

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUIMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

TATIANE DE MACEDO MICELI

DETERMINAÇÃO DE CÁDMIO E CHUMBO EM CEREAIS POR
ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM FORNO DE GRAFITE
APÓS COMBUSTÃO INICIADA POR MICRO-ONDAS

Dissertação de Mestrado

Profa. Dra. Juliana Severo Fagundes Pereira
Orientador

Porto Alegre, 2015

A presente dissertação foi realizada inteiramente pelo autor, exceto as colaborações as quais serão devidamente citadas nos agradecimentos, no período entre 08/2013 e 11/2015, no Instituto de Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul sob Orientação da Professora Doutora Juliana Severo Fagundes Pereira. A dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de Mestre em Química pela seguinte banca examinadora:

Comissão Examinadora:

Prof. Dr. Luiz Frederico Rodrigues

Profa. Dra. Dirce Pozebon

Prof. Dr. Diogo Pompéu de Moraes

Prof. Dra. Juliana Severo Fagundes Pereira

Tatiane de Macedo Miceli

“Porque dele, e por meio dele, e para ele são todas as coisas. A ele, pois a glória eternamente. Amém!”

Romanos 11:36

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida que recebi, juntamente com seu Filho Jesus Cristo e por causa do grande amor com que me amou.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, pela possibilidade de execução deste trabalho.

À Profa. Juliana Severo Fagundes Pereira, pela orientação, pelo apoio, pela dedicação e por toda compreensão durante toda a execução deste trabalho.

Aos colegas de laboratório, pela amizade, incentivo e companheirismo demonstrados. Agradeço, em especial, aos colegas Katherine, Pamela e Guilherme pela colaboração direta no desenvolvimento deste trabalho.

Ao meu marido, Rafael, por todo o amor, apoio e compreensão, durante todo o período deste trabalho.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
2.1 CEREAIS	15
2.2 PREPARO DE AMOSTRAS	21
2.2.1 Decomposição por via úmida	22
2.2.2 Decomposição por via úmida em sistema aberto.....	22
2.2.3 Decomposição por via úmida em sistema fechado (CVWD)	24
2.2.5 Combustão	26
2.3 ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM FORNO DE GRAFITE (GF AAS).....	29
3 OBJETIVOS	32
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	33
4.1 EQUIPAMENTOS	33
4.2 REAGENTES	35
4.3 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS.....	35
4.4 PREPARO DAS AMOSTRAS E MÉTODOS DE DECOMPOSIÇÃO.....	37
4.4.1 Decomposição por via úmida em sistema aberto com aquecimento convencional.....	37
4.4.2 Decomposição por via úmida em sistema fechado com aquecimento convencional.....	38
4.4.3 Decomposição por via úmida em sistema fechado assistida por radiação micro-ondas (MWAD)	39
4.3.4. Decomposição por combustão iniciada por micro-ondas (MIC)	41
4.5 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE CARBONO RESIDUAL	42
4.6 DETERMINAÇÃO DE CÁDMIO E CHUMBO POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM FORNO DE GRAFITE	42
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
5.1 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS.....	44

5.2 MÉTODOS DE DECOMPOSIÇÃO DAS AMOSTRAS.....	45
5.2.1 Combustão iniciada por micro-ondas	48
5.2.2 Determinação de Carbono Residual.....	49
5.3 DETERMINAÇÃO DE CÁDMIO E CHUMBO POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM FORNO DE GRAFITE	51
5.3.1 Estudo do modificador químico	51
5.3.2 Otimização da temperatura de pirólise e atomização para a determinação de cádmio	52
5.3.3 Otimização da temperatura de pirólise e atomização para a determinação de chumbo	54
5.3.3 Avaliação das interferências causadas pela matriz das amostras na determinação de Pb.....	56
5.3.4 Figuras de mérito	65
5.4 DETERMINAÇÃO DE CÁDMIO E CHUMBO NAS AMOSTRAS DECOMPOSTAS.....	66
6 CONCLUSÕES	67
REFERÊNCIAS	68

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** Estrutura de uma semente. 15
- Figura 2.** Forno de micro-ondas comercial utilizado para a decomposição por via úmida e combustão iniciada por micro-ondas..... 33
- Figura 3.** Frasco de quartzo e suporte empregados na combustão iniciada por micro-ondas. 34
- Figura 4.** Métodos de decomposição avaliados..... 37
- Figura 5.** Amostra de quinoa em forma de comprimido, posicionada na base do suporte de quartzo utilizado. 41
- Figura 6.** Soluções digeridas pelos quatro métodos de decomposição de amostras, onde (A) decomposição por via úmida em sistema aberto com aquecimento convencional, (B) CVWD, (C) MWAD (alta pressão) e (D) MIC. 45
- Figura 7.** Teores de carbono residual, em %, para a amostras de quinoa após diferentes métodos de decomposição..... 50
- Figura 8.** Curvas de temperatura de pirólise atomização para o Cd: - solução padrão de Cd $2 \mu\text{g L}^{-1}$; - amostra QMW15 + $2 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cd..... 53
- Figura 9.** Curvas de pirólise e atomização para o Pb: - solução padrão de Pb $50 \mu\text{g L}^{-1}$; - amostra QMW15 + $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb..... 54
- Figura 10.** Curvas de pirólise e atomização para o Pb: - amaranto; - chia; - linhaça..... 55
- Figura 11.** Perfis dos sinais de Pb para (-) solução padrão de Pb $50 \mu\text{g L}^{-1}$; (--) sinal de fundo da solução padrão; (-) amaranto (CVWD) + $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb; (--) sinal de fundo para amaranto

(CVWD) + 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Pb. A: solução da amostra diluída 15 vezes; B: 30 vezes e C: 50 vezes..... 56

Figura 12. Perfis dos sinais de Pb para (-) solução padrão de Pb 50 $\mu\text{g L}^{-1}$; (--) sinal de fundo da solução padrão; (-) amaranto (MWAD) +50 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Pb; (--) sinal de fundo para amaranto (MWAD) + 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Pb. A: solução da amostra diluída 15 vezes; B: 30 vezes e C: 50 vezes..... 56

Figura 13. Perfis dos sinais de Pb para (-) solução padrão de Pb 50 $\mu\text{g L}^{-1}$; (--) sinal de fundo da solução padrão; (-) linhaça (CVWD) +50 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Pb; (--) sinal de fundo para linhaça (CVWD) + 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Pb. A: solução da amostra diluída 15 vezes; B: 30 vezes e C: 50 vezes..... 57

Figura 14. Perfis dos sinais de Pb para (-) solução padrão de Pb 50 $\mu\text{g L}^{-1}$; (--) sinal de fundo da solução padrão; (-) linhaça (MWAD) +50 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Pb; (--) sinal de fundo para linhaça (MWAD) + 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Pb. A: solução da amostra diluída 15 vezes; B: 30 vezes e C: 50 vezes..... 57

Figura 15. Perfis dos sinais de Pb para (-) solução padrão de Pb 50 $\mu\text{g L}^{-1}$; (--) sinal de fundo da solução padrão; (-) quinoa (CVWD) +50 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Pb; (--) sinal de fundo para quinoa (CVWD) + 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Pb. A: solução da amostra diluída 15 vezes; B: 30 vezes; C: 50 vezes e D: 100 vezes. 58

Figura 16. Perfis dos sinais de Pb para (-) solução padrão de Pb 50 $\mu\text{g L}^{-1}$; (--) sinal de fundo da solução padrão; (-) quinoa (MWAD) +50 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Pb; (--) sinal de fundo para quinoa (MWAD) + 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Pb. A: solução da amostra diluída 15 vezes; B: 30 vezes; C: 50 vezes e D: 100 vezes. 59

Figura 17. Perfis dos sinais de Pb para (-) solução padrão de Pb 50 $\mu\text{g L}^{-1}$; (--) sinal de fundo da solução padrão; (-) chia (CVWD) + 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Pb; (--) sinal de fundo para chia (CVWD) + 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Pb. Amostra diluída 15 vezes..... 60

Figura 18. Perfis dos sinais de Pb para (-) solução padrão de Pb $50 \mu\text{g L}^{-1}$; (--) sinal de fundo da solução padrão; (-) chia (MWAD) $+50 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb; (--) sinal de fundo para chia (MWAD) $+ 50 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb. Amostra diluída 15 vezes. 60

Figura 19. Perfis dos sinais de Pb para (-) solução padrão de Pb $50 \mu\text{g L}^{-1}$; (--) sinal de fundo da solução padrão; (-) quinoa (MWAD-sistema de média pressão) $+50 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb; (--) sinal de fundo para quinoa (MWAD-sistema de média pressão) $+ 50 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb. A: solução da amostra diluída 15 vezes; B: 30 vezes; C: 50 vezes e D: 100 vezes. 61

Figura 20. Perfis dos sinais de Pb para (-) solução padrão de Pb $50 \mu\text{g L}^{-1}$; (--) sinal de fundo da solução padrão; (-) quinoa (MWAD-sistema de alta pressão) $+50 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb; (--) sinal de fundo para quinoa (MWAD-sistema de alta pressão) $+ 50 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb. A: solução da amostra diluída 15 vezes; B: 30 vezes; C: 50 e D: 100 vezes. 62

Figura 21. Perfis dos sinais de Pb para (-) solução padrão de Pb $50 \mu\text{g L}^{-1}$; (--) sinal de fundo da solução padrão; (-) quinoa (MWAD-sistema de média pressão) $+50 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb; (--) sinal de fundo para quinoa (MWAD-sistema de média pressão) $+ 50 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb. A: solução da amostra diluída 15 vezes; B: 30 vezes; C: 50 vezes. 63

Figura 22. Perfis dos sinais de Pb para (-) solução padrão de Pb $50 \mu\text{g L}^{-1}$; (--) sinal de fundo da solução padrão; (-) quinoa (MWAD-sistema de alta pressão) $+50 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb; (--) sinal de fundo para quinoa (MWAD-sistema de alta pressão) $+ 50 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb. A: solução da amostra diluída 15 vezes; B: 30 vezes; C: 50 vezes. 63

Figura 23. Perfis dos sinais de Pb para (-) solução padrão de Pb $50 \mu\text{g L}^{-1}$; (--) sinal de fundo da solução padrão; (-) quinoa (MIC) $+50 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb; (-) sinal de fundo para quinoa (MIC) $+ 50 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb. A: solução da amostra diluída 5 vezes; B: sem diluição. 64

LISTA DE TABELAS

Tabela I. Métodos oficiais recomendados para a determinação de alguns elementos em alimentos.	20
Tabela II. Programa de aquecimento utilizado para a decomposição das amostras por via úmida em sistema aberto com aquecimento convencional	38
Tabela III. Programa de aquecimento para a decomposição por via úmida em sistema fechado com aquecimento convencional.....	39
Tabela IV. Programa de aquecimento para a decomposição por via úmida em sistema fechado assistido por micro-ondas (média pressão).....	40
Tabela V. Programa de aquecimento para a descontaminação dos frascos utilizados.....	40
Tabela VI. Programa de aquecimento para a decomposição por via úmida em sistema fechado assistido por micro-ondas (sistema de alta pressão).....	41
Tabela VII. Programa de aquecimento utilizado para a decomposição das amostras por MIC.	42
Tabela VIII. Parâmetros instrumentais utilizados para a determinação de Cd e Pb.....	43
Tabela IX. Caracterização das amostras.	44
Tabela X. Concentração de Cd e Pb em quinoa após decomposição por MIC e MWAD e determinação por ICP OES.	48

Tabela XI. Concentração de Cd e Pb, $\mu\text{g g}^{-1}$, em CRM (NIST 1547) após decomposição por MIC com diferentes concentrações de solução absorvedora e determinação por GF AAS, n = 2..... 49

Tabela XII. Figuras de mérito para Cd e Pb nos diferentes métodos de decomposição e determinação por GF AAS..... 65

LISTA DE ABREVIATURAS

AACC – American Association of Cereal Chemist

AAS – Espectrometria de Absorção Atômica

AOAC – Association of Analytical Communities

APG – Angiosperm Phylogeny Group

ASV – Voltametria de Redissolução Anódica

CRM – Material de Referência Certificado

CVWD – Decomposição por via úmida em sistema fechado com aquecimento convencional

ETAAS – Espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica

F AAS – Espectrometria de absorção atômica com chama

FAO – Organização das Nações Unidas para a Agricultura e a Alimentação

FDA – Food and Drug Administration

GF AAS – Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite

IARC – Agência Internacional de Pesquisas sobre o Câncer

ICM-MS – Espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado

ICP OES – Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado

LD – Limite de Detecção

LQ – Limite de Quantificação

MIC – Combustão Iniciada por Micro-ondas

MWAD – Decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas

NASA – National Aeronautics and Space Administration

NMKL – Nordic Committee on Food Analysis

OMS – Organização Mundial da Saúde

PFA – Perfluoroalcóxido

PTFE – Politetrafluoretileno

QMW15 – Amostra de quinoa decomposta por via úmida assistida por radiação micro-ondas e diluída 15 vezes

RCC – Residual Carbon Content

RESUMO

Neste trabalho é proposto um método para a determinação de cádmio e chumbo por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS) em cereais (amaranto, chia, linhaça e quinoa) após a decomposição das amostras em sistema fechado por combustão iniciada por micro-ondas (MIC). Para a decomposição por MIC, as amostras foram prensadas na forma de comprimidos e posicionadas em suporte de quartzo, onde a combustão foi feita na presença de 20 bar de oxigênio e utilizando nitrato de amônio como iniciador de combustão (50 μL NH_4NO_3 6 mol L^{-1}). Foi estudada a concentração da solução absorvedora mais adequada (HNO_3 1, 3 e 7 mol L^{-1}), sendo HNO_3 7 mol L^{-1} a solução escolhida por apresentar resultados concordantes (superior a 90%) para o material de referência certificado (CRM). O teor de carbono residual nas soluções obtidas por MIC foi 0,11% e até 500 mg de amostra foram decompostos. Também foram estudados outros métodos de preparo das amostras: decomposição por via úmida em sistema aberto e fechado com aquecimento convencional e decomposição por via úmida em sistema fechado com aquecimento por radiação micro-ondas (MWAD), utilizando sistemas de média (até 40 bar) e alta pressão (até 80 bar). As amostras de cereais não foram completamente decompostas quando o método de decomposição por via úmida em sistema aberto foi utilizado. A decomposição das amostras foi eficiente quando a decomposição por via úmida em sistema fechado (CVWD) com aquecimento convencional e por MWAD foram utilizadas. Apesar destes métodos poderem ser aplicados para a decomposição dos cereais, foram observadas interferências na determinação de Pb por GF AAS. Estas interferências das amostras foram contornadas apenas quando as soluções decompostas por MIC foram analisadas ou utilizando as soluções obtidas por CVWD e MWAD após uma etapa de diluição de, pelo menos, 30 e 50 vezes, respectivamente. Para a determinação de Cd, não foram observadas interferências na etapa de determinação. As concentrações de Cd e Pb em todas as amostras de cereais decompostas por MIC ficaram abaixo do limite de quantificação, de 0,087 e 0,443 $\mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente.

ABSTRACT

In this work, a method for cadmium and lead determination by graphite furnace atomic absorption spectrometry (GF AAS) in cereals, after microwave-induced combustion (MIC) in closed vessels is proposed. For MIC digestion, samples were pressed as pellets and placed on a quartz holder positioned inside to quartz vessels, where combustion takes place with using 20 bar of oxygen and ammonium nitrate as aid for ignition ($50 \mu\text{L } 6 \text{ mol L}^{-1} \text{ NH}_4\text{NO}_3$). The concentration of the absorbing solution was evaluated and $7 \text{ mol L}^{-1} \text{ HNO}_3$ was selected as absorbing solution in view of the agreement (higher than 90%) with the certified reference material. The residual carbon content in digests obtained by MIC was 0.11% and up to 500 mg of sample could be digested. Other sample preparation methods were also evaluated: wet digestion in open and closed vessels under conventional heating and by microwave-assisted wet digestion (MWAD), using systems operating at medium (up to 40 bar) and high pressure (up to 80 bar). Cereals samples were not complete digested when wet digestion in open vessels was used. Digestion was complete when wet digestion in closed vessels (CVWD) under conventional heating and by MWAD were used. Despite these method could be applied for digestion of cereals, interferences were observed in Pb determination by GF AAS. The interferences on Pb determination by GF AAS were minimized only when digests obtained by MIC were analyzed or when solutions obtained by CVWD and MWAD after a dilution step of 30 and 50 times, respectively, were used. For Cd determination by GF AAS interferences were not observed. Concentration of Cd and Pb in all cereals samples investigated after MIC digestion were lower than the limits of quantification of 0.087 e $0.443 \mu\text{g g}^{-1}$, respectively.

