P1, foram 0,523 e 0,457, e em O1, 0,316 e 0,342, respectivamente, o que indica que o modelo OPLS-DA apresenta acurácia preditiva moderada para o conjunto de amostras estudadas.

²⁶ *VIP*, sigla em inglês, *Variable Importance in Projection*. Em *VIP scores*, indica a razão da importância de cada variável na projeção OPLS-DA.

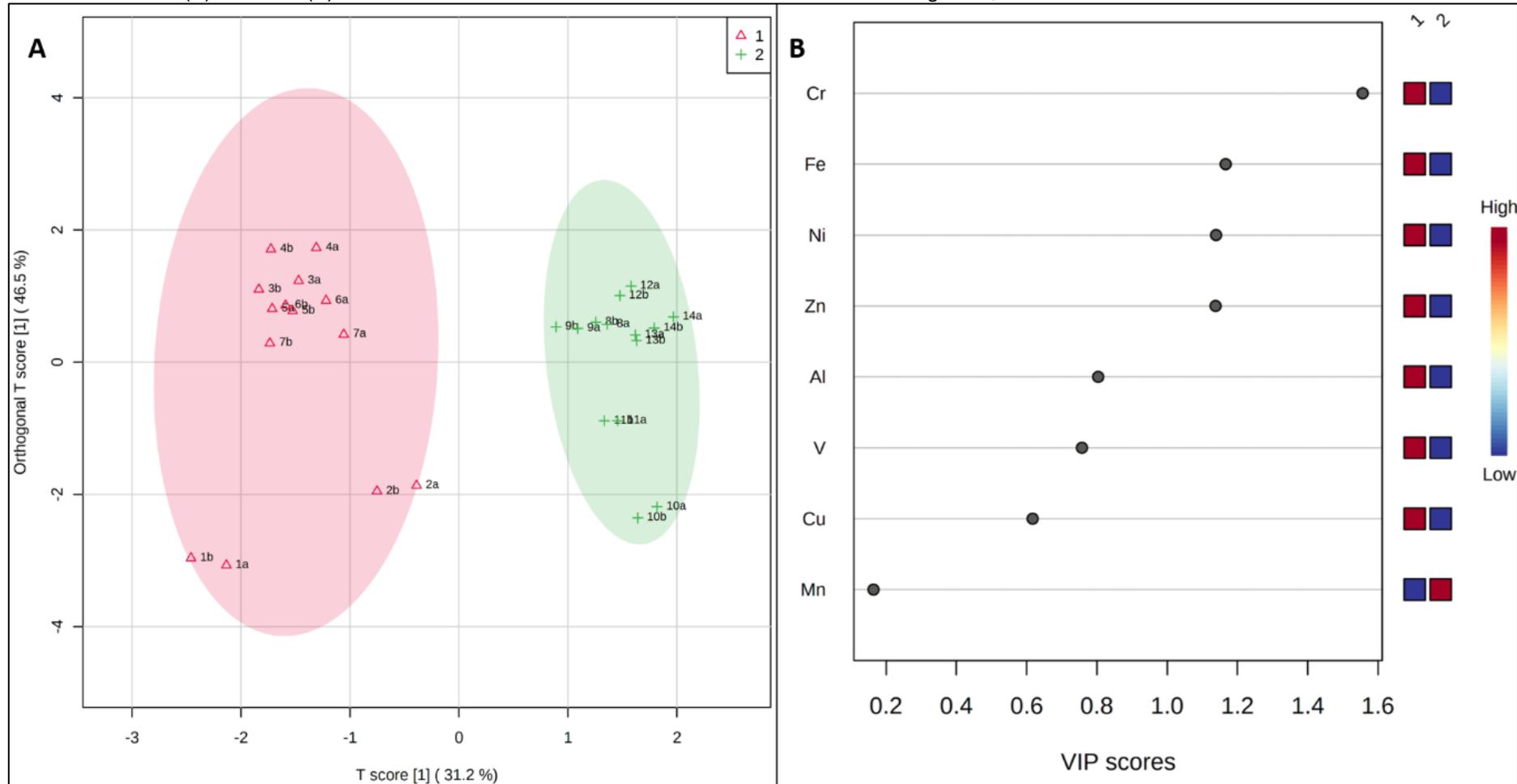
Figura 20: Representação gráfica com os valores de R2X, R2Y e Q2, do modelo OPLS-DA. Valores calculados entre 0 e 1.



R2X: Variância explicada no eixo X;
 R2Y: Variância explicada no eixo Y;
 Q2: Performance preditiva do modelo.

Através da análise dos gráficos da OPLS-DA, Figura 21 (A), é possível observar que o modelo de predição de classes apresenta uma boa separação entre as classes de amostras de tomate de cultivo orgânico e convencional. No gráfico de *VIP scores*, Figura 21 (B), há a indicação que os elementos Cr (1,55), Fe (1,16), Ni (1,13) e Zn (1,13), apresentam os maiores valores de significância na previsão do modelo OPLS-DA, seguido dos elementos pobre-classificadores Al (0,80), V (0,75), Cu (0,61) e Mn (0,16) que apresentaram menor importância, nesse conjunto para previsão do modelo.

Figura 21: Representação gráfica do modelo de previsão OPLS-DA de todas as amostras analisadas por ICP OES, com elipses de região de confiabilidade de 95%. (A) scores e (B) VIP scores. Classes: Δ 1 – Amostras de tomates de cultivo orgânico; + 2 – Amostras de tomates de cultivo convencional.



Identificação das amostras: 1a, 1b, 2a e 2b – tomates do tipo cereja de cultivo orgânico obtidos em feira de produtos orgânicos; 3a, 3b, 4a e 4b – tomates do tipo cereja de cultivo orgânico obtidos em mercado; 5a, 5b, 6a, 6b, 7a e 7b – tomates do tipo italiano de cultivo orgânico obtidos de produtores locais; 8a, 8b, 9a, 9b, 10a e 10b – tomates do tipo cereja de cultivo convencional obtidos em mercado; 11a, 11b, 12a, 12b, 13a, 13b, 14a e 14b – tomates do tipo italiano de cultivo convencional obtidos em mercado.

Para fins de comparação, motivado pelas amostras 1 e 2 terem apresentados valores de concentração para Fe acima da faixa de trabalho analítico, a análise estatística multivariada foi feita com todas as amostras, seguindo as mesmas análises estatísticas, excluindo o elemento Fe, apresentados no ANEXO II (p. 127), no qual, notou-se que não houve alterações relevantes em todo o conjunto do modelo.

6 CONCLUSÃO

O método analítico proposto, a análise por ICP OES dos micronutrientes das amostras de tomates, mostrou-se como uma técnica viável para a análise, na determinação das concentrações dos micronutrientes. Contudo, é necessário frisar que a utilização da análise estatística multivariada foi imprescindível para a interpretação dos dados, uma vez que, a grande quantidade de dados e os baixos valores de concentração dos micronutrientes, isoladamente, não proporcionam informações conclusivas.

Em relação aos valores de concentração de micronutrientes nas amostras de tomates, pode-se dizer que, provavelmente, o fator pH do solo seja o mais relevante na disponibilidade dos micronutrientes no solo e o favorecimento da absorção pelas plantas, *i.e.*, em solos de pH ácido há maior disponibilidade dos micronutrientes.

Assim, os menores valores de concentração dos micronutrientes analisados, nas amostras de tomates cultivados de modo convencional, podem ser um indicador da aplicação de métodos de correção do pH, durante o processo de cultivo dos tomates, pois o solo sul-mato-grossense, que é composto pelos solos dos tipos latossolos e neossolos, apresentam, como característica, pH ácido e grande quantidade de óxidos de alumínio e ferro.

Devido a esse fator, o método proposto nesse estudo não pôde indicar se houve a utilização de fertilizantes no processo de cultivo, sendo indicado que seja realizado estudo comparativo entre o solo e os tomates para que possa se afirmar que foram utilizados fertilizantes no processo de cultivo.

A análise estatística multivariada foi imprescindível para a interpretação dos dados do estudo. Através da HCA e *heatmap*, foi possível visualizar a relevância de cada elemento analisado para cada amostra e para o conjunto de estudado. Possibilitou também a diferenciação das amostras de tomates pelo tipo de cultivo, orgânico ou convencional, e a identificação que há a separação entre as amostras entre os tipos de tomate, cereja e italiano.

O modelo de predição proposto pela OPLS-DA, apresentou que os elementos Cr, Fe, Ni, Zn e Al apresentam maior relevância na diferenciação dos tipos de cultivo estudados, na qual há acurácia preditiva moderada na separação das classes nesse modelo, sendo a OPLS-DA muito importante para a compreensão de quais elementos apresentam as maiores relevâncias para o modelo. Por outro lado, uma combinação de elementos é necessária para essa diferenciação, uma vez que ela não é limitada a um único elemento exclusivamente.