1 INTRODUÇÃO

A ingestão de cereais é altamente recomendada em uma alimentação saudável por ser fonte de fibras, vitaminas, proteínas e minerais. Nos últimos anos, alimentos que contêm múltiplos benefícios, como os cereais, estão sendo denominados pelos cientistas da área nutricional como “super alimentos” (do inglês, *superfoods*). No entanto, metais como cádmio e chumbo, podem estar presentes nesses alimentos devido, principalmente, à contaminação do solo e da água. Vários fatores contribuem para a presença de metais em solos agrícolas, incluindo fertilizantes minerais e orgânicos, deposição atmosférica de resíduos urbanos, produção de ligas metálicas, extrações de metais e queima de combustíveis fósseis.¹

A maior parte do cádmio que é ingerido passa através do trato gastrointestinal sem ser absorvido e acumula-se principalmente no fígado e nos rins. O principal efeito dessa bioacumulação de Cd nos rins é a disfunção do tubo renal. Além disso, o cádmio é classificado pela Agência Internacional de Pesquisas sobre o Câncer (IARC), como um metal carcinogênico a humanos, com evidências de causar câncer nos rins, fígado e próstata.² Por outro lado, a presença de chumbo nos alimentos se dá devido às etapas de processamento, manipulação e embalagem na indústria, além da contaminação do solo. Assim como acontece com o cádmio, o chumbo acumula-se nos rins e no fígado, mas também pode ser transferido para os ossos. O chumbo é considerado, também, pela IARC um metal carcinogênico, causando tumores renais e cerebrais.² Diante disso, é muito importante que haja o controle da presença de cádmio e chumbo em alimentos, como os cereais, e o consequente desenvolvimento de metodologias analíticas adequadas para sua determinação nestas matrizes.

Métodos analíticos para a determinação de cádmio e chumbo em alimentos, geralmente, envolvem as técnicas baseadas na espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmicas (ETAAS), espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) e espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS).² O método de preparo das amostras mais utilizado é a decomposição com ácidos concentrados, como a decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas (MWAD).³ No entanto, a elevada acidez das soluções resultantes pode levar à interferências na etapa de determinação dos elementos por diversas técnicas analíticas, como a espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS), por exemplo. Com isso,

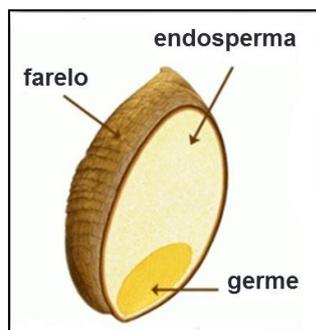
a escolha do método de preparo de amostras deve ser compatível com a técnica analítica utilizada para a determinação dos analitos. Nesse sentido, a técnica de decomposição por combustão iniciada por micro-ondas (MIC) é bastante adequada para a decomposição de amostras de maneira rápida e aplicável a amostras com alto teor de matéria orgânica, como os cereais. Por não ser necessária a utilização de ácidos concentrados na decomposição das amostras, as soluções obtidas por MIC possuem baixo teor de acidez.⁴

Desta forma, o objetivo do presente trabalho foi desenvolver uma metodologia para a determinação de Cd e Pb em cereais por GF AAS. Neste caso, diferentes métodos de preparo de amostras foram investigados visando a posterior determinação dos analitos, como a decomposição por via úmida com aquecimento convencional (WD) em sistema aberto e fechado, MWAD e MIC. Os métodos foram otimizados com o objetivo de promover elevada eficiência de decomposição das amostras, evitar interferências na etapa de determinação por GF AAS e aumentar a vida útil dos tubos de grafite. A exatidão foi avaliada com o uso de material de referência certificado (CRM) NIST 1547.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 CEREAIS

Cereal é qualquer fruto ou semente comestível da família das gramíneas que pode ser utilizado como alimento.⁵ O sistema de taxonomia vegetal APG – *Angiosperm Phylogeny Group* - II de 2003 reconhece essa família na ordem Poales com o nome de *Poaceae*.⁶ As gramíneas são plantas herbáceas que apresentam flores muito pequenas e frutos secos chamados grãos ou “cariopses”, compreendendo cerca de 8000 espécies. Estas cariopses podem ser nuas, apresentando somente o gérmen, o endosperma e a membrana da semente, como por exemplo, trigo, milho e centeio ou apresentar a cariopse revestida, com a mesma estrutura revestida de uma casca, por exemplo, arroz, aveia, cevada e sorgo.⁵ Todos os grãos apresentam uma casca protetora e abaixo dela encontram-se o endosperma, o farelo e o germe (Figura 1). O germe contém o embrião da planta, o endosperma fornece alimento para o crescimento da semente e, em volta do germe e do endosperma, encontra-se o farelo, que protege o grão contra interperies, insetos, fungos e bactérias.^{6,7}



Fonte: www.wholegrainscouncil.org

Figura 1 Estrutura de uma semente.

Cerca de 50 a 75% do endosperma é composto por amido e é a maior fonte de energia para o embrião durante a germinação. O endosperma também contém proteínas (de 8 a 18%), juntamente com os polímeros da parede celular. Vitaminas, minerais e fibras também estão localizados no endosperma. O germe é o menor contribuinte para o peso seco da maioria dos grãos e é composto por celulose, lignina e silicatos.⁷

Os grãos de cereais tornaram-se parte da dieta humana com o advento da agricultura cerca de 10.000 anos atrás⁸ e até hoje são produzidos em todo o mundo. Por conterem grande quantidade de carboidratos, são uma das principais fontes de energia ingerida pelos seres humanos.⁷ Os cereais também são importante fonte de fibras dietéticas, especialmente da fração insolúvel. As fibras totais são divididas em duas frações, uma solúvel em água e outra insolúvel. A fração insolúvel é principalmente relacionada à regulamentação intestinal, incluindo um aumento no bolo fecal, uma redução do tempo de trânsito desse bolo através do intestino grosso, entre outros benefícios, enquanto que a fração solúvel retarda o esvaziamento gástrico e o tempo de trânsito intestinal e absorve a glicose e o colesterol, dificultando a sua liberação na corrente sanguínea.⁹

O principal uso dos cereais é para a fabricação de farinha destinada a produtos de panificação, enquanto que as fibras e os farelos são usados na fabricação de ração animal.⁵ No entanto, há a necessidade de que esses grãos sejam processados, moídos e/ou cozidos antes do consumo. Grande parte do processamento é feito industrialmente e varia de acordo com a cultura e tipo do grão.^{5,9} A extrusão termoplástica é uma das técnicas utilizadas para o processamento de cereais e tem alguns efeitos nutricionais benéficos como o aumento do amido e a digestibilidade da proteína e a destruição de fatores anti-nutricionais como inibidores de tripsina de soja.¹⁰ No entanto, o dano nutricional como a perda de muitos nutrientes também pode ocorrer durante a extrusão devido à elevada temperatura empregada. Além disso, mudanças na solubilidade e estrutura química de componentes das fibras podem ocorrer e causar alterações na degradação bacteriana no intestino e nas propriedades fisiológicas. A extrusão de cozimento pode também provocar a transformação da fibra insolúvel em fibra solúvel.⁹

Diante do crescimento global de estilos de vida sedentários e a alarmante epidemia de distúrbios metabólicos, como obesidade, doenças cardiovasculares, diabetes tipo 2, entre outras, a relação entre a energia e as densidades de nutrientes dos alimentos tornou-se um tema importante no desenvolvimento de produtos, no estabelecimento de recomendações dietéticas e também no desenvolvimento de rotulagem e comunicação com o consumidor.¹¹ Nesse sentido, numerosos estudos epidemiológicos nos últimos 15 anos tem mostrado o papel preventivo dos cereais contra esses tipos de doenças. Em 2003, a Organização Internacional da Saúde (do inglês, *World Health Organization*) recomendou a ingestão de 20 g de cereais por dia, por serem fontes de polissacarídeos não amiláceos¹¹. Na Dinamarca, alimentos integrais têm sido promovidos com o objetivo de alcançar a ingestão diária recomendada de

75 g de grãos⁵. Nos EUA, o Conselho de Cereais Integrais criou um selo para embalagens de alimentos integrais, tornando mais fácil para os clientes identificar esses alimentos e incentivando os consumidores a atingir um consumo diário de grãos integrais de pelo menos 48 g por dia.^{11, 12}

Cereais integrais é a denominação dada aos grãos quando estes alimentos são consumidos em sua forma "inteira" e, de acordo com a American Association of Cereal Chemists (AACC International) os grãos integrais devem conter seus componentes principais – endosperma, germe e farelo – na mesma proporção relativa ao grão intacto. Amaranho e quinoa não estão na família botânica *Poaceae*, mas esses "pseudo-grãos" são normalmente incluídos com grãos de cereais verdadeiros porque o seu perfil nutricional, preparação e uso são muito semelhantes.¹²

O amaranho pertence à família *Amaranthae* e inclui mais de 60 espécies diferentes, das quais três espécies – *Amaranthus cruenus*, *Amaranthus hypochondriacus* e *Amaranthus caudatus* - são as mais comumente cultivadas devido às suas sementes comestíveis. Essa semente é uma cultura alimentar antiga cultivada principalmente na América do Sul e México há mais de 5.000 anos, mas cresce muito bem em diferentes regiões em todo o mundo.^{9,12} A espécie andina mais importante é a *Amaranthus Caudatus Linnaeus*. Seus grãos contém grande quantidade de proteínas, sendo a lisina em maior proporção, e de minerais como Mg, P e Cu, sendo Mn, Ca e Fe encontrado em altos níveis quando comparado com outros cereais. A fração lipídica dos grãos de amaranho é similar aos outros cereais consistindo principalmente de ácidos graxos insaturados, com o ácido linoleico sendo o ácido graxo predominante.¹³ Em 2008, foi encontrado nos grãos de amaranho o peptídeo lunasina, amplamente estudado por ter benefícios de prevenção ao câncer e de outras doenças, como diabetes, doenças cardíacas, acidente vascular cerebral, atividade anti-hipertensivas e redução do colesterol.^{14,15}

Assim como o amaranho, a quinoa (*Chenopodium quinoa Willd*) pertence à família *Amaranthae*. É nativa da região dos Andes e foi cultivada como alimento básico do Império Inca e desempenhou um papel importante na dieta e na cultura dos habitantes pré-hispânicos andinos. No entanto, sua produção foi abandonada quase completamente após a conquista espanhola. O interesse pela quinoa aumentou nas últimas décadas devido a sua facilidade de adaptação em diferentes condições ambientais. A planta apresenta tolerância à geada, à salinidade e à seca, e tem a capacidade de crescer em solos marginais.¹⁶ Na década de 90, a quinoa foi classificada pela NASA (*National Aeronautics and Space Administration*) como uma cultura emergente com excelentes propriedades nutricionais para missões espaciais

humanas a longo prazo devido ao seu elevado teor em proteínas e sua composição de aminoácidos, principalmente os sulfurados.¹⁷ Devido a seu grande potencial nutricional, a quinoa tem sido muito usada para fins medicinais. As sementes de quinoa são o alimento mais eficaz como fonte de flavonóides entre os cereais e pseudocereais,¹⁸ além de conter grandes quantidades de vitamina E, que age como antioxidante a nível de membrana celular, protegendo os ácidos graxos das membranas celulares contra os danos causados por radicais livres.¹⁹ Reconhecendo a importância da quinoa no fornecimento de segurança alimentar e nutricional e na erradicação da pobreza, a Assembleia Geral das Nações Unidas designou na sua resolução A/RES/66/221, o ano de 2013 como sendo o Ano Internacional da Quinoa.¹⁷

Oleaginosas como a linhaça e a chia não são considerados grãos integrais pelo Conselho de grãos integrais (*Whole Grain Council*), a AACC International, ou Food and Drug Administration (FDA).¹² A chia (*Salvia Hispanica L.*) é nativa do sul do México e foi o principal cultivo da antiga cultura mesoamericana, principalmente no período pré-colombiano.^{20,21} As suas sementes contém de 25 a 40% de óleo, dos quais 60% são de ácido alfa-linolênico omega 3 e 20% de ácido alfa- linolênico omega 6. Ambos ácidos graxos essenciais são necessários para o corpo humano e não podem ser sintetizados artificialmente. Devido ao alto teor de ácido graxo linolênico e os efeitos benéficos à saúde que podem surgir a partir de seu consumo, a chia tem se tornado cada vez mais importante para a saúde e nutrição humana.²¹ Sementes de chia também são compostas de proteínas, gorduras, carboidratos, fibras, minerais, vitaminas e antioxidantes.²²

A linhaça (*Linum usitatissimum L.*) pertence à família *Linaceae*. Está entre os mais antigos cultivos do mundo e é originária da Índia. Foi a primeira a ser domesticada na África e foi posteriormente introduzida em diversas regiões do mundo.²³ Linho é geralmente considerado como uma planta de duplo propósito fornecendo dois principais produtos, fibras e sementes. A fibra derivada a partir da haste de linho é caracterizada por alta resistência e durabilidade. As sementes fornecem óleo rico em ácidos graxos ômega-3, proteínas de fácil digestão, e ligninas. Além disso, as sementes de linhaça são uma boa fonte de proteína de alta qualidade e de fibra solúvel e tem um potencial considerável como uma fonte de compostos fenólicos.²⁴ Nos grãos de linhaça, os lípidos podem ser protegidos contra a oxidação por diversos mecanismos, por exemplo, pela atividade dos antioxidantes tais como fenilpropanoídeos (flavonóides e ácidos fenólicos) e carotenóides.²⁵ Diante dessas características nutricionais, a linhaça tem sido considerada um alimento funcional e de grande importância nutricional.²⁶

O teor de metais em cereais é muito variável e irá depender da variedade, do tipo de terreno onde os cereais são cultivados, da fertilização utilizada, da poluição ambiental, entre outros. Entre os metais que podem ser encontrados nos cereais estão o cádmio e chumbo, que são elementos tóxicos ao ser humano.²⁷ Esses elementos não possuem função biológica, acumulam-se no organismo e geram disfunções no sistema biológico, causando sérios problemas à saúde humana.^{27,28} A toxicidade aguda do cádmio expressa em valores de DL50 (dose letal mediana) oral em ratos, é estimada em torno de 100 mg kg⁻¹ para os sais solúveis. O controle biológico do chumbo é realizado pela utilização de índices de exposição que fornecem informações quanto aos níveis de absorção no sangue e na urina, onde os limites de tolerância são de 60 µg L⁻¹ e 150 µg L⁻¹, respectivamente.²⁹ Nesse contexto, torna-se cada vez mais importante a determinação dos níveis de elementos tóxicos em produtos alimentares.^{28, 30, 31}

Os governos nacionais e organizações internacionais estabelecem normas regulamentadoras para a alimentação para facilitar o comércio mundial e melhorar a saúde dos cidadãos de todas as nações.³² O Codex Alimentarius é um Programa Conjunto da Organização das Nações Unidas para a Agricultura e a Alimentação (FAO) e da Organização Mundial da Saúde (OMS) e se tornou um ponto de referência mundial para os consumidores, produtores e elaboradores de alimentos, para os órgãos internacionais de controle e comércio de alimentos.³³ As normas Codex abrangem os principais alimentos, sejam estes processados, semiprocessados ou crus e também tratam de substâncias e produtos usados na elaboração de alimentos. Suas diretrizes referem-se aos aspectos de higiene e propriedades nutricionais dos alimentos, abrangendo código de prática e normas de aditivos alimentares, pesticidas, resíduos de medicamentos veterinários, substâncias contaminantes, rotulagem, classificação, métodos de amostragem e análise de riscos.⁵ Em 2012, o Codex Alimentarius atualizou a norma 193 de 1995 “Codex General Standard for Contaminants and Toxins in Food and Feed”, que determina os níveis máximos permitidos de contaminantes e toxinas em alimentos e rações animais. Em cereais, exceto quinoa, os níveis máximos permitidos de Cd e Pb passaram a ser 0,1 e 0,2 mg kg⁻¹, respectivamente.

Apesar da existência da regulamentação dos níveis máximos permitidos de Cd e Pb em alimentos, como os cereais, é importante destacar que não existem métodos oficiais recomendados para a determinação destes analitos neste tipo de amostra. Neste sentido, o desenvolvimento de metodologias adequadas para a decomposição de cereais com elevada eficiência aliada à determinação de metais em baixas concentrações é importante. Na Tabela I

estão mostrados os métodos oficiais recomendados existentes para a determinação de alguns elementos em diferentes alimentos.

Tabela I. Métodos oficiais recomendados para a determinação de alguns elementos em alimentos.

Amostra	Elementos	Norma	Determinação
Alimentos	As, Se, Zn, Cd, Pb	AOAC 986.15	ASV após decomposição por via úmida em sistema fechado com aquecimento convencional
Molho de maçã, peixe picado, pasta de fígado, leite em pó	Pb, Cd, Cu, Fe, Zn	NMKL 161 (1998) AOAC 991.10	F AAS após decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas
Peixe, cogumelo, músculo bovino, farelo de trigo	Pb, Cd, Cu, Fe, Zn	NMKL 139 (1991) AOAC 999.11	AAS após decomposição por via seca

AOAC - Association of Analytical Communities

ASV – Voltametria de redissolução anódica

NMKL - Nordic Committee on Food Analysis

AAS – Espectrometria de absorção atômica

F AAS – Espectrometria de absorção atômica com chama

2.2 PREPARO DE AMOSTRAS

Considerando a importância nutricional dos cereais mencionados anteriormente, é extremamente importante efetuar o controle de qualidade destes alimentos no que se refere à determinação de metais, principalmente Cd e Pb. Neste sentido, o desenvolvimento de metodologias de preparo de amostras associadas à técnica de determinação adequada são importantes para a determinação de contaminantes em baixas concentrações.

As técnicas analíticas modernas tornaram possíveis a determinação de analitos em concentrações cada vez menores e até mesmo de espécies em matrizes complexas. Isto aumentou a importância das etapas de pré-tratamento das amostras de maneira a se obter soluções adequadas para análise e reduzir contaminação.³⁴

A análise direta de sólidos é vantajosa porque a determinação de analitos pode ser realizada diretamente sem necessidade de promover a decomposição da amostra, restringindo a sequência analítica a poucos passos³⁵. Entretanto, a maioria das técnicas analíticas envolve a introdução de amostras na forma de soluções aquosas, tornando necessário preparar a amostra para a transformação da espécie química de interesse em uma forma apropriada à técnica escolhida.³⁶ Recentemente, depois de muitos avanços na instrumentação, persiste o consenso de que a etapa de preparo das amostras é a mais crítica, pois pode ser morosa e responsável por uma grande fonte de erros, como perdas de analito por volatilização, contaminação por diversas fontes, adsorção e dessorção do analito, decomposição ou dissolução incompleta da amostra, entre outros.^{35,37}

Para determinação de metais em amostras de cereais por GF AAS, mediante a introdução de amostras na forma de solução no tubo de grafite, é necessário efetuar uma etapa de decomposição visando a destruição da matéria orgânica de modo a reter os analitos de interesse em uma solução para posterior determinação.^{34, 32} As técnicas mais utilizadas para este propósito são as técnicas de combustão por via seca^{38,39,40} decomposição por via úmida em sistema aberto com aquecimento convencional^{41,42} e decomposição por via úmida em sistema fechado assistida por radiação micro-ondas, as quais serão destacadas a seguir.^{1, 43, 44}

2.2.1 Decomposição por via úmida

Em geral, a decomposição de amostras orgânicas por via úmida é realizada na presença de um ácido mineral concentrado, uma mistura de ácidos ou uma mistura de um ácido com outros reagentes, como o peróxido de hidrogênio. Se o poder de oxidação do ácido é suficientemente elevado e quando o aquecimento é feito a temperaturas elevadas durante um tempo adequado, a maioria das amostras são completamente oxidadas e uma solução ácida é obtida com os analitos em suas formas inorgânicas.³⁵ O ácido mais comumente empregado é o HNO₃ que forma uma mistura azeotrópica com a água a 67% (m/m), com ponto de ebulição de, aproximadamente, 120 °C. Pode ser utilizado combinado com outros ácidos, como descrito anteriormente, de modo a aumentar as temperaturas de decomposição para possibilitar maior eficiência nas quebras das ligações carbono-carbono das moléculas orgânicas.⁴⁵

A decomposição por via úmida pode ser realizada com aquecimento convencional em sistemas abertos ou fechados ou com aquecimento assistido por radiação micro-ondas. A principal vantagem da decomposição por via úmida em relação à maioria dos métodos de decomposição por via seca, é a menor temperatura empregada, o que diminui os riscos de perdas de analito por volatilização.⁴⁵

2.2.2 Decomposição por via úmida em sistema aberto

A decomposição por via úmida em sistema aberto é um dos mais antigos métodos de decomposição de amostras.³⁴ Esse método consiste em colocar a amostra, previamente pesada, em um frasco apropriado, geralmente de vidro borosilicato juntamente com o ácido e submeter o sistema ao aquecimento. Uma das desvantagens deste sistema são as perdas por volatilização de alguns elementos, tais como halogênios, Sn, As, B, Se Hg, Cd e Pb.³⁵ Além disso, este tipo de decomposição é limitado pela temperatura de ebulição do ácido empregado.³⁴ A principal vantagem deste método é a possibilidade de se utilizar grandes quantidades de amostra, pois a massa da amostra não é limitada pela máxima pressão permitida dentro do frasco de decomposição empregado, quando a decomposição é conduzida em frasco aberto.³⁴

Os métodos convencionais de decomposição por via úmida em sistemas abertos com aquecimento convencional, implicam em um sistema equipado com fonte aquecida convencionalmente, no qual a temperatura é controlada através de um programa de aquecimento. Atualmente, o mais comum são os blocos digestores, onde as decomposições são feitas em frascos de vidro ou de politetrafluoretileno (PTFE), com ou sem um condensador de refluxo.⁴⁶

Bjelková *et al.*⁴² utilizaram a decomposição por via úmida em sistema aberto com aquecimento convencional para a posterior determinação de cádmio em linhaça em diferentes partes da planta, incluindo as sementes. Para a decomposição das amostras foram utilizadas, aproximadamente, 1 g de linhaça e 8 mL de HNO₃ concentrado. Essa mistura foi aquecida durante a noite numa placa de aquecimento. No dia seguinte, a mistura foi aquecida a 120 °C por 1 h. Após arrefecimento, 8 mL de H₂O₂ 30% foram adicionados e, em seguida, as amostras foram novamente aquecidas até a solução tornar-se límpida. Após arrefecimento, a solução obtida foi coletada e Cd foi determinado por GF AAS.⁴² Apesar de os autores informarem que a exatidão do método foi avaliada utilizando CRM, os valores de concordância obtidos não foram apresentados. Além disso, o tempo e a temperatura utilizados no aquecimento durante a noite, assim como o tempo utilizado até a completa decomposição da amostra, também não foram informados. Mesmo sem essas informações é possível observar a morosidade do método.

Cereais também foram decompostos por via úmida em sistema aberto com aquecimento convencional por Kazi *et al.*⁴⁷ para posterior determinação de Cd, Cr, Ni e Pb por GF AAS. Neste trabalho, cerca de 100 mg de amostra foram decompostas com 5 mL de uma mistura de HNO₃ e H₂O₂ (2:1), ambos concentrados. A mistura foi aquecida por cerca de 4 h a 80 °C, e, em seguida, a mistura de ácidos foi adicionada novamente e aquecida até que a solução ficasse incolor. O excesso de ácido foi evaporado e, após arrefecimento, foi adicionado 5 mL de HNO₃ 0,5 mol L⁻¹ e a solução obtida foi centrifugada a 3000 rpm durante 10 min. O volume final foi aferido a 10 mL com HNO₃ 0,5 mol L⁻¹.⁴⁷ Apesar da decomposição ter se mostrado eficiente, com recuperação de 95,6–99,7%, a pequena massa de amostra é uma limitação do método. Os autores ainda destacaram a morosidade do método e as grandes quantidades de reagentes utilizados como desvantagens. Além disso, apesar de os autores afirmarem a completa decomposição da amostra, foi necessária uma etapa de centrifugação, o que indica resíduos remanescentes após a decomposição.

2.2.3 Decomposição por via úmida em sistema fechado (CVWD)

Durante as últimas décadas, os métodos de decomposição por via úmida utilizando frascos fechados têm se tornado amplamente utilizados.³⁴ Os sistemas abertos são limitados à temperatura de ebulição do ácido utilizado à pressão atmosférica. Como a taxa de reação está diretamente relacionada com a temperatura, esta condição impõe um limite sobre o tempo necessário para a decomposição da amostra. Uma reação mais rápida pode ser obtida fechando-se hermeticamente o frasco contendo a amostra e o ácido em um sistema resistente à pressão e ao aquecimento, atingindo temperaturas superiores às aquelas quando utilizados sistemas abertos.⁴⁸

O primeiro método utilizando decomposição por via úmida em sistema fechado com aquecimento convencional foi proposto por Mitscherlich e Carius⁴⁹ em 1860, frequentemente descrito como técnica do tubo Carius. Após o desenvolvimento do tubo Carius, vários sistemas de decomposição utilizando frascos fechados começaram a surgir, como autoclaves feitas de metal, Pt ou outras ligas. Decomposição em autoclaves foi originalmente proposta em 1894 por Jannasch⁵⁰, mas não foi muito amplamente empregada.

O uso extensivo de sistemas pressurizados em laboratórios começou em 1960, como resultado do desenvolvimento de frascos feitos de polímeros orgânicos. Sistemas de aquecimento convectivo em sistema fechado mostraram-se os sistemas mais efetivos para garantir completa ou quase completa decomposição de amostras sólidas, pois os frascos, geralmente feitos de PTFE e perfluoroalcóxido (PFA), permitem o uso de temperaturas elevadas (200 – 230 °C).^{51,52,53} Com relação a este método cabe destacar que um tempo considerável é consumido na etapa de arrefecimento do sistema utilizado para a decomposição e há limitação na massa da amostra utilizada.⁵⁴

Akinyele *et al.*⁵⁵ avaliaram a eficiência da decomposição de diferentes vegetais, frutas, legumes, tubérculos e cereais (arroz, milho e trigo) por via úmida utilizando frascos de Teflon® em comparação com a decomposição por via seca para posterior determinação de vários metais, entre eles Cd e Pb. Para a decomposição por via úmida, aproximadamente 1 g de amostra e 20 mL de uma mistura ácida de HNO₃ e HCl (3:1) foram aquecidos a 150 °C por 150 min em um bloco digestor. A solução obtida foi filtrada e aferida a 25 mL com água destilada.⁵⁵ Apesar de o tempo de decomposição por via úmida ter sido muito menor que por via seca e de os autores afirmarem que a decomposição em sistema fechado mostrou-se tão eficiente quanto aos métodos de decomposição por via seca, foi necessária uma etapa de

filtração previamente à etapa de determinação, indicando que a decomposição não foi completa. Os valores das concentrações de Cd e Pb nos cereais ficaram abaixo do limite de quantificação.

2.2.4 Decomposição por via úmida em sistema fechado com aquecimento assistido por radiação micro-ondas (MWAD)

Desde que Abu-Samra *et al*⁵⁶ relataram a aplicação da decomposição assistida por radiação micro-ondas para decomposição de amostras biológicas em 1975, os métodos empregando radiação micro-ondas estão cada vez mais disseminados.^{57,58} Esses sistemas podem operar sob pressão elevada, de até 120 bar e sob temperaturas que podem chegar a 300 °C. A principal vantagem do uso da radiação micro-ondas frente aos sistemas convencionais é o aquecimento direto da mistura ácida que se dá por meio da interação com o campo eletromagnético oscilante gerado pelo magnetron do forno de micro-ondas, resultando em um aquecimento mais rápido.⁵⁶ Além disso, este sistema, geralmente, permite que a pressão e a temperatura sejam controladas durante a etapa de decomposição.⁵⁸

Ozkutlu¹ utilizou a técnica de decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas para a decomposição de diversas sementes, entre elas, a linhaça. Foi empregada uma massa de 200 mg de amostra e uma mistura ácida composta por 5 mL de HNO₃ concentrado e 2 mL de H₂O₂ 30%. A mistura foi aquecida em forno de micro-ondas a uma temperatura de 200 °C por 45 min. Após a decomposição, a solução resultante foi filtrada e a solução obtida foi recolhida e aferida com água destilada a 20 mL para posterior determinação de Cd por ICP OES. A exatidão do método foi avaliada utilizando CRM NIST 1547 – *Peach Leaves* e recuperações maiores que 95% foram obtidas.¹ Cabe ressaltar que foi necessária a utilização de uma massa relativamente baixa (200 mg) para que a decomposição das amostras fosse eficiente, evidenciando a complexidade da matriz. Apesar dos valores de recuperações terem sido adequados, os autores não avaliaram o teor de carbono residual (RCC) das soluções obtidas após a decomposição. A concentração de Cd na amostra de linhaça foi 128 µg kg⁻¹.

Llorent-Martínez *et al*⁴⁴ avaliaram a eficiência da decomposição de amostras de chia, entre outros alimentos, empregando forno de micro-ondas em sistema fechado para posterior determinação de 26 elementos, entre eles Cd e Pb, por ICP-MS. Aproximadamente 250 mg de amostra e uma mistura de 6 mL de HNO₃ e 1 mL de H₂O₂, ambos concentrados, foram

utilizados na etapa de decomposição. O aquecimento foi feito utilizando uma rampa de aquecimento de 15 min até chegar a 200 °C e essa temperatura foi mantida por 15 min⁴⁴. Os autores fizeram um estudo com diferentes massa de amostra, utilizando no máximo 500 mg e observaram que as decomposições não eram completas quando massas maiores que 250 mg foram usadas. Diante disso é possível observar a complexidade da matriz dos cereais e a dificuldade em obter uma completa decomposição. Os valores das concentrações de Cd e Pb em chia ficaram abaixo do limite de quantificação (90 e 230 ng g⁻¹, respectivamente).

2.2.5 Combustão

Os métodos de combustão têm sido utilizados para a decomposição de compostos orgânicos desde o final do século XVIII com o trabalho pioneiro de Lavoisier.³⁸ Os métodos de decomposição que envolvem as reações de combustão são, geralmente, mais eficientes na conversão de carbono e hidrogênio presentes na matriz da amostra em seus respectivos produtos de oxidação (CO₂ e H₂O), em vista das altas temperaturas alcançadas durante a queima (superior a 1000 °C). Durante a combustão, a matriz orgânica pode ser completamente oxidada, resultando em soluções com mínimo teor de carbono residual e compatíveis com a maioria das técnicas analíticas de determinação de elementos traço.^{59, 60}

De maneira geral, as reações de combustão envolvem a presença de um oxidante e um combustível e resultam, principalmente, na conversão da matéria orgânica em CO₂ e H₂O, a partir de uma reação exotérmica. Em sistemas fechados, a pressão e a temperatura são, em geral, dependentes da massa da amostra, da quantidade de O₂, das dimensões do frasco e da velocidade da reação.⁶¹

Os métodos clássicos de combustão em sistemas fechados são o frasco de combustão de Schöniger e a bomba de combustão, onde a amostra é queimada dentro de um sistema fechado preenchido com O₂ e os gases são absorvidos em uma solução absorvedora.⁶² As vantagens desses métodos incluem, além da elevada eficiência de decomposição, a velocidade com que as amostras são decompostas, o baixo risco de perdas (por se tratarem de sistemas fechados) e a simplicidade do processo. Uma outra vantagem destes métodos é a utilização de soluções diluídas para retenção dos analitos. Estes métodos não têm sido amplamente utilizados nos últimos anos devido a algumas limitações que são bastante significativas. Entre elas, destaca-se a baixa frequência analítica, onde somente uma amostra pode ser processada de cada vez, a limitada quantidade de amostra que pode ser utilizada (aproximadamente 50

mg no frasco de Schöniger), os riscos de contaminação pelo material do frasco da bomba de combustão, principalmente na determinação de Cr, Ni, Fe e V, e além disso, não é possível aplicar uma etapa de refluxo após a decomposição da amostra para lavagem do sistema e garantir recuperações quantitativas.^{34, 47}

Em 2004⁶³ foi desenvolvido o método de combustão iniciada por radiação micro-ondas (MIC), que envolve a combustão da matéria orgânica em frascos fechados, onde a reação de combustão é iniciada por radiação micro-ondas. Este método combina as características dos métodos clássicos, descritos anteriormente, com a decomposição por via úmida com aquecimento assistido por radiação micro-ondas. Neste sistema, um suporte de quartzo é introduzido no frasco de decomposição e a amostra é colocada sobre esse suporte na forma de um comprimido ou envolvida em um material adequado. Após a decomposição, o sistema permite uma etapa de refluxo para a absorção dos gases em uma solução absorvedora.^{63,64} A MIC foi adaptada em forno de micro-ondas comercial que foi originalmente desenvolvido para ser utilizado em decomposição por via úmida em sistema fechado com aquecimento por radiação micro-ondas⁶³.

O método de combustão iniciada por micro-ondas disponível atualmente foi primeiramente proposto por Mesko⁶⁵ para a determinação de Cu e Zn em leite em pó e fígado bovino. Neste trabalho, o suporte de quartzo utilizado foi desenvolvido no próprio laboratório, sendo adaptável ao frasco de quartzo disponível comercialmente pelo fabricante do forno de micro-ondas. O suporte utilizado por Mesko⁶⁵ possui algumas vantagens frente a outros modelos estudados, como a presença de ranhuras na base para permitir o melhor contato da amostra com o oxigênio no interior no frasco. Além disso, a parte superior do suporte possui formato cônico para permitir que a solução absorvedora efetue uma lavagem efetiva da base do suporte, além de proteger a tampa do frasco contra a chama gerada do processo de combustão. As amostras foram prensadas na forma de comprimido e colocadas sobre um disco de papel filtro posicionado na base do suporte de quartzo, onde 50 μL de NH_4NO_3 6 mol L^{-1} foram adicionados como iniciador da combustão. Em seguida, o suporte foi colocado dentro do frasco de quartzo e o sistema foi pressurizado com 20 bar de O_2 por 2 min e levado ao interior da cavidade do forno de micro-ondas. Foi feita uma investigação da influência da concentração do HNO_3 como solução absorvedora, onde utilizou-se HNO_3 concentrado, 2 mol L^{-1} e somente água. A solução de HNO_3 concentrado foi a solução absorvedora que mostrou-se mais adequada para retenção dos analitos após a combustão de fígado bovino.

Com a aplicação da etapa de refluxo, a recuperação de Cu e Zn foi superior a 93%. O teor de carbono residual foi inferior a 0,4%.