Portanto, pode-se dizer que o método proposto cumpriu seu objetivo, no qual, foi possível realizar a diferenciação das amostras em relação aos processos de produção, cultivo orgânico ou convencional, *i.e.*, as diferenças nos valores de concentração dos elementos, podem ser relacionadas à possível correção do pH do solo, que, conseqüentemente, é um dos principais fatores responsáveis pela disponibilidade de micronutrientes no solo.

À vista disso, pode-se assumir que o pH do solo foi o fator com as maiores contribuições à diferenciação dos processos de cultivo, dada a sua relação direta com a disponibilidade de micronutrientes no solo às plantas, sendo este, um indicador interessante das possíveis alterações das características físico-químicas originais do solo.

7 RECOMENDAÇÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS

A complementação desse estudo pode ser realizada através da comparação com outros métodos analíticos, através da análise de outros vegetais em conjunto ao solo de cultivo, no qual mais fatores podem ser avaliados, como pH e composição do solo, promovendo a compreensão da disponibilidade de micronutrientes no solo.

A partir desse estudo, será elaborado artigo científico para difusão das informações obtidas. As análises referentes ao elemento Fe serão refeitas, em uma nova faixa de trabalho analítico. Através do modelo OPLS-DA, serão analisadas mais amostras para a publicação dos resultados obtidos.

O projeto terá continuidade pelo grupo de pesquisa, serão estudadas outras matrizes e a será realizado o estudo comparativo do solo e as amostras de vegetais.

8 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ABREU, E. S. DE *et al.* World food - a reflection on history [Alimentação mundial - uma reflexão sobre a história]. **Saúde e Sociedade**, 2001. v. 10, n. 2, p. 3–14.

ACETO, M. *et al.* Determination of metals in wine with atomic spectroscopy (flame-AAS, GF-AAS and ICP-AES); a review. **Food Additives and Contaminants**, 2002. v. 19, n. 2, p. 126–133, ISSN: 0265203X. , DOI:10.1080/02652030110071336.

AL-MUSHARAFI, S. K.; MAHMOUD, I. Y.; AL-BAHRY, S. N. Heavy Metals Infiltration from Sewage Treated Effluent into Soil and Tomato Plants. 2013. n. January, p. 1–6.

ALENCAR, B. J. DE; BARROSO, L. C.; ABREU, J. F. DE. Análise multivariada de dados no tratamento da informação espacial uma abordagem com a análise de agrupamentos. **CISCI 2013 - Decima Segunda Conferencia Iberoamericana en Sistemas, Cibernética e Informatica, Decimo Symposium Iberoamericano en Educacion, Cibernética e Informatica, SIECI 2013 - Memorias**, 2013. v. 1, p. 8–13.

AMARO, G. B.; MARINHO, A. G.; NASCIMENTO, W. M. Recomendações técnicas para o cultivo de hortaliças em agricultura familiar. **Circular Técnica**, 2007. v. 47, p. 16, ISSN: 1415-3033.

ANDRADE, A. R. S. De *et al.* Aplicação da estatística multivariada na identificação das características biométricas de produção e qualidade de frutos do melão. **Revista Brasileira de Tecnologia Aplicada nas Ciências Agrárias**, 2017. v. 10, n. 1, p. 25–40, ISSN: 1984-7548. , DOI:10.5935/paet.v10.n01.03.

ANKE, M. Vanadium - An element both essential and toxic to plants, animals and humans? **Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia**, 2004. v. 70, n. 4, p. 961–999, ISSN: 1697428X.

ANVISA. Resolução nº 899, de 29 de maio de 2003 - GUIA PARA VALIDAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS E BIOANALÍTICOS. **Diário Oficial da**

República Federativa do Brasil, 2003. p. 1–12. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2003/re/899_03re.htm>.

ANVISA. RESOLUÇÃO RDC Nº 166, DE 24 DE JULHO DE 2017 - Imprensa Nacional. **24 de Julho de 2017**, 2017. v. 2017, p. 1–21. Disponível em: <https://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/19194581>.

ASSIS, R. L. De. Desenvolvimento rural sustentável no Brasil: perspectivas a partir da integração de ações públicas e privadas com base na agroecologia. **Economia Aplicada**, 2006. v. 10, n. 1, ISSN: 1413-8050. , DOI:10.1590/s1413-80502006000100005.

BANKS, M. K.; SCHWAB, A. P.; HENDERSON, C. Leaching and reduction of chromium in soil as affected by soil organic content and plants. **Chemosphere**, 2006. v. 62, n. 2, p. 255–264, ISSN: 00456535. , DOI:10.1016/j.chemosphere.2005.05.020.

BARROS NETO, B. De *et al.* 25 anos de quimiometria no Brasil. **Química Nova**, dez. 2006. v. 29, n. 6, p. 1401–1406, ISSN: 0100-4042. Disponível em: <www.chemomatrix.iqm.unicamp.br,>, DOI:10.1590/S0100-40422006000600042.

BARTLETT, R.; JAMES, B. Behavior of Chromium in Soils: III. Oxidation. **Journal of Environmental Quality**, jan. 1979. v. 8, n. 1, p. 31–35, ISSN: 0047-2425. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.2134/jeq1979.00472425000800010008x>>, DOI:10.2134/jeq1979.00472425000800010008x.

BARWISE, A. J. G. Role of Nickel and Vanadium in Petroleum Classification. **Energy and Fuels**, 1990. v. 4, n. 6, p. 647–652, ISSN: 15205029. , DOI:10.1021/ef00024a005.

BECKER, J. S. Trace and ultratrace analysis in liquids by atomic spectrometry. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, 2005. v. 24, n. 3 SPEC. ISS., p. 243–254, ISSN: 01659936. , DOI:10.1016/j.trac.2004.12.003.

BEECHER, G. R. Nutrient content of tomatoes and tomato products. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, 1998. v. 218, n. 2, p. 98–100, ISSN: 00379727. Disponível em:

<<http://ebm.sagepub.com/content/218/2/98%5Cnhttp://ebm.sagepub.com/content/218/2/98.short%5Cnhttp://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9605204>>,
DOI:10.3181/00379727-218-44282a.

BETTINELLI, M.; TITTARELLI, P. Evaluation and validation of instrumental procedures for the determination of nickel and vanadium in fuel oils. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 1994. v. 9, n. 7, p. 805–812, ISSN: 02679477. , DOI:10.1039/ja9940900805.

BINGS, N. H.; BOGAERTS, A.; BROEKAERT, J. A. C. Atomic Spectroscopy: A Review. **Analytical Chemistry**, 15 jun. 2010. v. 82, n. 12, p. 4653–4681, ISSN: 0003-2700. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ac1010469>>, DOI:10.1021/ac1010469.

BOSS, C. B.; FREDEEN, K. J. Concepts, Instrumentation and Techniques in Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry. **PerkinElmer**, 1999. v. 997, p. 1–125. Disponível em: <http://www.perkinelmer.co.uk/CMSResources/Images/44-159043GDE_Concepts-of-ICP-OES-Booklet.pdf>.

BRASIL. DSN de 23 de dezembro de 2003. **Publicado no Diário Oficial da União de 24/12/2003**, 2003. Disponível em: <[https://legislacao.planalto.gov.br/legisla/legislacao.nsf/viwTodos/2A1EF3F5C73C1E0303256E06004EF146?OpenDocument&HIGHLIGHT=1,DSN 23/12/2003](https://legislacao.planalto.gov.br/legisla/legislacao.nsf/viwTodos/2A1EF3F5C73C1E0303256E06004EF146?OpenDocument&HIGHLIGHT=1,DSN%2023/12/2003)>.

BRASIL. Decreto 4.954, de 14 de janeiro de 2004. **Inspeção e fiscalização da produção e do comércio de fertilizantes, corretivos, inoculantes, ou biofertilizantes, remineralizadores e substratos para plantas destinados à agricultura.**, 2006. v. 2006, p. 1–51. Disponível em: <https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2004-2006/2004/decreto/d4954.htm>.

BRESSY, F. C. *et al.* 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**, 2013. v. 109, p. 145–149, ISSN: 0026265X. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2012.03.010>>, DOI:10.1016/j.microc.2012.03.010.

BRITO, N. M. *et al.* Validação De Métodos Analíticos: Estratégia E Discussão. **Pesticidas: R.Ecotoxicol. e Meio Ambiente**, 2003. v. 13, p. 129–146, ISSN: 19839847. , DOI:<http://dx.doi.org/10.5380/pes.v13i0.3173>.

BROETTO, F.; GOMES, E. R.; JOCA, T. A. C. Estresse Das Plantas: Teoria e Pratica. **Cultura Acadêmica Editora Unesp, São Paulo**, 2017. n. November, p. 194, ISBN:9788579838880.