Posteriormente, outros trabalhos foram desenvolvidos utilizando a decomposição por MIC para diversas matrizes. No entanto, devido a estas aplicações terem sido feitas com amostras diferentes do presente trabalho, não serão mencionadas. Recentemente, Muller *et al*⁶⁶ propuseram um método para a decomposição de castanhas por MIC e posterior determinação de As, Cd e Pb por ICP-MS. Para este estudo foram avaliadas massas de amostra entre 100 e 500 mg que foram envolvidas em filmes de polietileno. Como iniciador de combustão foram utilizados 50 μL de NH_4NO_3 6 mol L^{-1} . A diluição da solução absorvedora também foi avaliada e, para isto, foram utilizadas 6 mL de HNO_3 4, 7, 10 e 14 mol L^{-1} . Após o fechamento dos frascos, o sistema foi pressurizado com 20 bar de O_2 e o rotor foi colocado no interior da cavidade do forno de micro-ondas. O programa de aquecimento utilizado foi de 1400 W por 5 min. O tempo utilizado na etapa de refluxo, o tempo de arrefecimento, a concentração e quantidade de NH_4NO_3 utilizado e a massa de papel filtro foram escolhidos de acordo com estudos anteriores.⁴ A pressão atingida, quando utilizados 500 mg de massa da amostra, foi de 35 bar, que representa menos de 45% da pressão máxima recomendada pelo fabricante (80 bar). Portanto, o método proposto foi considerado seguro e eficaz para a decomposição de massas de amostra até 500 mg. Além disso, quando HNO_3 7 mol L^{-1} foi utilizado como solução absorvedora, os resultados para todos os elementos analisados apresentaram concordância maior que 96% em comparação com os resultados obtidos por MIC utilizando HNO_3 14 mol L^{-1} .⁶⁶ Os autores também compararam a decomposição por MIC com aMWAD, onde foram utilizados 5 mL de HNO_3 concentrado e 1 mL de H_2O_2 50%. Após a decomposição por MWAD, em vista da concentração de ácido, a solução obtida foi diluída a fim de evitar interferências na etapa de determinação por ICP-MS. Com isso, não foi possível a determinação de Cd, Pb e As, devido à diluição excessiva da amostra. Além dessas desvantagens, a solução obtida por MWAD apresentou teor de carbono residual maior que 20%, enquanto que as soluções obtidas por MIC apresentaram teor de carbono residual menor que 1,5%.

Cabe ressaltar que, apesar das vantagens da MIC, este método de preparo de amostras não foi utilizado até o momento para a decomposição de amostras de cereais, como amaranto, chia, linhaça e quinoa, para a posterior determinação de metais.

2.3 ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM FORNO DE GRAFITE (GF AAS)

Diante da necessidade em determinar contaminantes em alimentos se torna necessário desenvolver métodos para a determinação de metais. Para isso, diferentes técnicas como FAAS^{55, 67}, GF AAS⁶⁸, ICP OES⁶⁹ e ICP-MS^{70, 30, 44}, têm sido utilizadas para a determinação de Cd e Pb em alimentos.

A espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado é uma técnica capaz de determinar mais de 70 elementos e baseia-se na excitação de elementos em um plasma de argônio. É uma técnica multielementar e determina elementos em baixa concentração com boa sensibilidade, mas apresenta limites de detecção mais elevados que aqueles obtidos por GF AAS.⁶⁹ Por outro lado, a ICP-MS permite a determinação de elementos em baixas concentrações (em geral, inferiores às obtidas por GF AAS) e análise isotópica. A capacidade multielementar, associada à sua alta sensibilidade, possibilita elevado desempenho para análises de rotina. No entanto, um dos aspectos críticos para a técnica de ICP-MS é a ocorrência de interferências, que exige criteriosa seleção de condições de calibração e tratamento de amostras.³⁰

O princípio das técnicas de absorção atômica baseia-se na medida da absorção da radiação eletromagnética, proveniente de uma fonte de radiação, por átomos gasosos no estado fundamental. A técnica de GF AAS difere da F AAS principalmente em relação ao sistema de introdução de amostras e atomizador que, ao invés de um queimador, consiste em um tubo de grafite pirolítico com 2 a 4 cm de comprimento. A GF AAS apresenta limites de detecção da ordem de $\mu\text{g L}^{-1}$ e, além da sensibilidade, apresenta vantagens em relação à F AAS pelo reduzido volume de amostra requerido e também pelo baixo consumo de gases.⁶⁸ A espectrometria de absorção atômica (AAS) foi introduzida em 1955 por Alan Walsh.⁷¹ Em 1959, Bóris L`vov propôs o uso de um forno de grafite como atomizador, baseado no forno de King, projetado em 1905.⁷²

O forno de Massmann, que apareceu em 1967, representou um grande avanço para o desenvolvimento de um atomizador eletrotérmico que pudesse ser usado em equipamentos comerciais. O tubo de grafite, de 50 mm de comprimento, aquecido pela aplicação de uma corrente muito alta (500 A), a baixa voltagem (10 V), permitia uma graduação muito fina de temperatura e, portanto, a seleção de condições de temperaturas ótimas para a atomização de cada elemento. O tubo de Massmann era submetido a um fluxo constante de um gás inerte e,

com isso, obteve limites de detecção cerca de 10 vezes piores que os obtidos por L`vov. Uma série de outros autores propuseram dispositivos alternativos de atomização, mas o modelo de Massmann é o que foi adotado pelos fabricantes e introduzido comercialmente em 1970, como acessório dos instrumentos de absorção atômica com chama.⁷³ Os fornos comerciais eram não isotérmicos, ou seja, as extremidades dos fornos, em contato com os eletrodos de contato, perdiam calor, tornando-se naturalmente mais frias que o centro. Com isso, os átomos formados no centro do tubo de grafite difundiam-se para as extremidades mais frias, levando a reações de recombinações.⁷⁴

De modo a compensar o problema causado pela não-isotermicidade, L`vov propôs que a amostra fosse depositada sobre uma pequena plataforma de grafite pirolítico. A plataforma era aquecida, primeiramente, por radiação vinda das paredes do tubo e, posteriormente, pelo gás aquecido. Assim, a temperatura da plataforma aumenta menos rapidamente do que a parede do forno e tende a atingir o equilíbrio térmico com o gás do interior do tubo em aquecimento. Desta forma, os átomos provenientes da plataforma são lançados em uma atmosfera isotérmica, de temperatura igual ou mais quente, não havendo problemas de recombinação.^{72, 74}

Entre as vantagens do forno de grafite podem ser citadas: a alta sensibilidade e a pequena quantidade de amostra requerida; em relação à técnica de chama, os limites de detecção melhoram de várias ordens de grandeza. Entretanto, o desenvolvimento desta técnica é limitado pelos efeitos adversos causados por algumas matrizes em determinadas situações. Em 1981, Walter Slavin⁷⁵, baseado nos princípios de L`vov, introduziu o conceito de STPF (“*Stabilized Temperature Platform Furnace*”), que compreende um conjunto de condições que melhoram a sensibilidade da técnica de GF AAS. Este conceito inclui as seguintes recomendações:

1. Evaporação da amostra a partir da superfície da plataforma de grafite (Plataforma de L`vov)
2. Uso de tubos de grafite revestidos com grafite pirolítico;
3. Uso de corretor de absorção de fundo eficiente (baseado no efeito Zeeman);
4. Atomização sem fluxo de gás inerte no interior do tubo de grafite;
5. Eletrônica rápida para aquisição dos sinais analíticos;
6. Cálculo das concentrações dos analitos, preferencialmente, através do uso da área dos sinais analíticos ao invés da altura;
7. Uso de modificadores químicos.

A introdução deste conceito foi de grande importância para o desenvolvimento da GF AAS que hoje é considerada uma técnica de alta sensibilidade e versátil para a determinação de elementos em baixas concentrações em diferentes tipos de matrizes.⁷⁴ Nesse sentido, a GF AAS pode ser utilizada para a determinação de Cd e Pb em cereais.^{47,38}

3 OBJETIVOS

Este trabalho tem por objetivo principal desenvolver uma metodologia analítica para a determinação de Cd e Pb por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite em cereais após decomposição das amostras. Além disso, este trabalho também tem como objetivos a avaliação de diferentes métodos de decomposição e a aplicação da metodologia mais adequada para diferentes tipos de cereais.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 EQUIPAMENTOS

A decomposição das amostras por via úmida em sistema aberto com aquecimento convencional foi feita em bloco digestor modelo DK Heating Digester (Velp Scientifica), equipado com 20 tubos de borosilicato com capacidade para 100 mL. A decomposição em sistema fechado com aquecimento convencional foi realizada em um bloco digestor modelo TE-007D (Tecnal), equipado com 12 frascos de PTFE com tampa rosca, com capacidade máxima para 50 mL. Para as decomposições por MWAD foram utilizados dois diferentes sistemas: i) sistema de média pressão: modelo Speed Wave Four (Berghof) com condições máximas de operação para a temperatura, pressão e potência são de 260 °C, 40 bar e 1400 W, respectivamente, equipado com frascos fechados de TFM[®]PTFE (PTFE modificado), com capacidade máxima para 60 mL e ii) sistema de alta pressão: modelo Multiwave PRO (Figura 2, Anton Paar) com condições máximas de operação de temperatura, pressão e potência de 280 °C, 80 bar e 1400 W, respectivamente, equipados com frascos fechados de quartzo com capacidade para 80 mL.

Para a MIC também foi utilizado o forno de micro-ondas de alta pressão, modelo Multiwave PRO, Anton Paar), (Figura 2) equipado com suporte de quartzo que é inserido no interior do frasco (Figura 3). A amostra, na forma de comprimido foi colocada sobre o papel filtro posicionado na base do suporte de quartzo.



Figura 2. Forno de micro-ondas comercial utilizado para a decomposição por via úmida e combustão iniciada por micro-ondas.

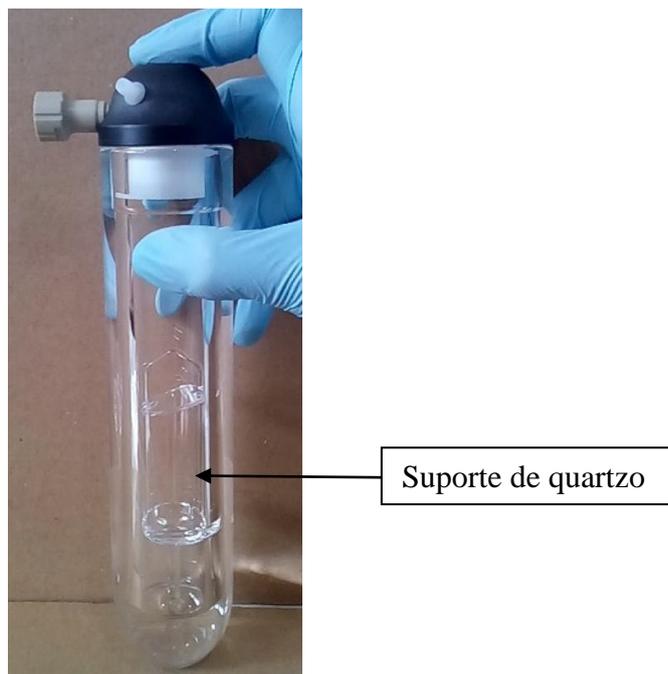


Figura 3. Frasco de quartzo e suporte empregados na combustão iniciada por micro-ondas.

Para a determinação de Cd e Pb foi utilizado um espectrômetro de absorção atômica com forno de grafite modelo PinAAcle 900T (Perkin Elmer) equipado com auto-amostrador AS 900, tubos de grafite recoberto piroliticamente e plataforma de L`Vov integrada, com aquecimento transversal. A correção do sinal de fundo é baseada no Efeito Zeeman e foi aplicado um campo magnético de 0,8 T.

Para a determinação de lipídios foi utilizado um extrator de Soxhlet Soxtec™ 2055 (Foss Tecator) equipado com 6 cartuchos de Soxhlet. Para a determinação de proteínas foram utilizados um bloco digestor macro de nitrogênio e proteína NT 351 (Novatecnica) com capacidade para 6 provas macro, um destilador de nitrogênio e proteína NT 415 (Novatecnica).

Para a determinação do teor de carbono residual foi utilizado um analisador de carbono orgânico Multi N/C 2100 S (Analytik Jena) equipado com amostrador automático.

Outros equipamentos também foram utilizados: balança digital Shimadzu, com resolução de 0,0001 g e capacidade para 220 g modelo AUY 200 (Shimadzu), estufa convencional com circulação de ar (Nova Ética) e moedor criogênico modelo 6750 (Spex CertiPrep) equipado com tubos de policarbonato.

4.2 REAGENTES

Para o preparo de todas as soluções e amostras foi utilizada água deionizada, purificada em sistema Milli-Q[®] (Millipore) com resistividade de 18,2 MΩcm. O ácido nítrico PA, 65% (m/m) (Sigma Aldrich), utilizado foi bidestilado em sistema de sub-ebulição (Distillacid, Berghof).

Para a determinação de Cd e Pb foram utilizados dois modificadores químicos, Mg(NO₃)₂ 0,1% e Pd(NO₃)₂ 0,1% em água, que foram preparados a partir das soluções de Mg(NO₃)₂ 1% (m/v) em água (Chem sacn AS) e Pd(NO₃)₂ 10000 mg L⁻¹ em HNO₃ 15% (Merck). A limpeza do pipetador automático do espectrômetro de absorção atômica foi feita com uma solução contendo 1% de HNO₃ (v/v) e 0,01% de Triton X-100 (v/v) em água. As soluções padrão de Cd e Pb foram preparadas a partir de soluções estoque, ambas de concentração 1000 mg L⁻¹ ± 4 mg L⁻¹ em HNO₃ 2% (Sigma Aldrich).

Para a determinação de carbono residual foram utilizados biftalato de potássio (Emsure), carbonato de potássio (Emsure) e bicarbonato de potássio (Sigma Aldrich).

Para a determinação de lipídio foi utilizado éter etílico anidro (Dinâmica). Para a determinação de proteínas foram utilizados os seguintes reagentes: sulfato de cobre (Vetec), sulfato de sódio (Nuclear), hidróxido de sódio (Dinâmica), ácido sulfúrico concentrado (Vetec), ácido bórico (Vetec) e indicador de Tashiro.

A vidraria utilizada e outros materiais comuns de laboratório foram descontaminados por imersão em HNO₃ 10% (v/v) por, pelo menos, 24 h e, posteriormente, lavados com água purificada.

4.3 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS

As amostras foram caracterizadas através da determinação de lipídeos e proteínas. A determinação de lipídeos foi feita através de um método gravimétrico, baseado na perda de peso do material submetido à extração com éter etílico. Aproximadamente 2,5 g de amostra foram transferidas para um cartucho de Soxhlet, previamente forrado com papel filtro e algodão e, em seguida, a amostra foi coberta por algodão. A um copo específico do equipamento foram adicionados 100 mL de éter etílico. Em seguida, os cartuchos contendo a amostra e os copos contendo o solvente foram encaixados no extrator de Soxhlet e a extração foi iniciada após imersão do cartucho no solvente a 135 °C por 25 min. Após a extração, o

suporte onde os cartuchos estavam encaixados foi levantado e o solvente remanescente no cartucho foi deixado gotejar até completo desprendimento da amostra. Em seguida, os os copos foram colocados em estufa a 100 °C por 20 min e colocados em dessecador.

O cálculo da quantidade de lipídeos (%) foi feito segundo a equação abaixo:

$$\text{Lipídeos (\%)} = \frac{\text{PL} \times 100}{\text{P}}$$

Onde:

PL = peso do copo com gordura – peso do copo antes da extração

P = peso da amostra

A determinação de proteínas foi feita pelo Método Kjeldahl e consiste em 3 etapas que serão descritas a seguir:

i) Digestão: aproximadamente 500 mg de amostra foram pesadas e transferidas para o tubo Kjeldahl, juntamente com 5 g de uma mistura (10:1) de sulfato de sódio e sulfato de cobre, e 20 mL de H₂SO₄ concentrado. Os tubos foram colocados no bloco digestor e aquecidos a 430 °C por 2 h. Em seguida foram deixados esfriar a temperatura ambiente.

ii) Destilação: após completo arrefecimento, 20 mL de H₂O destilada e 3 gotas de indicador Tashiro (vermelho de metila 0,1% e azul de metileno 0,1%, 2:1, em álcool etílico) foram adicionados ao tubo. Em um erlenmeyer, foram adicionados 15 mL de ácido bórico 4%, 10 mL de H₂O destilada e 5 gotas de indicador Tashiro. O tubo e o erlenmeyer foram encaixados no destilador de nitrogênio. Através de um funil introdutor do destilador, 45 mL de NaOH 40% foram adicionados ao tubo Kjeldahl. Em seguida, o equipamento foi ligado e o tubo submetido à ebulição até que 125 mL de solução fosse recolhida no erlenmeyer.

iii) Titulação: a solução destilada no erlenmeyer foi titulada, através de bureta, com ácido sulfúrico 0,1 mol L⁻¹ até visualização do ponto final de titulação.

O cálculo da quantidade de proteínas (%) foi feito segundo a equação abaixo:

$$\text{Proteína (\%)} = \frac{\text{K} \times \text{V} \times \text{Fator}}{\text{P}}$$

Onde:

K = Fc x 0,0014 x 100

Fc = fator de correção da solução de ácido sulfúrico 0,1 mol L⁻¹ (1,398984)

P = massa da amostra em gramas

V = volume da da solução de ácido sulfúrico gasto na titulação

Fator = fator de conversão de nitrogênio para proteína que varia conforme o alimento (para cereais utilizou-se o valor de 5,83)

4.4 PREPARO DAS AMOSTRAS E MÉTODOS DE DECOMPOSIÇÃO

Amostras de amaranto, chia, linhaça e quinoa foram adquiridas em comércio local. As amostras foram secas em estufa a 60 °C por 10 h previamente à etapa de homogeneização. Para uma completa homogeneização, as amostras foram cominuídas em moedor criogênico utilizando um programa de 2 min de pré-congelamento e 2 min de moagem. Em seguida, foi avaliado o método de decomposição mais adequado para as amostras, onde diferentes sistemas foram investigados, os quais estão mostrados na Figura 4.