BUENO, A. L.; CZEPIELEWSKI, M. A. A importância do consumo dietético de cálcio e vitamina D no crescimento. **Jornal de Pediatria**, 2008. v. 84, n. 5, p. 386–394, ISSN: 00217557. , DOI:10.2223/JPED.1816.

CAMARGO, O. A. De. Reações e interações de micronutrientes no solo. **Micronutrientes na agricultura**, 2006. n. 1, p. 243–272.

CARDOSO, E. L. *et al.* Qualidade química e física do solo sob vegetação arbórea nativa e pastagens no Pantanal sul-mato-grossense. **Revista Brasileira de Ciencia do Solo**, 2011. v. 35, n. 2, p. 613–622, ISSN: 01000683. , DOI:10.1590/S0100-06832011000200030.

CAREY, J. M.; CARUSO, J. A.; CARNAHAN, J. W. Electrothermal Vaporization for Sample Introduction in Plasma Source Spectrometry. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, 1992. v. 23, n. 5, p. 397–439, ISSN: 15476510. , DOI:10.1080/10408349208051652.

CARVALHO FILHO, A. De *et al.* Óxidos de manganês em solos do quadrilátero ferrífero (MG). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 2011. v. 35, n. 3, p. 793–804. , DOI:10.1590/s0100-06832011000300015.

CELESTINO, S. M. C. Princípios de secagem de alimentos. **Embrapa Cerrados**, 2010. p. 51, ISBN:1517-5111, ISSN: 2176-5081.

COLETI, R. C. F. B.; LUCHMANN, R.; DAMBRÓS, S. R. Relatório de avaliação ambiental. Programa de desenvolvimento integrado e qualificação urbana do município de Campo Grande MS. 2007. n. ii, p. 82.

CONAB. Comercialização no Mercado Mundial, Tomate: 2019.

CQFS-RS/SC. Manual de adubação e calagem para os Estados do Rio

Grande do Sul e Santa Catarina. 2004. p. 400.

CVIJANOVIĆ, V. *et al.* Content and Distribution of Macroelements, Microelements, and Rare-Earth Elements in Different Tomato Varieties as a Promising Tool for Monitoring the Distinction between the Integral and Organic Systems of Production in Zeleni hit—Official Enza and Vital. **Agriculture**, 15 out. 2021. v. 11, n. 10, p. 1009, ISSN: 2077-0472. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2077-0472/11/10/1009>>, DOI:10.3390/agriculture11101009.

DAVIS, A. *et al.* Determination of cadmium in biological samples. **Applied Spectroscopy Reviews**, 2006. v. 41, n. 1, p. 35–75, ISSN: 05704928. , DOI:10.1080/05704920500385486.

DONATI, G. L.; AMAIS, R. S.; WILLIAMS, C. B. Recent advances in inductively coupled plasma optical emission spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 2017. v. 32, n. 7, p. 1283–1296, ISSN: 13645544. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1039/C7JA00103G>>, DOI:10.1039/c7ja00103g.

DOSSA, D.; FUCHS, F. Tomate: Análise Técnico-Econômica E Os Principais Indicadores Da Produção Nos Mercados Mundial, Brasileiro E Paranaense. **Boletim Técnico**, 2017. v. 03, p. 8. Disponível em: <http://www.ceasa.pr.gov.br/arquivos/File/BOLETIM/Boletim_Tecnico_Tomate1.pdf>.

ELLISON, S. L. R.; ROSSLEIN, M.; WILLIAMS, A. Quantifying uncertainty in analytical measurement. 2000. v. 2nd, p. 120, ISBN:0 948926 15 5.

EMBRAPA. **Sistemas brasileiro de classificação de solos**. [S.l.]: [s.n.], 2018. , ISBN:978-85-7035-198-2.

FELIX, F. Da S. *et al.* Determinação de manganês em material particulado atmosférico de ambientes de trabalho utilizando eletrodo de diamante dopado com boro e voltametria de onda quadrada com redissolução catódica. **Química Nova**, 2005. v. 28, n. 6, p. 1000–1005, ISSN: 0100-4042. , DOI:10.1590/s0100-40422005000600013.

FERNANDEZ, N. F. *et al.* Clustergrammer, a web-based heatmap visualization and analysis tool for high-dimensional biological data. **Scientific Data** 2017 4:1, 10 out. 2017. v. 4, n. 1, p. 1–12, ISSN: 2052-4463. Disponível em:

<<https://www.nature.com/articles/sdata2017151>>. Acesso em: 21 out. 2021, DOI:10.1038/sdata.2017.151.

FERREIRA, M. **Quimiometria: conceitos, métodos e aplicações**. Campinas: Editora da Unicamp, 2015. , ISBN:9788526814714.

FERREIRA, M. M. C. *et al.* Quimiometria I: calibração multivariada, um tutorial. **Química Nova**, set. 1999. v. 22, n. 5, p. 724–731, ISSN: 0100-4042. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40421999000500016&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt>, DOI:10.1590/S0100-40421999000500016.

FOSCHI, M.; D'ARCHIVIO, A. A.; ROSSI, L. Geographical discrimination and authentication of lentils (*Lens culinaris Medik.*) by ICP-OES elemental analysis and chemometrics. **Food Control**, dez. 2020. v. 118, p. 107438, ISSN: 09567135. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956713520303546>>, DOI:10.1016/j.foodcont.2020.107438.

FRAGNI, R. *et al.* Italian tomato-based products authentication by multi-element approach: A mineral elements database to distinguish the domestic provenance. **Food Control**, nov. 2018. v. 93, p. 211–218, ISSN: 09567135. Disponível em: <<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956713518302858>>, DOI:10.1016/j.foodcont.2018.06.002.

FRAZÃO, D. Biografia de Darcy Ribeiro - eBiografia. 2021. Disponível em: <https://www.ebiografia.com/darcy_ribeiro/>. Acesso em: 17 out. 2021.

GERRETZEN, J. *et al.* Simple and Effective Way for Data Preprocessing Selection Based on Design of Experiments. **Analytical Chemistry**, 2015. v. 87, n. 24, p. 12096–12103, ISSN: 15206882. , DOI:10.1021/acs.analchem.5b02832.

GRAZIANO DA SILVA, J. Perdas e desperdícios de alimentos: um desafio para o desenvolvimento sustentável. 2016. Disponível em: <<https://museudoamanha.org.br/pt-br/perdas-e-desperdicios-de-alimentos-um-desafio-para-o-desenvolvimento-sustentavel>>.

GUILLOCHEAU, E. OPLS vs PCA: Explaining differences or grouping data? **Sartorius Stedim Data Analytics**, 2020. p. 1–7. Disponível em:

<<https://www.sartorius.com/en/knowledge/science-snippets/explaining-differences-or-grouping-data-opls-da-vs-pca-data-analysis-507204>>. Acesso em: 3 out. 2021.

GUIMARÃES, R. R.; MESQUITA, H. A. DE. AGROECOLOGIA X AGRONEGÓCIO: crises e convivências. **Espaço em Revista**, 2010. v. 12, n. 2, ISSN: 1519-7816.

HAIR, J. F. *et al.* Partial least squares structural equation modeling (PLS-SEM): An emerging tool in business research. **European Business Review**, 2014. v. 26, n. 2, p. 106–121, ISSN: 0955534X. , DOI:10.1108/EBR-10-2013-0128.

HAIR, J. J. F. *et al.* **Análise multivariada de dados (6a. ed.)**. Porto Alegre: Bookman editora, 2009. , ISBN:9788577805341.

HARRIS, D. C. **Análise Química Quantitativa**, trad. **Jairo Bordinhão [et al.]**, LTC: Rio de Janeiro, 2008.

HAYTOWITZ, D. B. *et al.* Composition of Foods Raw, Processed, Prepared USDA National Nutrient Database for Standard Reference. **USDA National Nutrient Database for Standard Reference**, 2014. n. September. Disponível em: <<http://www2.unifesp.br/dis/servicos/nutri/public/Documentation>>, DOI:10.13140/RG.2.1.1551.1284.

HOU, X.; JONES, B. T. Inductively Coupled Plasma/Optical Emission Spectrometry. **Encyclopedia of Analytical Chemistry**. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd, 2000, p. 57–74, ISBN:9780849390395, ISSN: 05848547.

INDAHL, U. G.; MARTENS, H.; NÆS, T. From dummy regression to prior probabilities in PLS-DA EXTRACTION AND CLASSIFICATION. **Journal of Chemometrics**, 2007. v. 21, n. August, p. 529–536. , DOI:10.1002/cem.

INFOMETRIX, I. **Pirouette Multivariate Data Analysis Software**. Bothell, WA: 2014. Disponível em: <<https://chemometrix.files.wordpress.com/2016/07/pirouette.pdf>>.