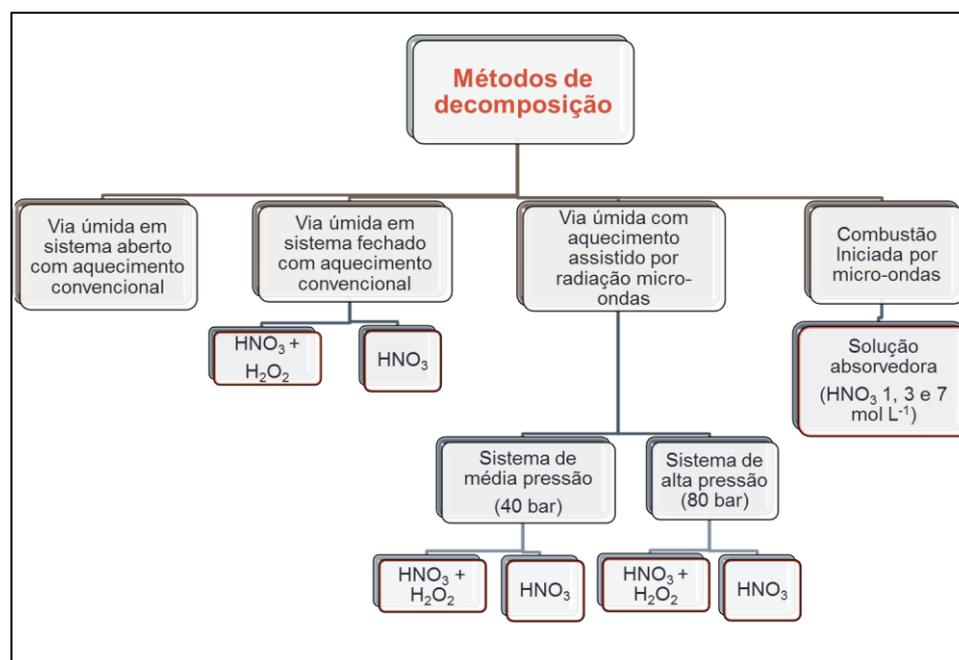


Figura 4. Métodos de decomposição avaliados

4.4.1 Decomposição por via úmida em sistema aberto com aquecimento convencional

Para a decomposição das amostras por via úmida em sistema aberto com aquecimento convencional, foram pesados, aproximadamente, 500 mg de cada amostra e colocados em frascos de decomposição de vidro borossilicato. Em seguida, foram adicionados 5 mL de HNO₃ concentrado. A mistura foi deixada em repouso por 30 min previamente à etapa de aquecimento para o HNO₃ reagir com a amostra de modo a evitar projeções durante a

decomposição. Para diminuir as perdas dos analitos por volatilização e a contaminação foram colocadas tampas de tubos tipo Falcon sobre os tubos de decomposição. O programa de aquecimento utilizado para a decomposição das amostras está mostrado na Tabela II.

Tabela II. Programa de aquecimento utilizado para a decomposição das amostras por via úmida em sistema aberto com aquecimento convencional

Temperatura (°C)	Tempo (min)
60	60
80	30
120	120

Após o término do programa de aquecimento e arrefecimento dos frascos, as soluções obtidas foram transferidas para frascos de polipropileno graduado e o volume foi aferido a 40 mL com água. A descontaminação dos frascos foi feita adicionando 5 mL de HNO₃ concentrado seguido de aquecimento a 130 °C por 90 min.

4.4.2 Decomposição por via úmida em sistema fechado com aquecimento convencional

Para a decomposição das amostras por via úmida em sistema fechado com aquecimento convencional, aproximadamente 300 mg de cada amostra foram pesadas e colocadas nos frascos de decomposição de PTFE. Em seguida, foram adicionados 5 mL de HNO₃ concentrado. A mistura foi deixada em repouso por 30 min previamente à etapa de aquecimento. Foram avaliados dois programas de temperatura para a decomposição das amostras a fim de avaliar o aumento da temperatura e rampa de aquecimento. O primeiro programa é o mesmo utilizado para a decomposição em sistema aberto (Tabela II) e o segundo é mostrado na Tabela III. Também foi avaliada a utilização de uma mistura de 5 mL de HNO₃ e 1 mL de H₂O₂, ambos concentrados, com o programa de aquecimento mostrado na Tabela III.

Tabela III. Programa de aquecimento para a decomposição por via úmida em sistema fechado com aquecimento convencional.

Temperatura (°C)	Tempo (min)
60	60
80	60
110	60
140	60

Após o término do programa de aquecimento e arrefecimento dos frascos, as soluções decompostas foram transferidas para frascos de polipropileno graduado e o volume foi aferido a 40 mL com água. Em seguida, os frascos foram lavados com água e descontaminados com 5 mL de HNO₃ a 140 °C por 90 min.

4.4.3 Decomposição por via úmida em sistema fechado assistida por radiação micro-ondas (MWAD)

Para a decomposição das amostras por via úmida em sistema fechado assistida por radiação micro-ondas em um sistema de média pressão (até 40 bar), aproximadamente 500 mg de cada amostra foram pesados e colocados nos frascos de TFM[®]PTFE (modelo DAP60) com capacidade máxima de 60 mL. Em seguida, foram adicionados 6 mL de HNO₃ concentrado e a mistura foi deixada em repouso por 30 min. Os frascos foram submetidos ao aquecimento por radiação micro-ondas seguindo o programa de aquecimento recomendado pelo fabricante do equipamento para decomposição de alimentos, mostrado na Tabela IV. A fim de avaliar o efeito do aumento da temperatura, a decomposição da amostra de quinoa (escolhida arbitrariamente) também foi feita utilizando uma temperatura maior (220 °C ao invés de 190 °C) na etapa 2. O mesmo programa de aquecimento também foi utilizado para a avaliação da decomposição com uma mistura de 6 mL de HNO₃ e 1 mL de H₂O₂.

Tabela IV. Programa de aquecimento para a decomposição por via úmida em sistema fechado assistido por micro-ondas (média pressão).

Etapa	Temperatura (°C)	Pressão (bar)	Rampa (min)	Tempo (min)	Potência (%)
1	160	30	10	5	80
2	190	30	5	10	90
3	50	25	1	10	0

Mesmo havendo uma etapa de resfriamento dos frascos, estes foram deixados em repouso à temperatura ambiente antes da abertura dos mesmos para evitar projeções devido à alta pressão no interior dos frascos. As soluções obtidas foram transferidas para frascos de polipropileno graduados e o volume foi aferido a 40 mL com água. Em seguida, os frascos foram lavados com água e submetidos à descontaminação, utilizando-se 5 mL de HNO₃. O programa de aquecimento recomendado pelo fabricante do equipamento para a limpeza dos frascos é mostrado na Tabela V.

Tabela V. Programa de aquecimento para a descontaminação dos frascos utilizados.

Etapa	Temperatura (°C)	Pressão (bar)	Rampa (min)	Tempo (min)	Potência (%)
1	170	30	5	5	80
2	210	30	5	5	80
3	50	25	10	5	0

A decomposição das amostras por via úmida assistida por radiação micro-ondas também foi realizada em um forno de micro-ondas de alta pressão (modelo Multiwave PRO, Anton Paar), a fim de avaliar diferentes sistemas assistidos por radiação micro-ondas. Aproximadamente 500 mg de cada amostra foram pesados e transferidos para os frascos de quartzo e adicionados 6 mL de HNO₃. Posteriormente, os frascos foram fechados e submetidos ao programa de aquecimento identificado como “cereais” recomendado pelo fabricante, (Tabela VI). A decomposição da amostra de quinoa (escolhida arbitrariamente) foi feita segundo o programa de aquecimento mostrado na Tabela VI utilizando uma mistura de 6 mL de HNO₃ e 1 mL de H₂O₂.

Tabela VI. Programa de aquecimento para a decomposição por via úmida em sistema fechado assistido por micro-ondas (sistema de alta pressão)

Etapa	Potência (W)	Tempo de rampa (min)	Tempo de permanência (min)	Exaustão
1	900	15	15	Fan 1
2	0		20	Fan 2*

Taxa de aumento da pressão $0,8 \text{ bar s}^{-1}$, temperatura máxima $280 \text{ }^\circ\text{C}$ e pressão máxima 80 bar,

* etapa de resfriamento

4.3.4. Decomposição por combustão iniciada por micro-ondas (MIC)

Para a decomposição por combustão iniciada por micro-ondas, as amostras em forma de comprimidos foram colocadas em um papel filtro posicionado na base do suporte de quartzo (Figura 5). Foram adicionados $50 \mu\text{L}$ da solução de NH_4NO_3 6 mol L^{-1} diretamente no papel filtro, conforme já estabelecido.^{69,81,82} Posteriormente, foram adicionados 6 mL da solução absorvedora no frasco de quartzo e o suporte foi colocado no interior do frasco com auxílio de uma haste. O sistema foi fechado, os frascos foram fixados no rotor e colocados no interior da cavidade do forno com a capa protetora do rotor. Em seguida, os frascos foram pressurizados com oxigênio com auxílio de uma ponteira de PTFE (pressão de 20 bar por 1 min). O programa de aquecimento do forno de micro-ondas está mostrado na Tabela VII.



Figura 5. Amostra de quinoa em forma de comprimido, posicionada na base do suporte de quartzo utilizado.

Tabela VII. Programa de aquecimento utilizado para a decomposição das amostras por MIC.

Etapa	Potência (W)	Tempo de rampa (min)	Tempo de permanência (min)	Exaustão
1	1400	-	5	Fan 1
2	0		20	Fan 2*

Taxa de aumento da pressão $0,8 \text{ bar s}^{-1}$, temperatura máxima $280 \text{ }^\circ\text{C}$ e pressão máxima 80 bar,

* etapa de resfriamento

Após o final do programa e resfriamento dos frascos, o rotor foi retirado da cavidade do forno e a pressão interna dos frascos foi eliminada pela abertura da válvula de escape dos gases. Os frascos foram retirados do rotor e agitados manualmente para que ocorresse a lavagem do suporte e das paredes do frasco.

A amostra de quinoa foi utilizada para a otimização da solução absorvedora para decomposição por MIC. Foi avaliado o uso de HNO_3 1, 3 e 7 mol L^{-1} . As soluções obtidas após decomposição foram quantificadas e os resultados foram comparados com os obtidos após decomposição com HNO_3 14 mol L^{-1} por MWAD.

4.5 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE CARBONO RESIDUAL

A determinação do teor de carbono residual nas amostras foi feita em um analisador de teor de carbono total e orgânico. A curva de calibração foi feita utilizando-se soluções de carbono de 5 a $250 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, preparadas a partir de biftalato de potássio P.A. (Merck). A quantidade de amostra injetada no forno foi de $500 \text{ } \mu\text{L}$, a temperatura do forno e a vazão de oxigênio foram ajustadas em $800 \text{ }^\circ\text{C}$ e 150 mL min^{-1} , respectivamente.

4.6 DETERMINAÇÃO DE CÁDMIO E CHUMBO POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM FORNO DE GRAFITE

Para a calibração do equipamento foram preparadas soluções na faixa de $0,1$ a $10 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ para o Cd e 1 a $100 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ para o Pb em HNO_3 5%, a partir de soluções estoque com concentração de 1000 mg L^{-1} . O volume de amostra introduzido no tubo de grafite através do auto-amostrador foi $20 \text{ } \mu\text{L}$ e o volume dos modificadores químicos foi $3 \text{ } \mu\text{L}$ de $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$

0,1% e 5 μL de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ 0,1%, conforme recomendações do fabricante do equipamento⁷⁶. Argônio com pureza de 99,996% (White Martins/Praxair) foi utilizado como gás de purga. Os parâmetros instrumentais utilizados para a determinação de Cd e Pb estão mostrados na Tabela VIII.

Tabela VIII. Parâmetros instrumentais utilizados para a determinação de Cd e Pb.

Parâmetros	Elemento	
	Cd	Pb
Lâmpada	HCL	HCL
Comprimento de onda (nm)	228,80	283,31
Corrente da lâmpada HCL (mA)	3	10
Fenda espectral (nm)	0,7	0,7
Medição do sinal (abs s^{-1})	área	área
Tempo de integração (s)	5	5

Para verificar as melhores condições de determinação de Cd e Pb, as temperaturas de pirólise e atomização foram avaliadas para cada elemento e amostra. A absorvância integrada e a precisão foram os parâmetros avaliados para se estabelecer o programa de temperatura mais adequado.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS

Inicialmente, foi feita a seleção das amostras de cereais, onde procurou-se escolher cereais que possuíssem um consumo crescente e elevado valor nutricional. As amostras foram adquiridas em diferentes estabelecimentos comerciais da cidade de Porto Alegre a fim de avaliar a contaminação das mesmas com Cd e Pb devido a armazenagem, transporte ou cultivo. No entanto, não foi possível encontrar informações sobre os locais de cultivo e transporte. Após, as amostras foram secas em estufa a 60 °C e posteriormente, cominuídas em moedor criogênico. Adicionalmente, para fins de caracterização, foi feita a determinação de lipídios e proteínas.

A determinação de lipídeos foi feita pelo método de Soxhlet, um método gravimétrico, baseado na perda de peso do material submetido à extração com éter etílico. A determinação de proteínas foi realizada pelo método de Kjeldahl, no qual avaliou-se o teor de nitrogênio total de origem orgânica. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela IX.

Tabela IX. Caracterização das amostras.

Amostra	Lipídeos (%)	Proteínas (%)
Amaranto A	6,42 ± 0,16	13,0 ± 0,1
Amaranto B	7,14 ± 0,05	13,6 ± 0,1
Chia A	33,4 ± 0,1	17,3 ± 0,4
Chia B	33,7 ± 0,2	20,0 ± 0,3
Linhaça A	38,1 ± 0,6	19,3 ± 0,1
Linhaça B	39,6 ± 0,3	20,0 ± 0,1
Quinoa A	6,19 ± 0,1	12,0 ± 0,1
Quinoa B	5,43 ± 0,02	14,0 ± 0,1

Como pode ser observado na Tabela IX, quando comparados os mesmos tipos de amostras, porém adquiridas em estabelecimentos comerciais diferentes, tanto as quantidades de lipídeos quanto as de proteínas não apresentaram diferenças significativas.

5.2 MÉTODOS DE DECOMPOSIÇÃO DAS AMOSTRAS

Após a etapa de caracterização das amostras, foi feita a otimização dos métodos de decomposição de amostras, onde foram avaliados os métodos de decomposição por via úmida em sistema aberto e fechado com aquecimento convencional, via úmida em sistema fechado assistido por radiação micro-ondas (sistemas de média e alta pressão) e combustão iniciada por micro-ondas. Cabe destacar que, para a avaliação da eficiência dos métodos de decomposição avaliados, foi escolhida a amostra de quinoa A, tendo em vista que em estudos prévios, foi verificado que as soluções resultantes obtidas após a decomposição desta amostra apresentam interferência na determinação dos analitos por GF AAS. Desta forma, todos os ensaios subsequentes que serão relatados para a amostra de quinoa, são referentes a utilização da amostra de quinoa A. No entanto, todos os métodos de preparo de amostras foram aplicados para todos os cereais selecionados, apresentando comportamento similar.

Inicialmente, a avaliação da eficiência das decomposições foi feita visualmente, pois convencionalmente, quando se obtém uma solução clara, assume-se que a oxidação da matéria orgânica foi completa.³⁵ Na Figura 6 pode ser observada, através da coloração, a diferença de coloração da solução final obtida por cada método de decomposição investigado para a amostra de quinoa.

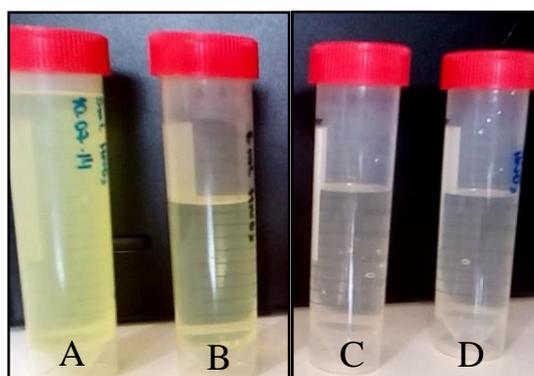


Figura 6. Soluções digeridas pelos quatro métodos de decomposição de amostras, onde (A) decomposição por via úmida em sistema aberto com aquecimento convencional, (B) CVWD, (C) MWAD (alta pressão) e (D) MIC.