INMETRO, I. N. D. M. T. E. Q. Orientação sobre validação de métodos analíticos. **INMETRO**, 2020. p. 30. Disponível em: <http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/pesquisa_link.asp?seq_tipo_documento=5&cod_u

o_numeracao=00774&num_documento=008>.

IUPAC. chemometrics. *In*: GOLD, V. (Org.). **The IUPAC Compendium of Chemical Terminology**. Research Triangle Park, NC: International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC), 2014, , ISBN:0-9678550-9-8.

JATAV, H. S. *et al.* An Overview of Micronutrients: Prospects and Implication in Crop Production. **Plant Micronutrients**. Cham: Springer International Publishing, 2020, p. 1–30.

K TRIVEDI, D. The Application of SIMCA P+ in Shotgun Metabolomics Analysis of ZIC®HILIC-MS Spectra of Human Urine - Experience with the Shimadzu IT-T of and Profiling Solutions Data Extraction Software. **Journal of Chromatography & Separation Techniques**, 2012. v. 03, n. 06. , DOI:10.4172/2157-7064.1000145.

KIRKBY, E. A.; RÖMHELD, V. Micronutrientes na fisiologia de plantas-Funções, Absorção e Mobilidade. **Informações agronômicas**, 2007. v. 118, n. 2, p. 1–24.

KJELDAHL, K.; BRO, R. Some common misunderstandings in chemometrics. **Journal of Chemometrics**, jul. 2010. v. 24, n. 7–8, p. 558–564, ISSN: 08869383. , DOI:10.1002/cem.1346.

KORN, M. Das G. A. *et al.* Atomic spectrometric methods for the determination of metals and metalloids in automotive fuels - A review. **Talanta**, 2007. v. 73, n. 1, p. 1–11, ISSN: 00399140. , DOI:10.1016/j.talanta.2007.03.036.

LEE, J. E. *et al.* Hierarchical cluster analysis heatmaps and pattern analysis: An approach for visualizing learning management system interaction data. **Proceedings of the 9th International Conference on Educational Data Mining, EDM 2016**, 2016. p. 603–604.

LILAND, K. H. **Multivariate methods in metabolomics - from pre-processing to dimension reduction and statistical analysis**. [S.l.]: TrAC - Trends in Analytical Chemistry, 1 jun. 2011. , ISSN: 01659936. , DOI:10.1016/j.trac.2011.02.007.

LINGE, K. L. Recent developments in trace element analysis by ICP-AES and

ICP-MS with particular reference to geological and environmental samples. **Geostandards and Geoanalytical Research**, 2005. v. 29, n. 1, p. 7–22, ISSN: 16394488. , DOI:10.1111/j.1751-908x.2005.tb00650.x.

LOPES, A. S.; SILVA, M. De C.; GUILHERME, L. R. G. Boletim Técnico N° 1 Acidez do solo e calagem. 1991. p. 17. Disponível em: <http://www.ifbaiano.edu.br/unidades/valenca/files/2011/05/acidez_do_solo_e_calagem.pdf>.

MAEDA, S. *et al.* ESTIMATIVA DA ACIDEZ POTENCIAL, PELO MÉTODODO DO pH SMP, EM SOLOS DO MATO GROSSO DO SUL. **Boletim de Pesquisa**, 1997. v. 3, p. 25.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. **Avaliação do estado nutricional das plantas**. [S.l.]: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1989.

MALAVOLTA, E. Elementos de nutrição mineral de plantas. 1980. p. 251.

MAPA, M. Da A. P. E A. ANEXO V - MINÉRIOS CONCENTRADOS AUTORIZADOS PARA FABRICAÇÃO DE FERTILIZANTES COMPLEXOS FORNECEDORES DE MICRONUTRIENTES. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**, 2017. Disponível em: <[http://www.agricultura.gov.br/guia-de-servicos/arquivos/arquivos-bebidas-vinhos-e-derivados/anexo-v-minerios-autorizados-para-fabricacao-de-fertilizantes-simples-e-complexos-fornecedores-de-micronutrientes.pdf/@@download/file/ANEXO V - Minérios Autorizado](http://www.agricultura.gov.br/guia-de-servicos/arquivos/arquivos-bebidas-vinhos-e-derivados/anexo-v-minerios-autorizados-para-fabricacao-de-fertilizantes-simples-e-complexos-fornecedores-de-micronutrientes.pdf/@@download/file/ANEXO%20V%20-%20Minerios%20Autorizado)>. Acesso em: 6 abr. 2019.

MARINHO, M. C. S.; HAMANN, E. M.; LIMA, A. C. D. C. F. Práticas e mudanças no comportamento alimentar na população de Brasília, Distrito Federal, Brasil. **Revista Brasileira de Saude Materno Infantil**, 2007. v. 7, n. 3, p. 251–261, ISSN: 15193829. , DOI:10.1590/S1519-38292007000300004.

MEIJA, J.; MOUNICOU, S.; CARUSO, J. A. Plasma Spectrometry for Elemental Speciation and Characterization in Beverages. **Journal of AOAC International**, 2004. v. 87, n. 1, p. 205–224, ISSN: 10603271. , DOI:10.1093/jaoac/87.1.205.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, B. **Cadernos de Atenção Básica - nº 20 Carências de Micronutrientes**. [S.l.]: [s.n.], 2007. , ISBN:9788533414044.

MOITA NETO, J. M.; MOITA, G. C. Uma introdução à análise exploratória de dados multivariados. **Química nova**, jul. 1998. v. 21, n. 4, p. 467–469, ISSN: 0100-4042. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40421998000400016&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt>, DOI:10.1590/s0100-40421998000400016.

MONTEZANO, E. M.; MARINS, R.; PEIL, N. Sistemas De Consórcio Na Produção De Hortaliças. **Current Agricultural Science and Technology**, 2014. v. 12, n. 2, p. 129–132, ISSN: 2317-2436. , DOI:10.18539/cast.v12i2.4502.

MORAES, D. P. De *et al.* Preparo de amostras assistido por radiação microondas. *In*: KRUG, F. J.; ROCHA, F. R. P. (Org.). **Métodos de Preparo de Amostras para Análise Elementar**. São Paulo: Sociedade Brasileira de Química, 2016, p. 315–372, ISBN:978-85-64099-18-0.

MORATOYA, E. E. *et al.* Mudanças no padrão de consumo alimentar no Brasil. **Revista de Política Agrícola**, 2013. v. 22, n. 1, p. 72–84, ISSN: 2317-224X. Disponível em: <<http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/958212/1/mudancas.pdf>>.

MOREIRA, J. C. *et al.* Contaminação de águas superficiais e de chuva por agrotóxicos em uma região do estado do Mato Grosso. **Ciência & Saúde Coletiva**, jun. 2012. v. 17, n. 6, p. 1557–1568, ISSN: 1413-8123. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-81232012000600019&lng=pt&tlng=pt>, DOI:10.1590/S1413-81232012000600019.

MORTE, E. S. D. B. *et al.* Axial view inductively coupled plasma optical emission spectrometry for monitoring tin concentration in canned tomato sauce samples. **Food Chemistry**, 2012. v. 131, n. 1, p. 348–352, ISSN: 03088146. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.08.015>>, DOI:10.1016/j.foodchem.2011.08.015.

NAVARRO, R. *et al.* Vanadium recovery from oil fly ash by leaching, precipitation and solvent extraction processes. **Waste Management**, 2007. v. 27, n. 3,

p. 425–438, ISSN: 0956053X. , DOI:10.1016/j.wasman.2006.02.002.

OLIVEIRA, F. N. S.; LIMA, H. J. M.; CAJAZEIRA, J. P. Uso da Compostagem em Sistemas Agrícolas Orgânicos. Fortaleza, CE: **Embrapa Agroindústria Tropical**, 2004. p. 17.

PANERO, F. S. *et al.* Aplicação da análise exploratória de dados na discriminação geográfica do quiabo do Rio Grande do Norte e Pernambuco. **Eclética Química**, 2009. v. 34, n. 3, p. 33–40. , DOI:10.1590/s0100-46702009000300004.

PENTEADO, S. R. Introdução agricultura orgânica. 2003.

POTAFOS, T. Y. Manual internacional de fertilidade do solo. **Tradução e adaptação de Alfredo Scheid Lopes**, 1998. p. 177, ISBN:9788126635818.

RIBEIRO, A. M. Darcy Ribeiro e o enigma Brasil: um exercício de descolonização epistemológica. **Sociedade e Estado**, ago. 2011. v. 26, n. 2, p. 23–49, ISSN: 0102-6992. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-69922011000200003>, DOI:10.1590/S0102-69922011000200003.

RIBEIRO, D. **O processo civilizatório: etapas da evolução sociocultural**. [S.l.]: [s.n.], 1998. , ISBN:9788571646575.

ROCHA, F. R. P.; NÓBREGA, J. A.; KAMOGAWA, M. Y. Fundamentos do preparo de amostras. *In*: KRUG, F. J.; ROCHA, F. R. P. (Org.). **Métodos de preparo de amostras para análise elementar**. São Paulo: Sociedade Brasileira de Química, 2016, p. 33–54, ISBN:978-85-64099-18-0.

SANTOS, F. P. Dos; CHALUB-MARTINS, L. Agroecologia, consumo sustentável e aprendizado coletivo no Brasil. **Educação e Pesquisa**, 2012. v. 38, n. 2, p. 469–484, ISSN: 1517-9702.

SANTOS JÚNIOR, D. *et al.* Tratamentos preliminares. *In*: KRUG, F. J.; ROCHA, F. R. P. (Org.). **Métodos de Preparo de Amostras para Análise Elementar**. São Paulo: Sociedade Brasileira de Química, 2016, p. 105–125, ISBN:978-85-64099-18-0.

SENA, M. M. De *et al.* Avaliação do uso de métodos quimiométricos em

análise de solos. **Química Nova**, ago. 2000. v. 23, n. 4, p. 547–556, ISSN: 0100-4042. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422000000400019&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt>, DOI:10.1590/S0100-40422000000400019.

SHANG, J. *et al.* UHPLC/Q-TOF MS-based plasma metabolic profiling analysis of the bleeding mechanism in a rat model of yeast and ethanol-induced blood heat and hemorrhage syndrome. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, 2014. v. 92, p. 26–34, ISSN: 07317085. , DOI:10.1016/j.jpba.2013.12.019.

SILVA, J. B. C. Da *et al.* Cultivo de Tomate para Industrialização. **Embrapa Hortaliças**, 2006. Disponível em: <https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Tomate/TomateIndustrial_2ed/clima.htm>.

SILVA, M. V. DA; ROSA, C. I. L. F.; BOAS, E. V. De B. V. Conceitos e métodos de controle do escurecimento enzimático no processamento mínimo de frutas e hortaliças. **Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, 2009. v. 27, n. 1, p. 83–96, ISSN: 01020323. , DOI:10.5380/cep.v27i1.14955.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. Principles of instrumental analysis. Boston, Massachusetts, EUA: Cengage learning, 2017, p. 989–998.

SOUZA, R. B. De; ALCÂNTARA, F. A. De. Adubação no sistema orgânico de produção de hortaliças. **Embrapa**, 2008. n. Figura 1, p. <www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bit>. Disponível em: <<https://www.google.com.br/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwiD9fajqMnuAhUhC9QKH YM6ApsQFjABegQIBBAC&url=https%3A%2F%2Fwww.infoteca.cnptia.embrapa.br%2Finfoteca%2Fbitstream%2Fdoc%2F758609%2F4%2Fct65.pdf&usg=AOvVaw3rq4hCUdQmBD>>.

TRYGG, J.; WOLD, S. Orthogonal projections to latent structures (O-PLS). **Journal of Chemometrics**, mar. 2002. v. 16, n. 3, p. 119–128, ISSN: 0886-9383. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cem.695>>. Acesso em: 4 nov. 2021, DOI:10.1002/cem.695.

UREN, N. C. Forms, reactions, and availability of nickel in soils. **Advances in**

Agronomy, 1992. v. 48, n. C, p. 141–203, ISSN: 00652113. , DOI:10.1016/S0065-2113(08)60937-2.

VINET, L.; ZHEDANOV, A. A “missing” family of classical orthogonal polynomials. **Journal of Physics A: Mathematical and Theoretical**, 2011. v. 44, n. 8, p. 43, ISBN:9788578110796, ISSN: 17518113. , DOI:10.1088/1751-8113/44/8/085201.

WESTERHUIS, J. A. *et al.* Multivariate paired data analysis: Multilevel PLSDA versus OPLSDA. **Metabolomics**, 2010. v. 6, n. 1, p. 119–128, ISSN: 15733882. , DOI:10.1007/s11306-009-0185-z.

WORLEY, B.; POWERS, R. PCA as a practical indicator of OPLS-DA model reliability. **Current Metabolomics**, 19 jul. 2016. v. 4, n. 2, p. 97. Disponível em: </pmc/articles/PMC4990351/>. Acesso em: 24 out. 2021, DOI:10.2174/2213235X04666160613122429.

YÜCEL, Y.; SULTANOĞLU, P. Characterization of Hatay honeys according to their multi-element analysis using ICP-OES combined with chemometrics. **Food Chemistry**, 1 set. 2013. v. 140, n. 1–2, p. 231–237, ISSN: 0308-8146. , DOI:10.1016/J.FOODCHEM.2013.02.046.

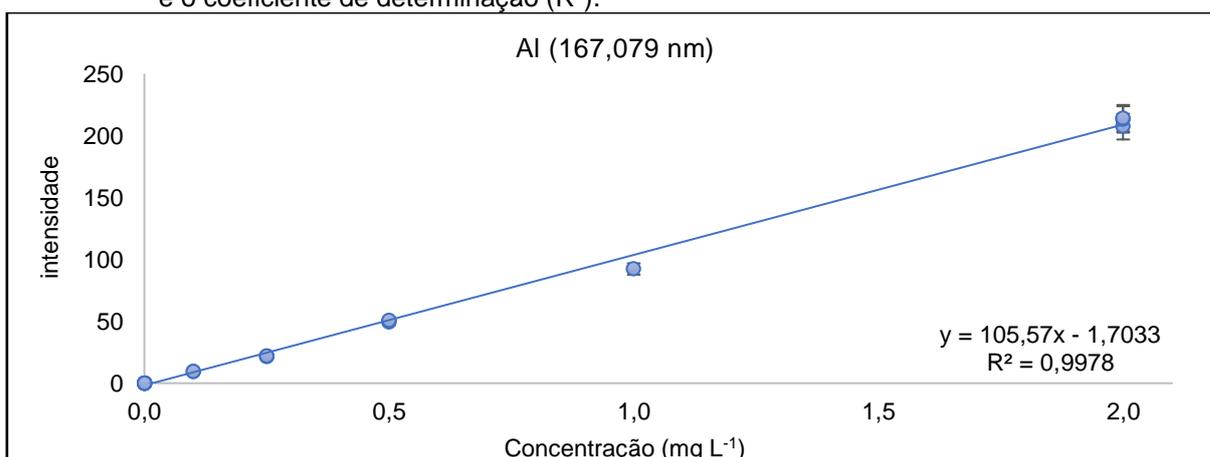
ZAPATA, P. J. *et al.* Use of alginate or zein as edible coatings to delay postharvest ripening process and to maintain tomato (*Solanum lycopersicon* Mill) quality. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 2008. v. 88, n. 7, p. 1287–1293, ISBN:1200000811, ISSN: 00225142. , DOI:10.1002/jsfa.3220.

ZUÑIGA, E. A. *et al.* CAPÍTULO 3 ESTRESSE MINERAL (MICRONUTRIENTES). **O Estresse das Plantas Teoria & Prática**, 2017. p. 47.

9 ANEXOS

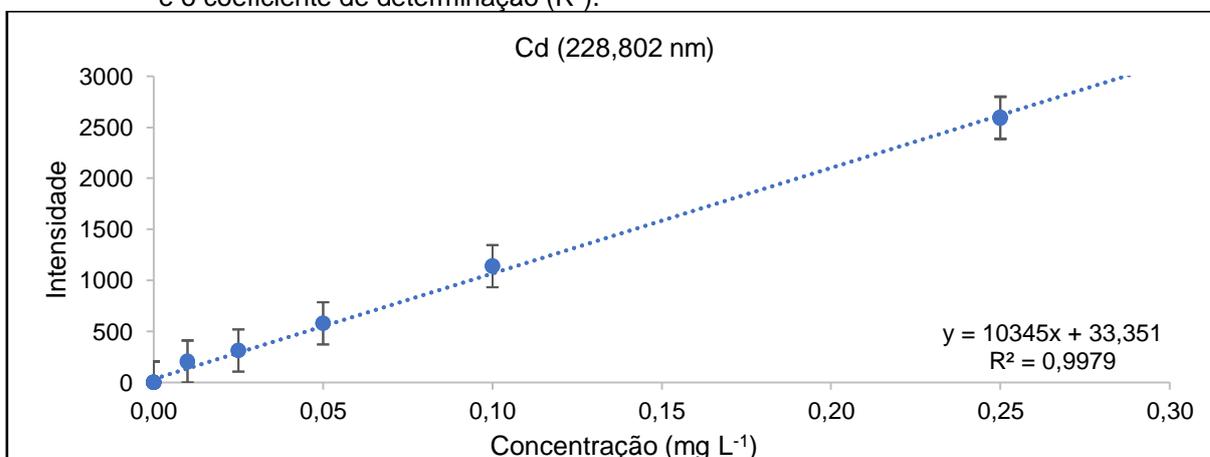
ANEXO I. CURVAS ANALÍTICAS DE CALIBRAÇÃO

Figura 22: Representação gráfica da curva analítica de calibração de Al (167,079 nm) através da correlação da resposta de intensidade de emissão em relação aos níveis de concentrações pré-determinadas (0,10; 0,25; 0,50; 1,00 e 2,00 mg L⁻¹); a equação da reta e o coeficiente de determinação (R²).