Nesta figura são mostradas imagens das soluções obtidas após a decomposição da amostra de quinoa, porém, um comportamento similar para os quatro métodos de

decomposição foi observado para as outras amostras. A amostra decomposta em sistema aberto com aquecimento convencional (Figura 6A) apresenta coloração amarelo intenso podendo ser um indicativo de uma baixa eficiência da decomposição e existência de matéria orgânica não decomposta. Além disso, ao final da decomposição foi observado a presença de sólidos remanescentes, que pode ser relacionado com os lipídeos ou até mesmo a celulose presentes nos cereais, que necessitam de temperaturas mais altas para a completa decomposição. Atayese e colaboradores⁴¹ observaram que amostras de amarantho não foram totalmente decompostas pelo método de decomposição por via úmida em sistema aberto com aquecimento convencional, mesmo utilizando uma mistura de ácidos (5 mL H₂SO₄ concentrado + 25 mL de HNO₃ concentrado + 5 mL de HCl concentrado) e aquecimento por 1 h. Após arrefecimento dos frascos e aferição com água destilada, a solução foi filtrada e a solução obtida foi deixada em repouso por 15 h e o sobrenadante foi analisado por espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS)⁴¹. Em um outro trabalho¹, a decomposição por MWAD (200 °C por 45 min) de 200 mg de linhaça também não foi completa quando utilizados uma mistura de 2 mL H₂O₂ 30% (v/v) e 5 mL de HNO₃ concentrado. A solução decomposta apresentou sólidos remanescentes e foi filtrada para posterior análise por ICP OES¹. Desta forma, é possível perceber que os cereais são matrizes complexas e é necessário utilizar métodos de decomposição mais drásticos de forma a obter a decomposição completa da amostra.

Diante da ineficiência da decomposição mediante aquecimento convencional em frasco aberto (indicada pela presença de resíduos sólidos na solução resultante), este método de preparo de amostras não foi mais avaliado. Como pode ser observado na Tabela II, a decomposição por via úmida em sistema aberto com aquecimento convencional é bastante demorada, pois além do tempo de decomposição, deve ser considerado ainda, o tempo em que o sistema de aquecimento do bloco digestor leva para atingir a temperatura desejada em cada etapa. Sendo assim este método mostrou-se moroso e ineficiente para todas as amostras utilizadas neste trabalho.

A amostra decomposta em sistema fechado com aquecimento convencional (Figura 4B) também apresentou uma cor amarelada, indicativo de que ainda existe matéria orgânica na solução; porém, não continha sólidos remanescentes. Isso deve-se ao fato de que em sistemas fechados a maior pressão no interior dos frascos eleva o ponto de ebulição do ácido e a decomposição se dá em temperaturas mais altas, facilitando a decomposição de matrizes mais complexas. Tanto no sistema aberto quanto no sistema fechado em bloco digestor, o

aquecimento é condutivo, ou seja, o calor proveniente da fonte é conduzido às paredes externas do frasco e, do frasco, este aquecimento chega à solução. Além disso, a decomposição da amostra não é homogênea, pois o calor é distribuído por correntes convectivas, ou seja, a solução mais próxima das paredes do frasco aquecem primeiro. Portanto, os métodos de decomposição com aquecimentos convencionais (condutivos) foram demorados e demandaram em torno de 12 a 24 h, considerando-se a etapa de resfriamento. Em relação ao tempo de decomposição, a MWAD demandou, aproximadamente, 40 min, considerando-se a etapa de arrefecimento. Isso ocorre porque o aquecimento é localizado, ou seja, a radiação micro-ondas atravessa as paredes do frasco (que é transparente às micro-ondas) e atinge diretamente a solução, conseqüentemente, o tempo necessário para que o sistema atinja as temperaturas desejadas é muito menor que o tempo necessário em um sistema com aquecimento convencional.

Com o objetivo de aumentar a eficiência da decomposição do método por CVWD, o procedimento de decomposição foi refeito utilizando uma mistura de HNO₃ (5 mL) e H₂O₂ (1 mL) ao invés do uso de somente HNO₃ (6 mL). Este estudo foi feito tendo em vista que na literatura é reportado o uso deste reagente como auxiliar na decomposição da matéria orgânica, apresentando vantagens, por ser um agente oxidante disponível em alto grau de pureza e a água ser o único produto de decomposição⁴⁵. Após a decomposição da amostra por CVWD foi verificado que o aspecto da solução obtida com o uso de H₂O₂ foi similar à solução obtida pelo mesmo método de decomposição utilizando somente HNO₃.

Tanto a solução da amostra decomposta por MWAD (Figura 4C), quanto a decomposta por MIC (Figura 6D, solução absorvedora HNO₃ 7 mol L⁻¹), mostraram-se transparentes e límpidas, o que pode ser um indicativo de que toda matéria orgânica foi decomposta. Porém esta afirmação só pode ser confirmada com a determinação do teor de carbono residual nos digeridos. Adicionalmente, o método de MWAD também foi investigado com o uso de uma mistura de HNO₃ (6 mL) e H₂O₂ (1 mL) ao invés do uso de somente HNO₃ (6 mL) com o objetivo de aumentar a eficiência de decomposição.

A MIC mostrou-se o método de decomposição mais rápido entre os métodos estudados neste trabalho, demandando um tempo de 25 min, considerando a etapa de arrefecimento dos frascos. Além disso, devido às altas temperaturas atingidas durante a combustão, com esse método, geralmente, amostras de difícil decomposição são completamente decompostas e é possível o uso de soluções diluídas para a absorção dos

analitos, minimizando os resíduos gerados e estando de acordo com os princípios da química verde.

5.2.1 Combustão iniciada por micro-ondas

Conforme descrito anteriormente, com o intuito de obter-se amostras completamente decompostas, a MIC foi avaliada. Primeiramente, diferentes concentrações de HNO_3 (1, 3 e 7 mol L^{-1}) foram avaliadas como solução absorvedora para a amostra de quinoa (utilizando comprimidos de aproximadamente 500 mg). O ácido nítrico concentrado (14 mol L^{-1}) não foi avaliado como solução absorvedora por MIC, tendo em vista que o objetivo principal em utilizar o método de MIC neste trabalho, foi a possibilidade de utilizar soluções diluídas para retenção dos analitos, de forma a diminuir o teor de acidez das soluções resultantes. Além disso, já havia sido reportado em trabalhos anteriores utilizando a MIC para decomposição de matrizes similares (castanhas)⁶⁶, que o uso de uma solução de HNO_3 7 mol L^{-1} havia sido adequado para retenção de As, Cd, Pb e Hg. Desta forma, com base nestes trabalhos anteriores, optou-se por avaliar apenas soluções diluídas como solução absorvedora. A determinação dos analitos foi feita por ICP OES e os resultados estão apresentados na Tabela X.

Tabela X. Concentração de Cd e Pb em quinoa após decomposição por MIC e MWAD e determinação por ICP OES.

Elemento, $\mu\text{g g}^{-1}$	Concentração da solução absorvedora (HNO_3 , mol L^{-1})			
	1	3	7	14 ^a
Cd	<0,05	<0,05	0,10	0,12
Pb	0,07	0,09	0,35	0,40

a) Decomposição por MWAD (sistema de alta pressão); LQ = 0,05

Os valores encontrados para a concentração de Cd e Pb quando utilizadas soluções absorvedoras de 1 e 3 mol L^{-1} foram inferiores aos limites de quantificação do método. Além disso, não houve diferenças significativas entre a solução absorvedora 7 mol L^{-1} e HNO_3 14 mol L^{-1} , utilizado na decomposição por MWAD. Sendo assim, a avaliação da solução absorvedora foi feita com a determinação de Cd e Pb por GF AAS em material de referência certificado (NIST 1547 – *Peach Leaves*) utilizando 500 mg do CRM e HNO_3 3 e 7 mol L^{-1} como solução absorvedora. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela XI.

Tabela XI. Concentração de Cd e Pb, $\mu\text{g g}^{-1}$, em CRM (NIST 1547) após decomposição por MIC com diferentes concentrações de solução absorvedora e determinação por GF AAS, $n = 2$.

Elemento	Valor certificado ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Valor encontrado ($\mu\text{g g}^{-1}$)	
		HNO_3 7 mol L^{-1}	HNO_3 3 mol L^{-1}
Cd	$0,026 \pm 0,003$	$< 0,087$	$< 0,087$
Pb	$0,87 \pm 0,03$	$0,80 \pm 0,05$	$0,40 \pm 0,01$

O valor obtido para Pb apresentou concordância de 92% com o valor certificado, utilizando HNO_3 7 mol L^{-1} como solução absorvedora. Já utilizando HNO_3 3 mol L^{-1} a concordância com o valor certificado foi de 46%. Esses resultados estão concordantes com trabalhos relatados na literatura, onde concordâncias de 96% de Pb foram obtidas quando utilizada solução absorvedora HNO_3 7 mol L^{-1} , após decomposição de amostras de castanhas por MIC⁶⁶ e 98% de concordância de Pb foram obtidas quando utilizada solução absorvedora HNO_3 7 mol L^{-1} , após decomposição de amostras de carvão por MIC.⁷⁷ Sendo assim, a solução absorvedora escolhida para a decomposição por MIC foi HNO_3 7 mol L^{-1} . Para avaliação da exatidão da MIC, também foi feito um ensaio de recuperação para Pb utilizando a solução de HNO_3 7 mol L^{-1} como solução absorvedora. Assim, foi feita a adição de uma quantidade conhecida de uma solução de referência de Pb na amostra de quinoa sólida previamente à etapa de decomposição por MIC. A determinação de Pb foi feita por GF AAS e a recuperação foi de 109%. Desta forma, a solução de HNO_3 7 mol L^{-1} foi escolhida como solução absorvedora para ensaios subsequentes.

Após otimização da solução absorvedora, foi feita a decomposição das outras amostras de cereais por MIC (amaranto, chia e linhaça) utilizando a solução absorvedora previamente escolhida.

5.2.2 Determinação de Carbono Residual

Para avaliar a eficiência de decomposição dos métodos investigados foi feita a determinação do RCC nas amostras obtidas após a decomposição de quinoa por MIC, MWAD de alta e média pressão com HNO_3 (2) e com uma mistura 6:1 de $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$ (1) e por CVWD com HNO_3 (2) e com uma mistura 6:1 de $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$ (1). Os resultados de

RCC obtidos nas soluções após cada procedimento de decomposição estão apresentados na Figura 7.

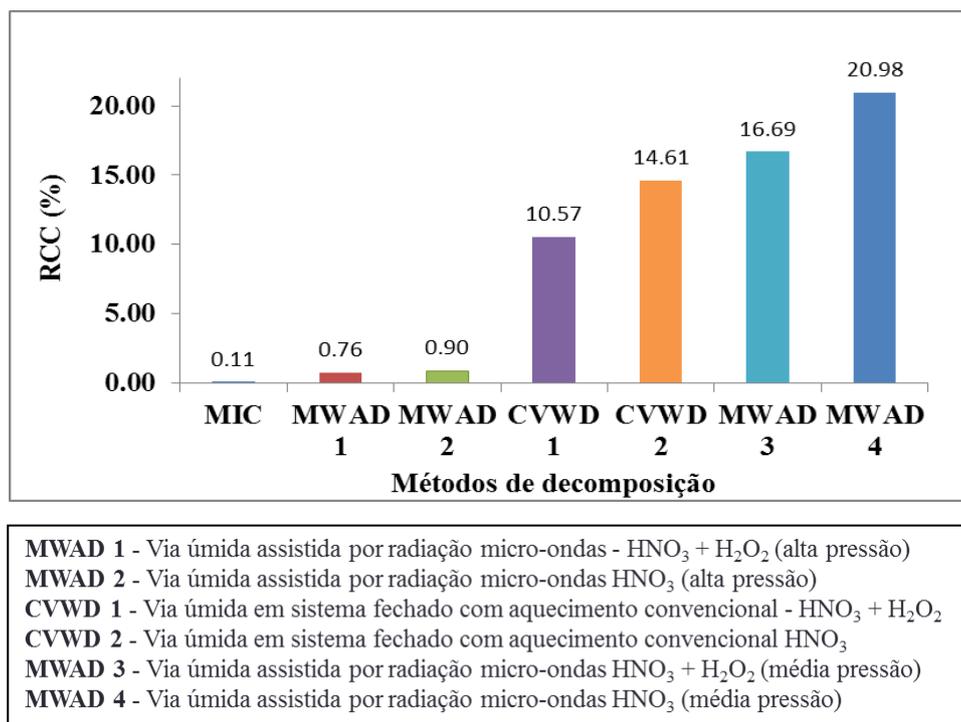


Figura 7. Teores de carbono residual, em %, para a amostras de quinoa após diferentes métodos de decomposição.

O teor de carbono residual obtido para a decomposição por MIC foi inferior a todos os valores obtidos pelos outros métodos de decomposição. O valor obtido para MIC foi de 0,11%, enquanto que para MWAD com sistema de alta pressão foi de 0,75% e 0,90%, quando utilizados uma mistura de HNO₃ + H₂O₂ e somente HNO₃, respectivamente. Cabe ressaltar que, mesmo os valores obtidos no sistema de alta pressão (MWAD) mostrarem-se bastante baixos, não foi suficiente para diminuir as interferências causadas pela matriz, conforme será mostrado posteriormente. É possível observar também a influência dos reagentes na eficiência da decomposição, onde os valores de RCC obtidos quando utilizada a mistura HNO₃ + H₂O₂ foram menores do que quando utilizado somente HNO₃ em um mesmo sistema de decomposição. Os valores de RCC para o sistema de média pressão foram de 16,7% e 21% quando utilizados uma mistura de HNO₃ + H₂O₂ e somente HNO₃, respectivamente. Desta forma, conforme já esperado, a temperatura máxima atingida na decomposição (em função do sistema de decomposição utilizado, média ou alta pressão) influencia de forma significativa na eficiência da decomposição. A temperatura máxima atingida durante a decomposição da amostra de quinoa por MWAD utilizando o sistema de alta pressão foi de 217 °C, enquanto

que utilizando o sistema de média pressão, a temperatura máxima atingida foi de 145 °C, o que evidencia os menores valores de RCC obtidos após a decomposição por MWAD em sistema de alta pressão.

5.3 DETERMINAÇÃO DE CÁDMIO E CHUMBO POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA COM FORNO DE GRAFITE

Previamente à etapa de determinação de cádmio e chumbo por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite, alguns parâmetros foram considerados e serão descritos e discutidos a seguir.

Conforme recomendações do fabricante, a concentração máxima de ácido nas soluções introduzidas no equipamento de GF AAS deve ser no máximo 2% v/v, a fim de preservar a vida útil do tubo de grafite. Devido à concentração de ácido presente nas soluções obtidas por CVWD e MWAD ser superior a 2% (aproximadamente 12%), as soluções das amostras utilizadas foram diluídas previamente à etapa de determinação. O cálculo das diluições foi baseado na quantidade de HNO₃ utilizado nas decomposições e na aferição feita com água após a etapa de decomposição, onde seria necessário efetuar uma diluição de, pelo menos, 15 vezes. Desta forma, todos os ensaios descritos a seguir para observação da ocorrência de interferências foram feitos com a solução obtida após a decomposição da amostra de quinoa por via úmida assistida por radiação micro-ondas seguida de uma diluição de 15 vezes (essa solução foi identificada no texto como QMW15).

5.3.1 Estudo do modificador químico

Inicialmente, os modificadores químicos, Mg(NO₃)₂ e Pd (NO₃)₂, foram escolhidos. Segundo o fabricante, também existe a possibilidade de se usar uma mistura de 50 µg de NH₄H₂PO₄ e 3 µg de Mg(NO₃)₂ tanto para a determinação de Cd quanto para Pb. Para fins de comparação, essa mistura de modificadores foi utilizada e foram feitas medidas com as soluções padrões de Cd e Pb nas temperaturas de pirólise e atomização otimizadas e não foram observadas diferenças significativas (teste t-student, 95% de confiança) entre os valores das absorbâncias.

Durante a execução de alguns ensaios preliminares, foi observada a ocorrência de interferências na etapa de determinação do Pb na solução obtida após a decomposição da amostra de quinoa por via úmida (independente do sistema de aquecimento utilizado) quando 3 µg de Mg(NO₃)₂ e 5 µg de Pd (NO₃)₂ foram utilizados como modificadores químicos. Foi feita uma pesquisa na literatura em busca de alternativas de modificadores químicos com o intuito de evitar ou minimizar o efeito de matriz observado no trabalho. Dessuy e colaboradores⁷⁸ dobraram a concentração dos modificadores químicos (6 µg de Mg(NO₃)₂ e 10 µg de Pd (NO₃)₂ para evitar o efeito de matriz na determinação de Pb em amostras de vinho. Similarmente, Mattos⁷⁹ avaliou o uso de concentrações maiores de Pd para minimizar o sinal de fundo na determinação de Pb em suplementos alimentares a base de cálcio.⁷⁹ Em ambos os trabalhos, maiores concentrações de modificadores químicos não contornaram os problemas observados. Diante disso, foi feita uma comparação do sinal do analito na amostra QMW15 (com adição de 50 µg L⁻¹ de Pb) com a adição de 3 e 5 µg de Mg(NO₃)₂ e Pd (NO₃)₂, respectivamente. Mas, após dobrar a concentração dos modificadores químicos, não foram observadas diferenças significativas (teste t-student, 95% de confiança) entre os valores das absorvâncias obtidos, que está de acordo com alguns trabalhos na literatura.^{78,79}

5.3.2 Otimização da temperatura de pirólise e atomização para a determinação de cádmio

O estudo das temperaturas de pirólise e atomização de Cd foi feito utilizando a solução QMW15. À solução da amostra decomposta, foi feita a adição de uma alíquota de solução estoque de forma a se obter uma solução final com concentração de 2 µg L⁻¹ de Cd. Os modificadores químicos Pd(NO₃)₂ 0,1 % e Mg(NO₃)₂ 0,1% foram utilizados, conforme recomendação do fabricante, em quantidades de 5 e 3 µL (5 e 3 µg), respectivamente, conforme já citado anteriormente.

A curva de pirólise mostrada na Figura 8 foi feita variando-se a temperatura de pirólise de 300 a 700 °C e fixando a temperatura de atomização em 1500 °C. A curva de atomização foi construída variando-se a temperatura de atomização de 1300 a 1700 °C e fixando uma temperatura de pirólise em 600 °C, escolhida no estudo da curva de pirólise.

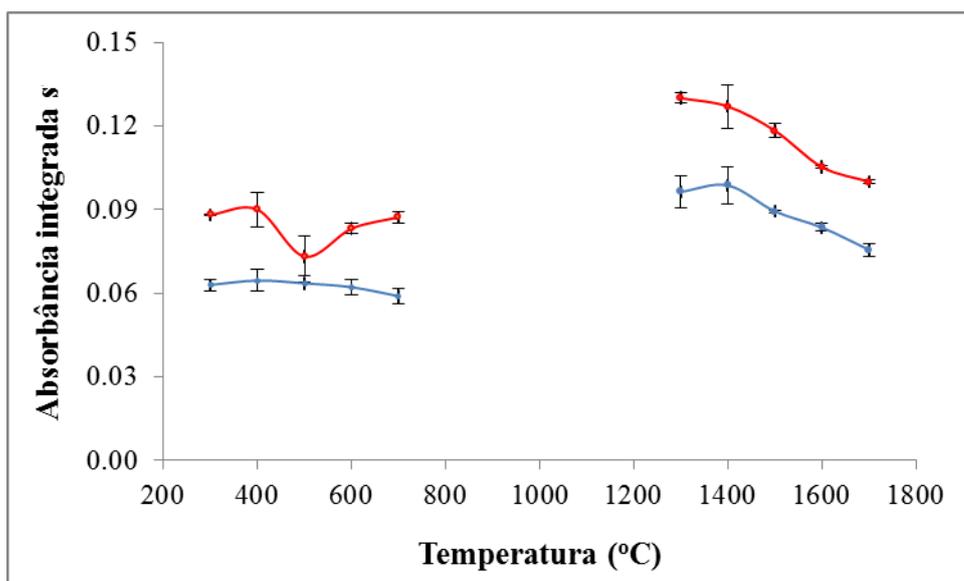


Figura 8. Curvas de temperatura de pirólise atomização para o Cd: - solução padrão de Cd $2 \mu\text{g L}^{-1}$; - amostra QMW15 + $2 \mu\text{g L}^{-1}$ de Cd.

Como pode ser observado na Figura 8, a partir de $400 \text{ }^\circ\text{C}$, ocorre um pequeno decréscimo no sinal de absorção do Cd na amostra, indicando que pode ter ocorrido perdas do analito. Esse decréscimo também é observado para o sinal de absorção do Cd na ausência da amostra. No entanto, entre 400 e $600 \text{ }^\circ\text{C}$ não há diferenças significativas entre os valores das absorbâncias (ANOVA, 95% de confiança) da amostra. Sendo assim, a temperatura de $600 \text{ }^\circ\text{C}$ foi escolhida para a etapa de pirólise. Além disso, nessa temperatura o desvio padrão foi relativamente mais baixo.

À temperatura de atomização de $1300 \text{ }^\circ\text{C}$ foi observado o maior sinal de absorbância e o menor desvio padrão para a amostra QMW15 e, por isso, essa temperatura foi escolhida para a etapa de atomização. Na Figura 6 é possível observar uma pequena diferença nos valores da absorbância do Cd na amostra QMW15 e na solução de referência. A fim de avaliar se estava ocorrendo supressão do sinal do analito pela matriz da amostra, foi feita uma comparação dos sinais transientes e dos valores de absorbância do Cd na amostra QMW15 e na solução de referência na concentração de $2 \mu\text{g L}^{-1}$. Não houve diferença significativa (teste t-student, 95% de confiança) entre os valores de absorbância da solução de referência e da amostra. Desta forma, concluiu-se que não ocorreu supressão do analito (Cd) pela matriz da amostra QMW15.

5.3.3 Otimização da temperatura de pirólise e atomização para a determinação de chumbo

A avaliação das temperaturas de pirólise e atomização para o chumbo foi feita com a mesma amostra utilizada anteriormente no estudo das temperaturas de pirólise e atomização para o cádmio. A amostra foi diluída 15 vezes e foi feita a adição de Pb a esta solução de forma a obter-se $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb. Assim como foi feito para o Cd, foram utilizados $5 \mu\text{L}$ de $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ 0,1% e $3 \mu\text{L}$ de $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ 0,1% como modificador químico.

A temperatura de pirólise recomendada para Pb pelo fabricante do instrumento de GF AAS é de 850°C . Sendo assim, a curva de pirólise foi construída variando-se a temperatura de 600 a 1300°C e fixando a temperatura de atomização em 1600°C . Escolhida a temperatura de pirólise adequada, esta foi fixada e o estudo da temperatura de atomização foi feito variando-se esta temperatura de 1500 a 2000°C . As curvas de pirólise e atomização para a amostra QMW15 e solução padrão de Pb são mostradas na Figura 9.

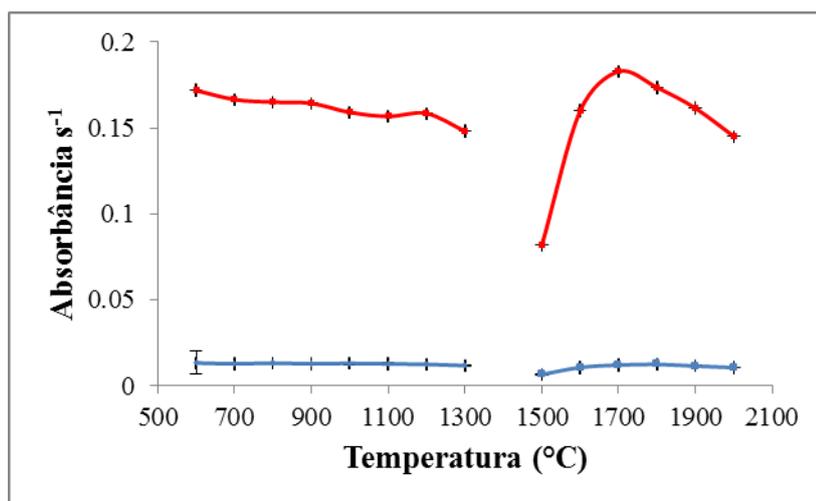


Figura 9. Curvas de pirólise e atomização para o Pb: - solução padrão de Pb $50 \mu\text{g L}^{-1}$; - amostra QMW15 + $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb.

Como pode ser observado na Figura 9, para todas as temperaturas de pirólise obtidas para a amostra, não houve diferenças significativas nos valores de absorbância e, com isso, a maior temperatura, 1300°C , foi escolhida. Conforme observado na Figura 9, a partir de 1800°C começa a ocorrer a perda do analito, o que pode ser observado pelo decréscimo do sinal de absorbância. Assim, a temperatura de 1800°C foi escolhida a fim de garantir uma completa atomização do analito.

Comparando-se as intensidades dos sinais obtidos variando as temperaturas de pirólise e atomização para a amostra QMW15 e para a solução de Pb na ausência de amostra, é possível notar uma supressão do sinal do analito, que pode ser atribuído à interferências de matriz. Da mesma forma como foi feito para o Cd, a fim de avaliar possíveis interferências, foi feita uma comparação dos valores de absorvância da amostra QMW15, e da solução padrão de Pb $50 \mu\text{g L}^{-1}$, já que os valores de absorvância para a amostra foram muito menores que os valores obtidos para o padrão de Pb. Diferenças significativas (teste t-student, 95% de confiança) foram encontradas, o que indica uma interferência causada pela matriz da amostra sobre o sinal do analito.

O estudo das curvas de pirólise e atomização também foi feito para as amostras de amaranto, chia e linhaça, diluídas 15 vezes. As curvas obtidas são mostradas na Figura 10.

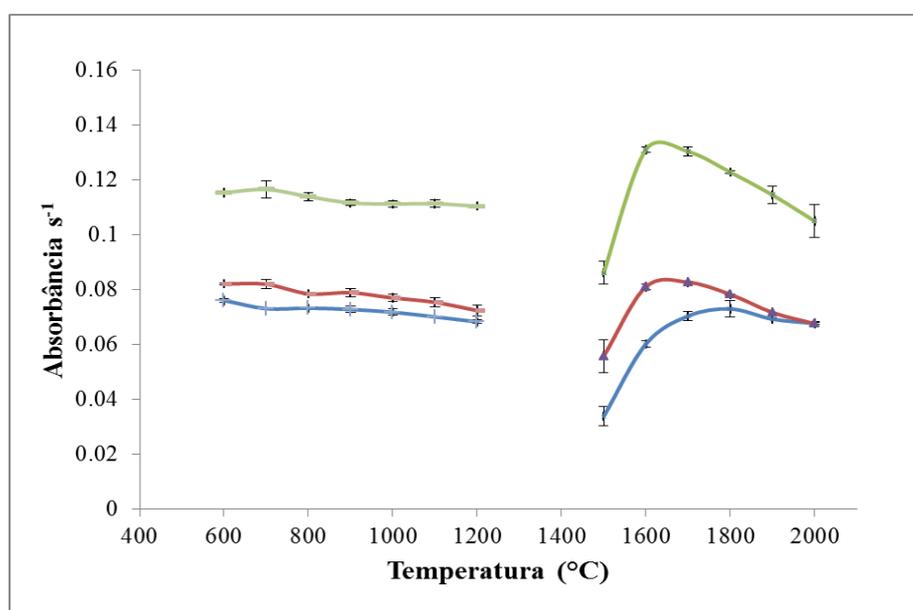


Figura 10. Curvas de pirólise e atomização para o Pb: - amaranto; - chia; - linhaça.

É possível observar na Figura 10 que as curvas de pirólise e atomização das amostras de amaranto, chia e linhaça possuem um comportamento similar entre si e quando comparadas às mesmas curvas da amostra de quinoa. Com isso, as temperaturas de pirólise e atomização foram mantidas em 1300 e 1800 °C, respectivamente, e essas condições do programa de temperatura foram utilizadas para a determinação de Pb em todas as amostras de cereais estudadas.

5.3.3 Avaliação das interferências causadas pela matriz das amostras na determinação de Pb

Diante das interferências observadas na determinação de Pb, foi feito um estudo dessas interferências através de diferentes diluições a fim de verificar o efeito da matriz da amostra na recuperação do sinal do analito. Esse estudo foi feito para todas as amostras decompostas por CVWD e MWAD. As Figuras 11 e 12 mostram os perfis dos sinais obtidos para a solução padrão de Pb $50 \mu\text{g L}^{-1}$ e para as soluções das amostras de amarantho decompostas por CVWD e MWAD, respectivamente, ambas utilizando HNO_3 como reagente.

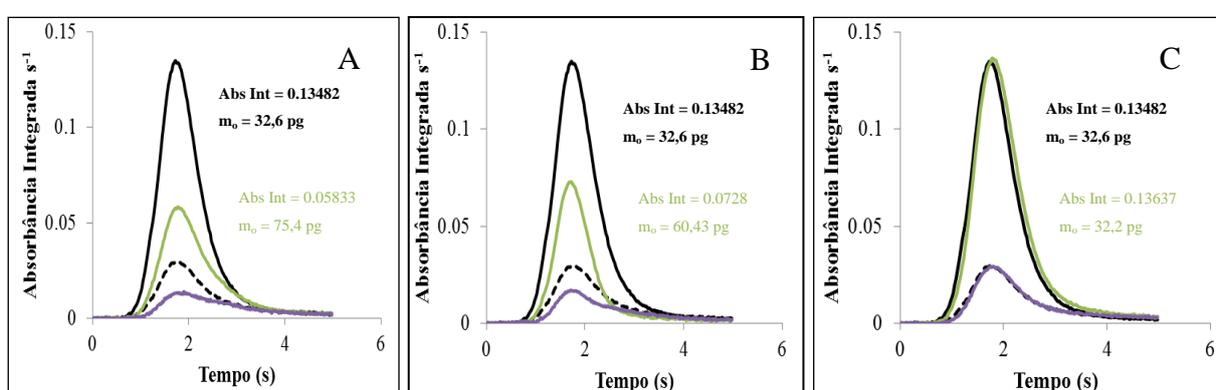


Figura 11. Perfis dos sinais de Pb para (-) solução padrão de Pb $50 \mu\text{g L}^{-1}$; (--) sinal de fundo da solução padrão; (-) amarantho (CVWD) $+50 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb; (--) sinal de fundo para amarantho (CVWD) $+ 50 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb. A: solução da amostra diluída 15 vezes; B: 30 vezes e C: 50 vezes.

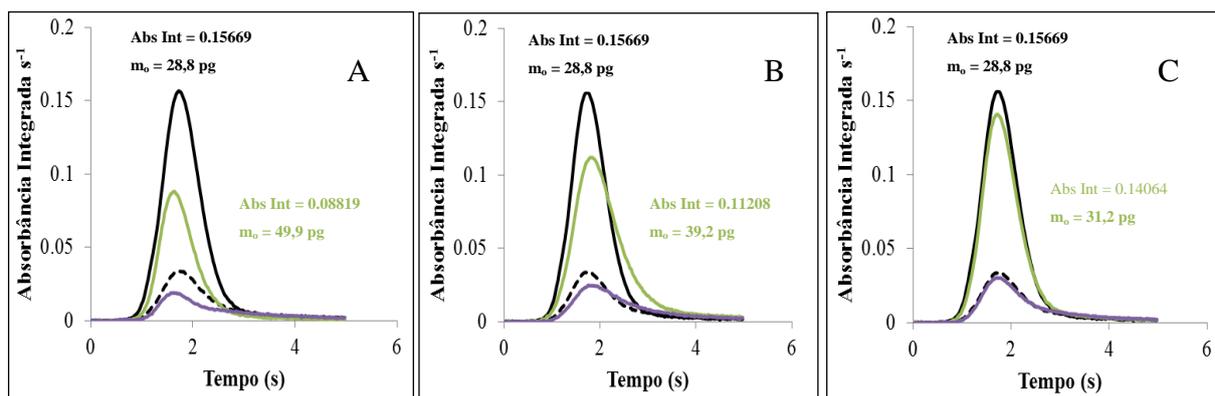


Figura 12. Perfis dos sinais de Pb para (-) solução padrão de Pb $50 \mu\text{g L}^{-1}$; (--) sinal de fundo da solução padrão; (-) amarantho (MWAD) $+50 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb; (--) sinal de fundo para amarantho (MWAD) $+ 50 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb. A: solução da amostra diluída 15 vezes; B: 30 vezes e C: 50 vezes.

É possível observar através das Figuras 11 e 12 a supressão do sinal do analito quando a amostra é diluída 15 e 30 vezes. Para os dois métodos de decomposição, a recuperação do analito só foi possível quando utilizada uma diluição de, no mínimo, 50 vezes, indicando uma interferência causada pela matriz da amostra. As Figuras 13 e 14 apresentam os perfis dos sinais transientes e os respectivos valores de absorvância para a solução padrão de Pb $50 \mu\text{g L}^{-1}$ e para as soluções das amostras de linhaça decompostas por CVWD e MWAD, respectivamente.

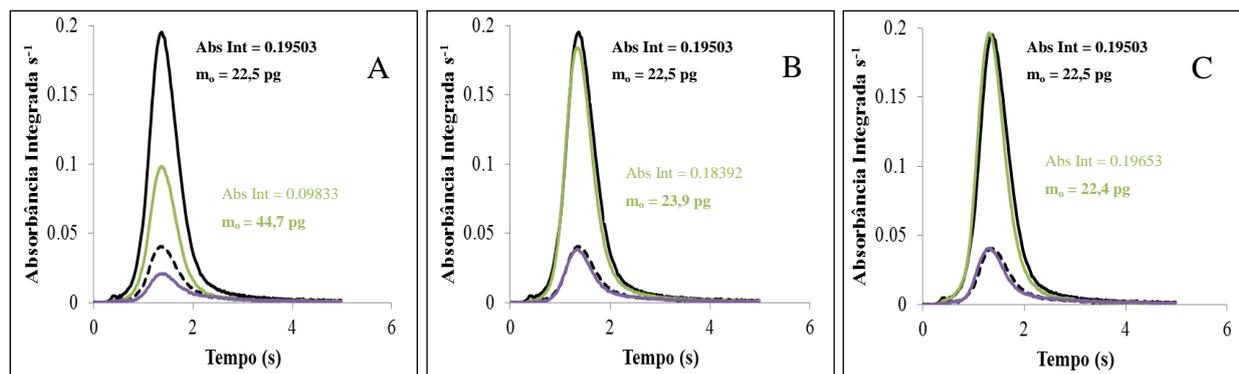


Figura 13. Perfis dos sinais de Pb para (-) solução padrão de Pb $50 \mu\text{g L}^{-1}$; (--) sinal de fundo da solução padrão; (-) linhaça (CVWD) + $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb; (--) sinal de fundo para linhaça (CVWD) + $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb. A: solução da amostra diluída 15 vezes; B: 30 vezes e C: 50 vezes.