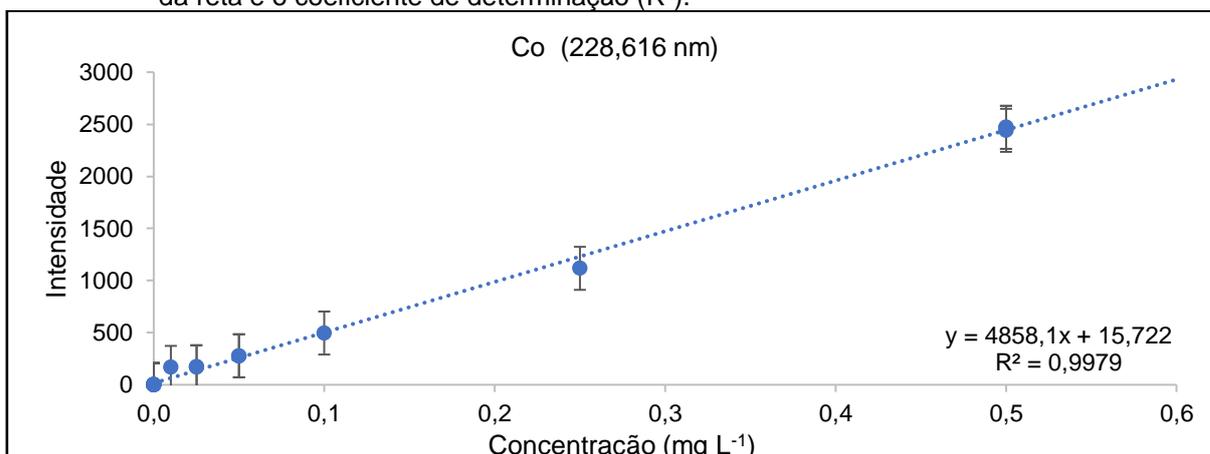
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 23: Representação gráfica da curva analítica de calibração de Cd (228,802 nm) através da correlação da resposta de intensidade de emissão em relação aos níveis de concentrações pré-determinadas (0,01; 0,25; 0,05; 0,10 e 0,25 mg L⁻¹); a equação da reta e o coeficiente de determinação (R²).



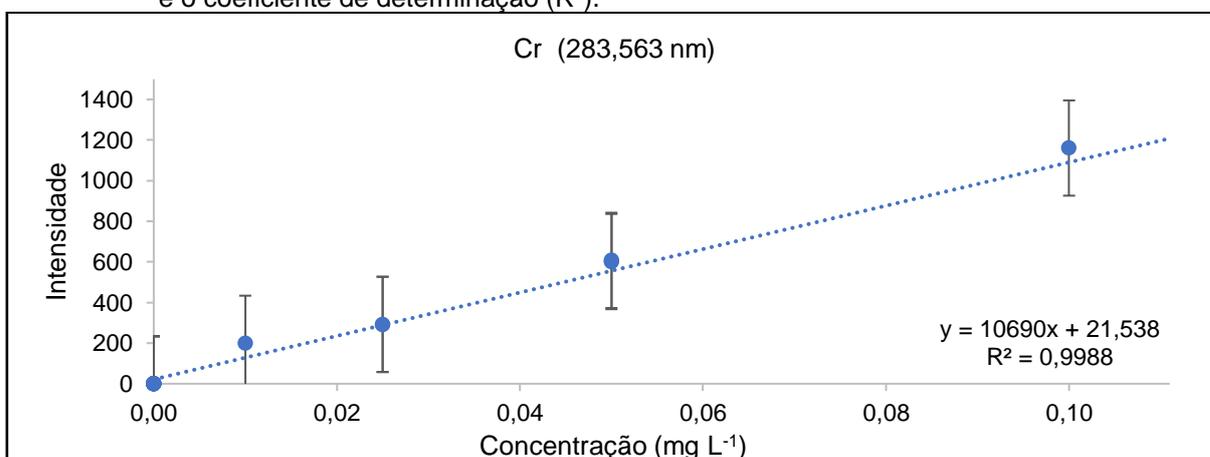
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 24: Representação gráfica da curva analítica de calibração de Co (228,616 nm) através da correlação da resposta de intensidade de emissão em relação aos níveis de concentrações pré-determinadas (0,01; 0,25; 0,05; 0,10; 0,25 e 0,50 mg L⁻¹); a equação da reta e o coeficiente de determinação (R²).



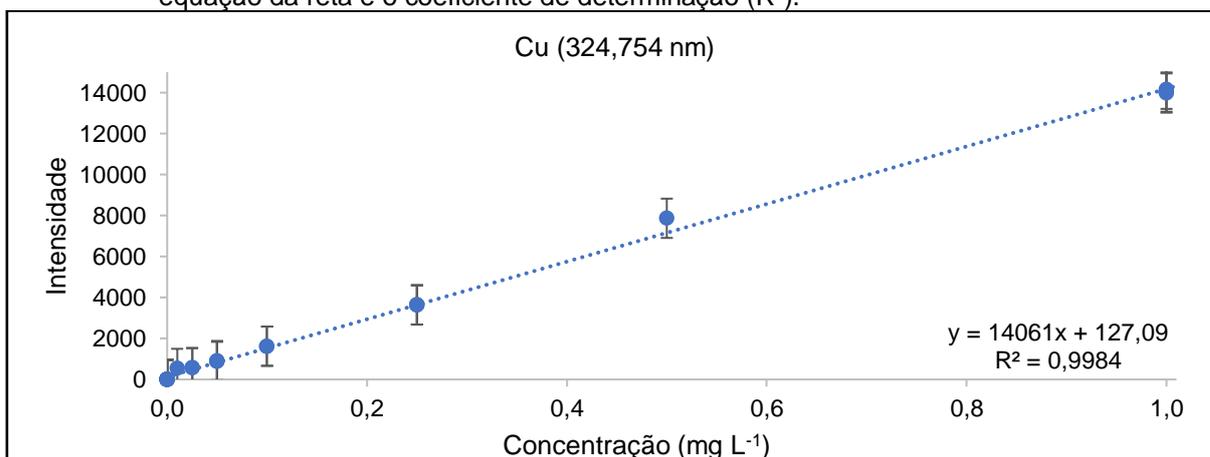
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 25: Representação gráfica da curva analítica de calibração de Cr (283,563 nm) através da correlação da resposta de intensidade de emissão em relação aos níveis de concentrações pré-determinadas (0,01; 0,25; 0,05; 0,10 e 0,25 mg L⁻¹); a equação da reta e o coeficiente de determinação (R²).



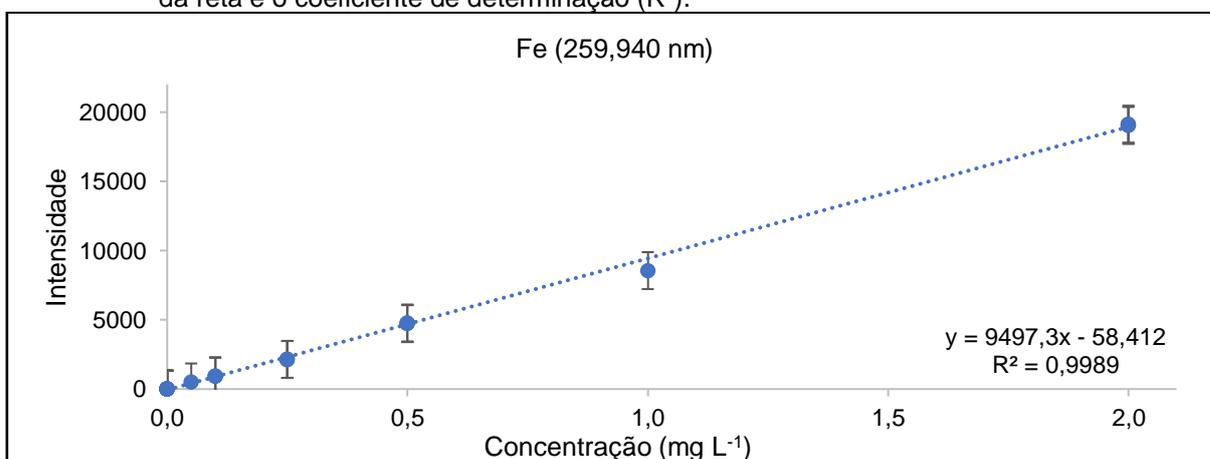
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 26: Representação gráfica da curva analítica de calibração de Cu (324,754 nm) através da correlação da resposta de intensidade de emissão em relação aos níveis de concentrações pré-determinadas (0,01; 0,25; 0,05; 0,10; 0,25; 0,50 e 1,00 mg L⁻¹); a equação da reta e o coeficiente de determinação (R²).



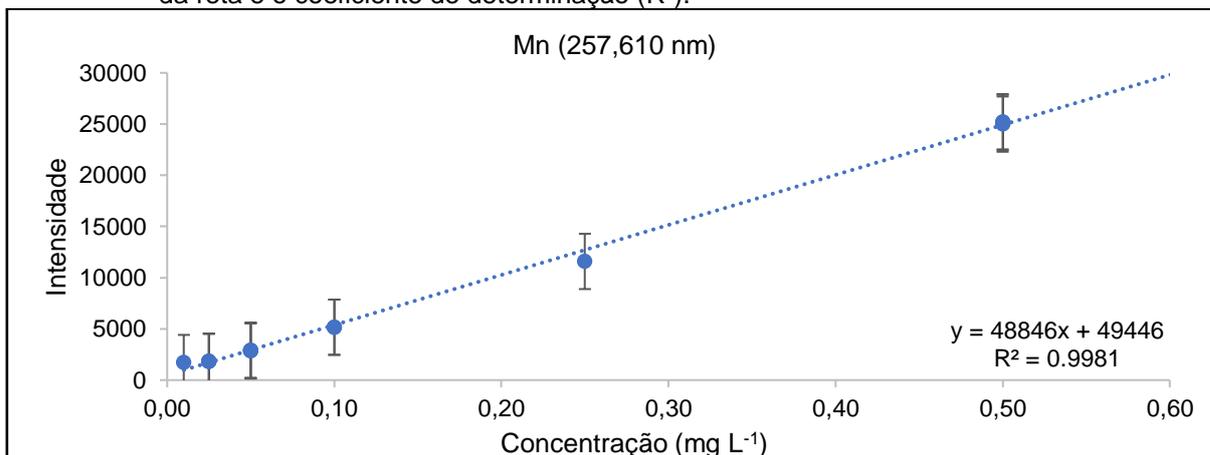
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 27: Representação gráfica da curva analítica de calibração de Fe (259,940 nm) através da correlação da resposta de intensidade de emissão em relação aos níveis de concentrações pré-determinadas (0,05; 0,10; 0,25; 0,50; 1,00 e 2,00 mg L⁻¹); a equação da reta e o coeficiente de determinação (R²).



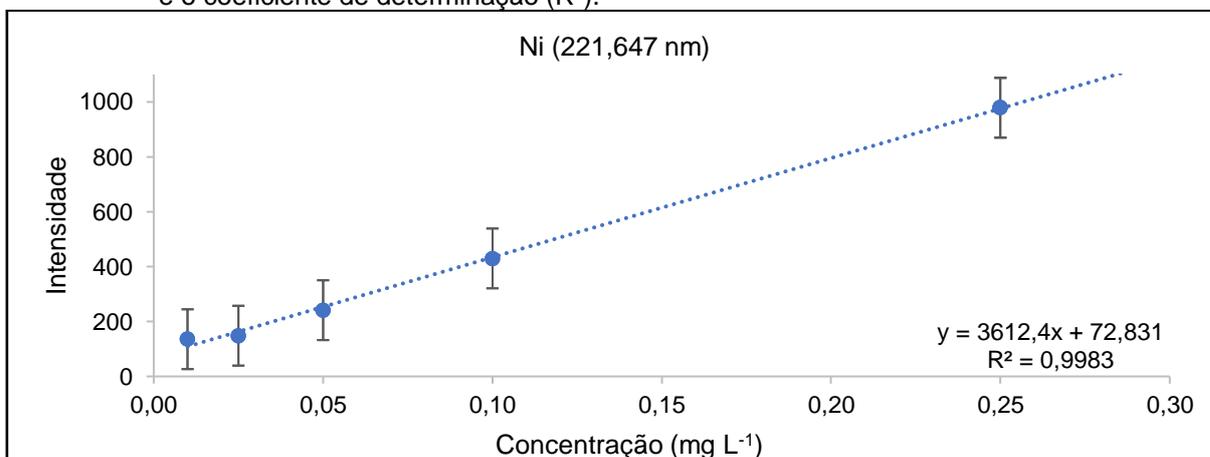
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 28: Representação gráfica da curva analítica de calibração de Mn (257,610 nm) através da correlação da resposta de intensidade de emissão em relação aos níveis de concentrações pré-determinadas (0,01; 0,25; 0,05; 0,10; 0,25 e 0,50 mg L⁻¹); a equação da reta e o coeficiente de determinação (R²).



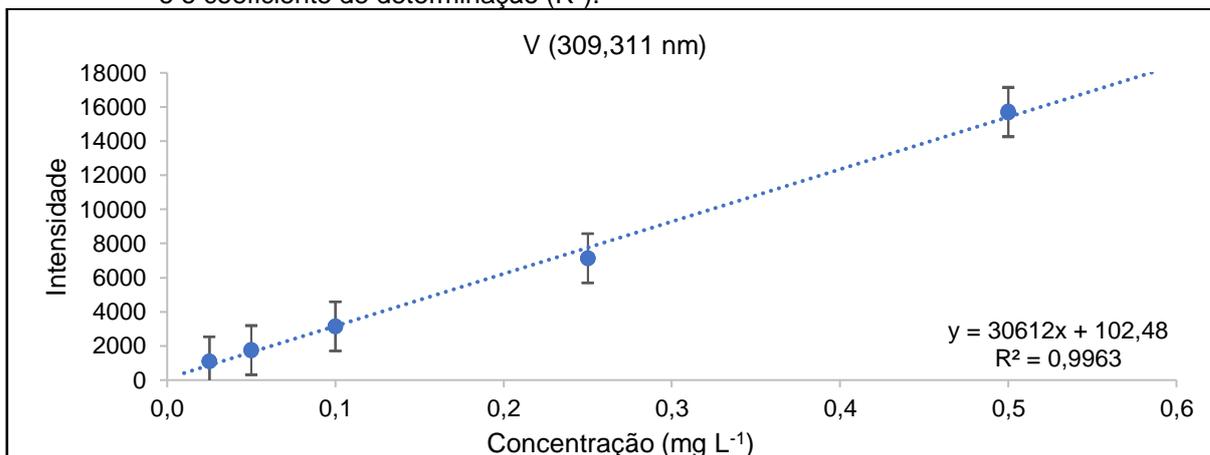
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 29: Representação gráfica da curva analítica de calibração de Ni (221,647 nm) através da correlação da resposta de intensidade de emissão em relação aos níveis de concentrações pré-determinadas (0,01; 0,25; 0,05; 0,10 e 0,25 mg L⁻¹); a equação da reta e o coeficiente de determinação (R²).



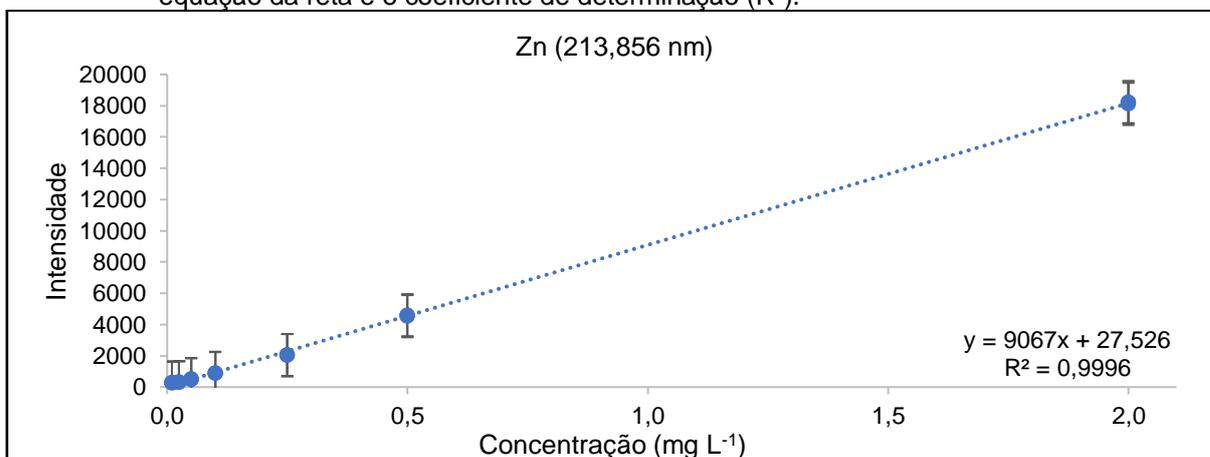
Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 30: Representação gráfica da curva analítica de calibração de V (309,311 nm) através da correlação da resposta de intensidade de emissão em relação aos níveis de concentrações pré-determinadas (0,25; 0,05; 0,10; 0,25 e 0,50 mg L⁻¹); a equação da reta e o coeficiente de determinação (R²).



Fonte: Elaborado pelo autor.

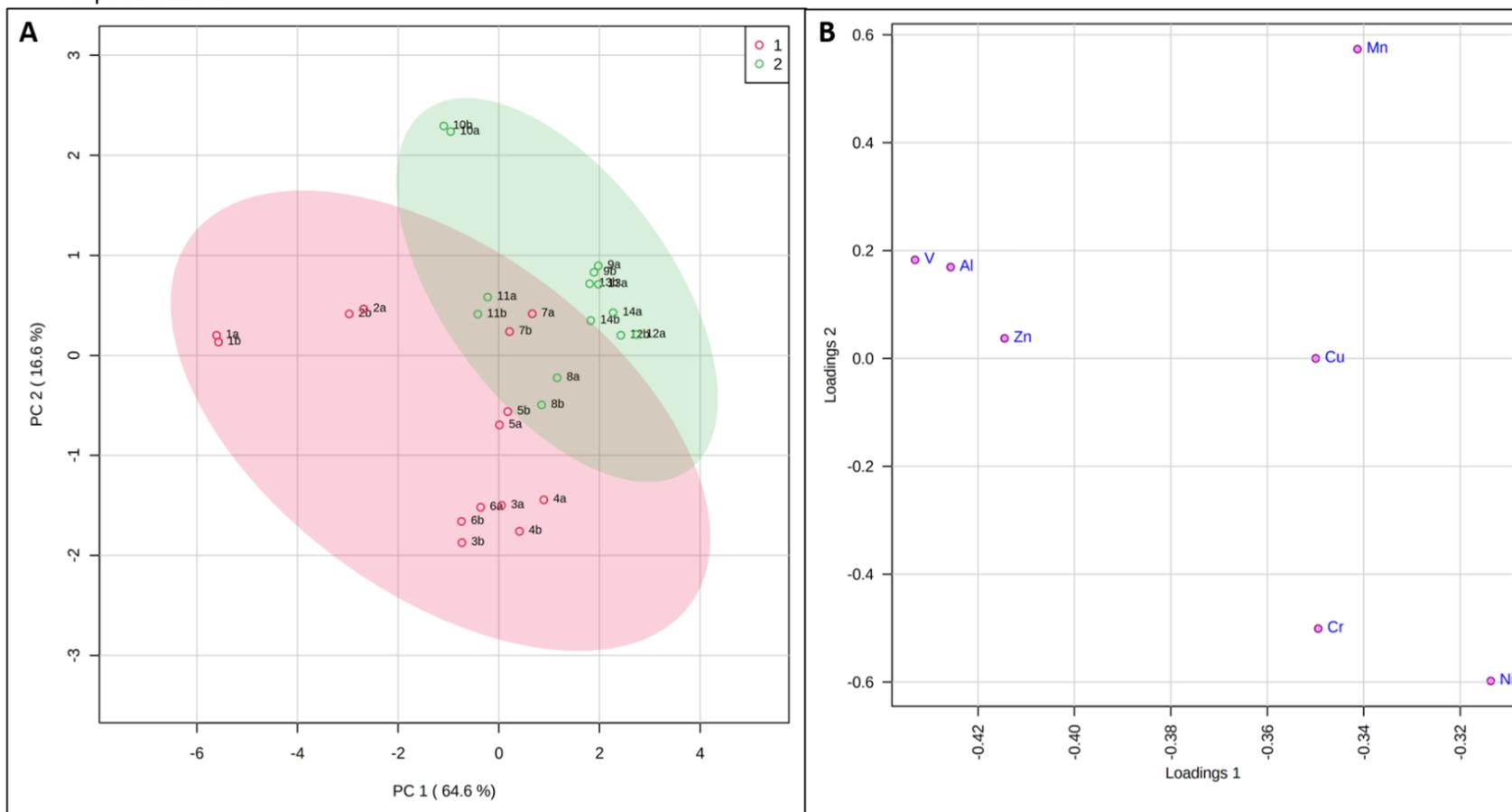
Figura 31: Representação gráfica da curva analítica de calibração de Zn (213,856 nm) através da correlação da resposta de intensidade de emissão em relação aos níveis de concentrações pré-determinadas (0,01; 0,25; 0,05; 0,10; 0,25; 0,50 e 2,00 mg L⁻¹); a equação da reta e o coeficiente de determinação (R²).



Fonte: Elaborado pelo autor.

ANEXO II. ANÁLISE MULTIVARIADA SEM O ELEMENTO FERRO

Figura 32 Gráfico de scores (A) e de loadings (B) de todas as amostras analisadas por ICP OES, com elipses de região de confiabilidade de 95%. Classes: Δ1 – Amostras de tomates de cultivo orgânico; +2 – Amostras de tomates de cultivo convencional. Variância explicada: PC1 x PC2, 64,6 e 16,6%, respectivamente.



Identificação das amostras: 1a, 1b, 2a e 2b – tomates do tipo cereja de cultivo orgânico obtidos em feira de produtos orgânicos; 3a, 3b, 4a e 4b – tomates do tipo cereja de cultivo orgânico obtidos em mercado; 5a, 5b, 6a, 6b, 7a e 7b – tomates do tipo italiano de cultivo orgânico obtidos de produtores locais; 8a, 8b, 9a, 9b, 10a e 10b – tomates cereja de cultivo convencional obtidos em mercado; 11a, 11b, 12a, 12b, 13a, 13b, 14a e 14b – tomates do tipo italiano de cultivo convencional obtidos em mercado.

Figura 33: *Clustergram* - dendrograma bidimensional de análise hierárquica de agrupamentos (HCA) combinado com visualização por mapa de calor (*Heatmap*), de todas as amostras de tomate analisadas por ICP OES. Classes: 1 – Amostras de tomates de cultivo orgânico; 2 – Amostras de tomates de cultivo convencional; os maiores e menores valores de concentração são representados pelas cores vermelho e azul, respectivamente.

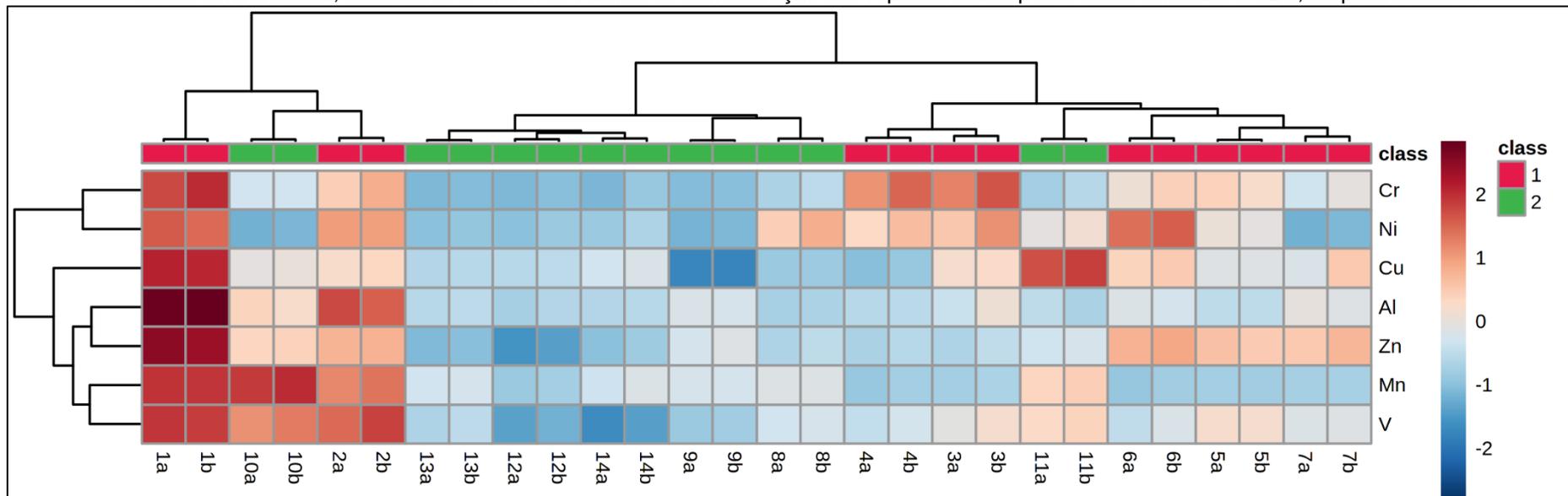


Figura 34 Representação gráfica do modelo de previsão OPLS-DA de todas as amostras analisadas por ICP OES, com elipses de região de confiabilidade de 95%. (A) scores e (B) VIP scores. Classes: 1 – Amostras de tomates de cultivo orgânico; 2 – Amostras de tomates de cultivo convencional.