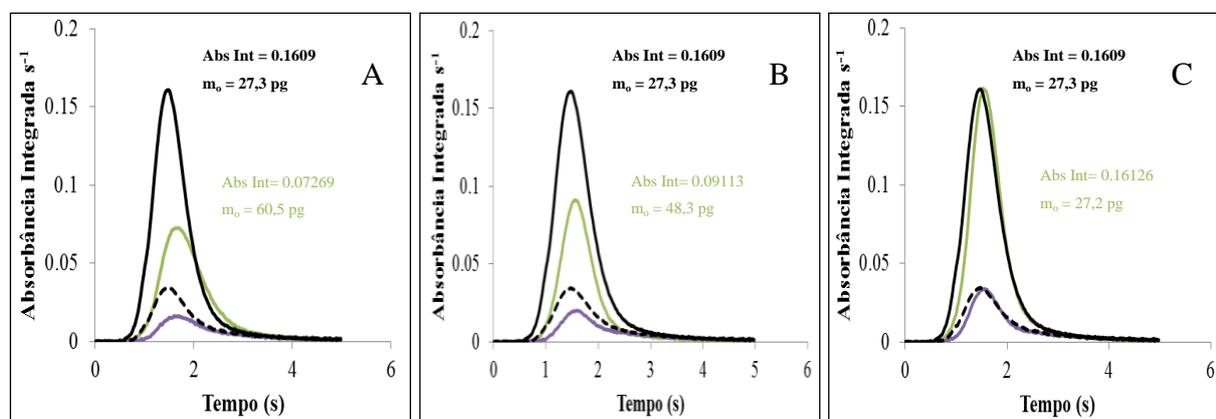


Figura 14. Perfis dos sinais de Pb para (-) solução padrão de Pb $50 \mu\text{g L}^{-1}$; (--) sinal de fundo da solução padrão; (-) linhaça (MWAD) + $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb; (--) sinal de fundo para linhaça (MWAD) + $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb. A: solução da amostra diluída 15 vezes; B: 30 vezes e C: 50 vezes.

Como pode ser observado na Figura 13, as interferências causadas pela matriz da amostra são atenuadas com a diluição de 30 vezes, diferentemente da solução da amostra

decomposta em sistema fechado assistida por radiação micro-ondas (Figura 14), onde uma diluição de 50 vezes é necessária.

As Figuras 15 e 16 apresentam os perfis dos sinais transientes e os respectivos valores de absorvância para a solução padrão de Pb $50 \mu\text{g L}^{-1}$ e para as soluções das amostras de quinoa decompostas por CVWD e MWAD, respectivamente.

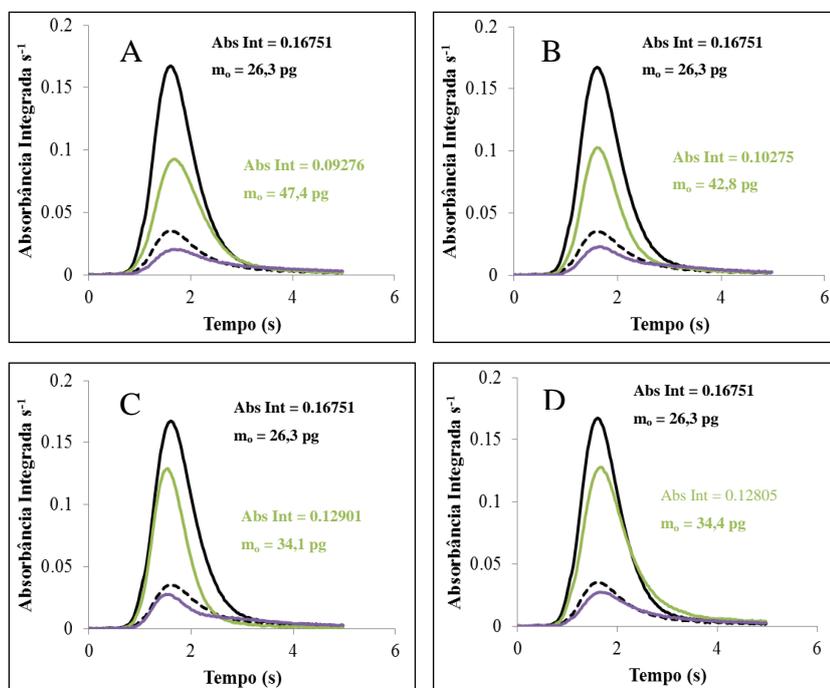


Figura 15. Perfis dos sinais de Pb para (-) solução padrão de Pb $50 \mu\text{g L}^{-1}$; (--) sinal de fundo da solução padrão; (-) quinoa (CVWD) $+50 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb; (--) sinal de fundo para quinoa (CVWD) $+50 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb. A: solução da amostra diluída 15 vezes; B: 30 vezes; C: 50 vezes e D: 100 vezes.

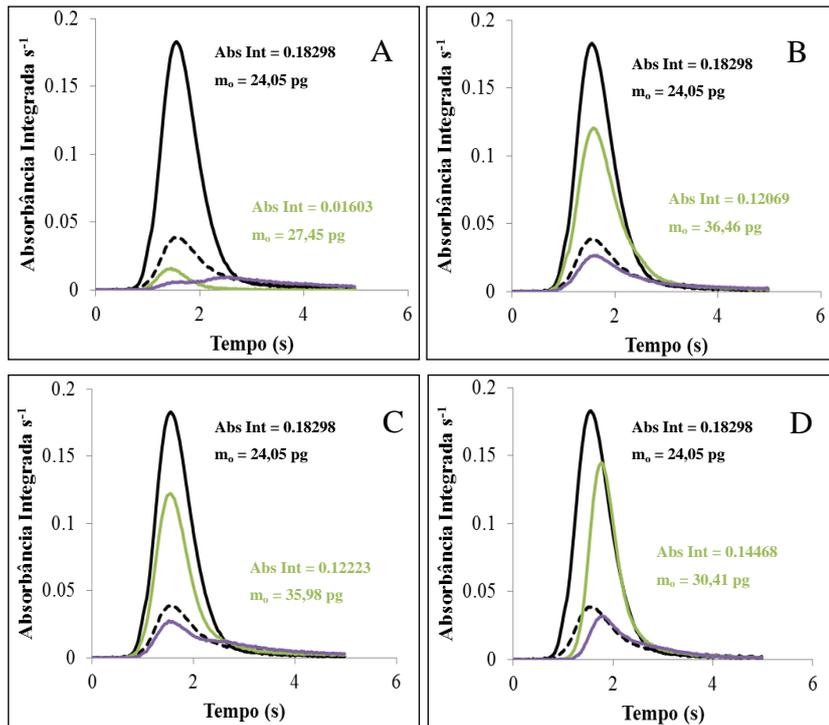


Figura 16. Perfis dos sinais de Pb para (-) solução padrão de Pb $50 \mu\text{g L}^{-1}$; (--) sinal de fundo da solução padrão; (-) quinoa (MWAD) $+50 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb; (--) sinal de fundo para quinoa (MWAD) $+50 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb. A: solução da amostra diluída 15 vezes; B: 30 vezes; C: 50 vezes e D: 100 vezes.

Tanto para as amostras decompostas por via úmida em sistema fechado com aquecimento convencional, quanto para as amostras decompostas por MWAD, não foi possível a recuperação do sinal do analito com uma diluição de até 100 vezes, evidenciando a complexidade da matriz da amostra.

As Figuras 17 e 18 apresentam os perfis dos sinais transientes e os respectivos valores de absorbância para a solução padrão de Pb $50 \mu\text{g L}^{-1}$ e para a solução da amostra de chia decomposta por CVWD e MWAD, respectivamente.

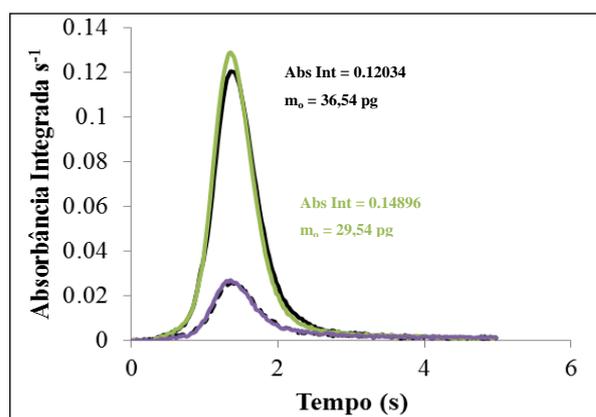


Figura 17. Perfis dos sinais de Pb para (-) solução padrão de Pb $50 \mu\text{g L}^{-1}$; (--) sinal de fundo da solução padrão; (-) chia (CVWD) + $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb; (--) sinal de fundo para chia (CVWD) + $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb. Amostra diluída 15 vezes

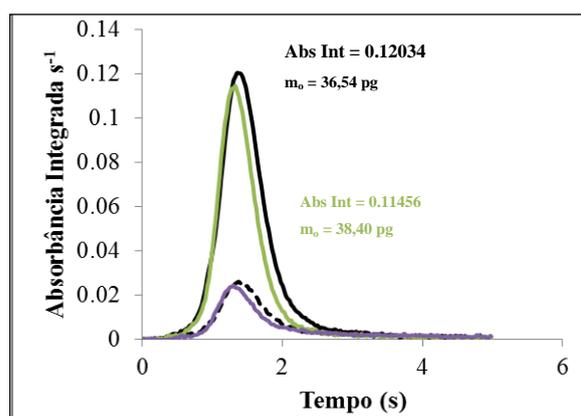


Figura 18. Perfis dos sinais de Pb para (-) solução padrão de Pb $50 \mu\text{g L}^{-1}$; (--) sinal de fundo da solução padrão; (-) chia (MWAD) + $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb; (--) sinal de fundo para chia (MWAD) + $50 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb. Amostra diluída 15 vezes.

Como pode ser observado nas Figuras 17 e 18 o sinal do analito não foi suprimido pela matriz da amostra de chia quando utilizada uma diluição de 15 vezes. Sendo assim, não foram observadas interferências causadas pela matriz da amostra de chia, independente do método de preparo das amostras utilizado.

Com o intuito de eliminar as interferências, foram feitas algumas alterações nos programas de aquecimento e nas soluções utilizadas nos métodos de decomposição avaliados. Estes estudos foram feitos somente com a amostra de quinoa, tendo em vista que para esta solução foi observada maior supressão do sinal do analito, conforme mostrado nas Figuras 15

e 16. Primeiramente, as decomposições foram feitas em dois sistemas de decomposição assistidos por radiação micro-ondas, onde a temperatura da etapa de aquecimento foi aumentada para as temperaturas máximas permitidas por cada sistema de decomposição. Neste caso, foram utilizados um sistema de decomposição de média pressão (40 bar) e de alta pressão (80 bar) e a temperatura da etapa de decomposição foi mantida em 220 e 280 °C, respectivamente. Após, foi feita a adição de Pb nas soluções resultantes e os sinais transientes e os respectivos valores de absorvância obtidos para os sistemas de decomposição de média e alta pressão são mostrados nas Figuras 19 e 20, respectivamente.

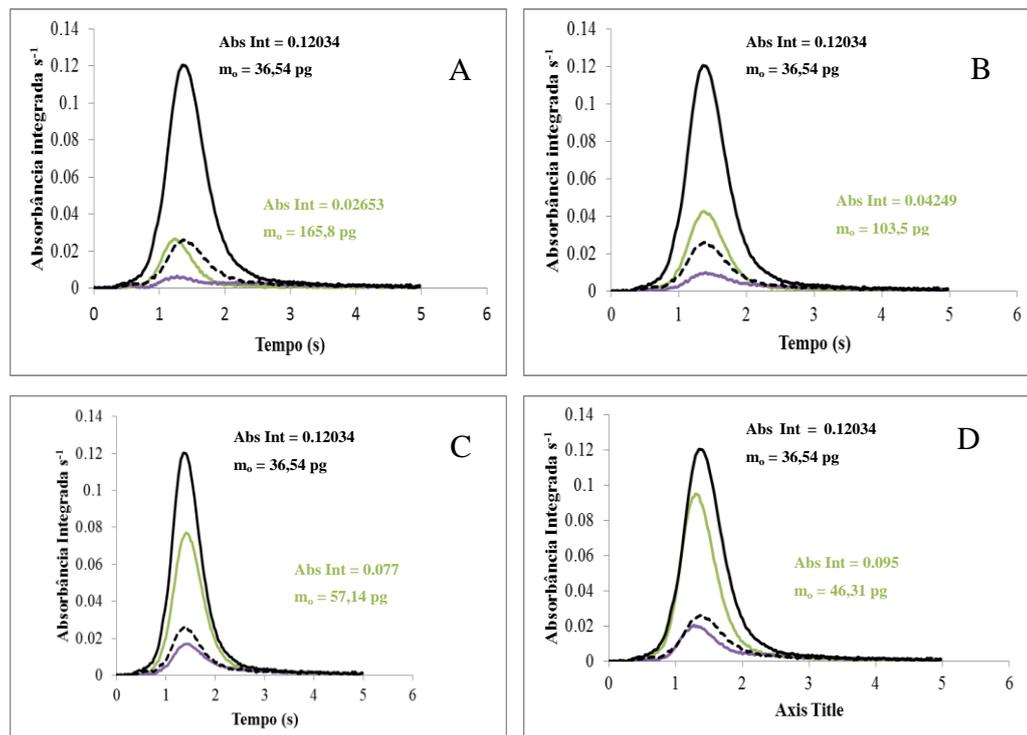


Figura 19. Perfis dos sinais de Pb para (-) solução padrão de Pb $50 \mu\text{g L}^{-1}$; (--) sinal de fundo da solução padrão; (-) quinoa (MWAD-sistema de média pressão) $+50 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb; (--) sinal de fundo para quinoa (MWAD-sistema de média pressão) $+ 50 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb. A: solução da amostra diluída 15 vezes; B: 30 vezes; C: 50 vezes e D: 100 vezes.

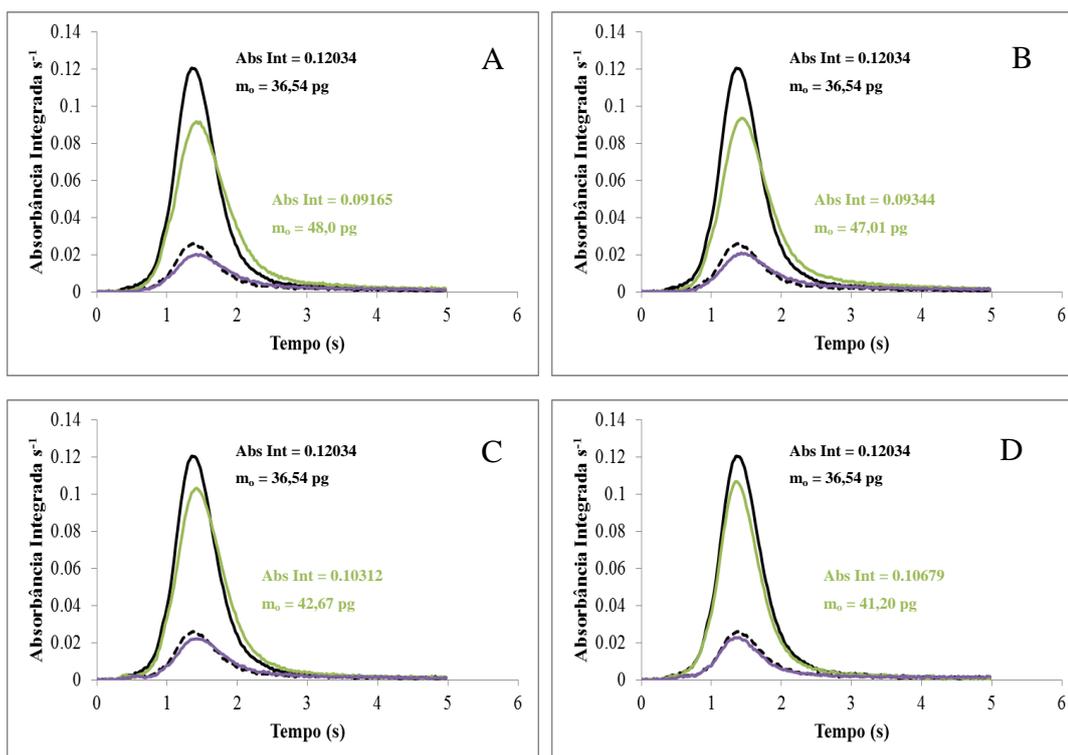


Figura 20. Perfis dos sinais de Pb para (-) solução padrão de Pb $50 \mu\text{g L}^{-1}$; (--) sinal de fundo da solução padrão; (-) quinoa (MWAD-sistema de alta pressão) $+50 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb; (--) sinal de fundo para quinoa (MWAD-sistema de alta pressão) $+50 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb. A: solução da amostra diluída 15 vezes; B: 30 vezes; C: 50 e D: 100 vezes.

É possível observar na Figura 20 que os perfis dos sinais não apresentaram diferenças significativas daqueles obtidos quando utilizado uma temperatura menor na etapa de decomposição ($220 \text{ }^\circ\text{C}$, Figura 16). Já quando utilizado um forno de micro-ondas que permite temperaturas de máximas de $280 \text{ }^\circ\text{C}$ e alta pressão (80 bar), observa-se um aumento de quase 5 vezes no valor da absorbância para a diluição de 15 vezes (comparando com a Figura 19). Assim, é possível relacionar o aumento da temperatura com a eficiência da decomposição da amostra e, conseqüentemente, a atenuação de interferências causadas pela matriz da amostra. Pelos resultados obtidos para o RCC nas amostras decompostas pelos diferentes sistemas de radiação micro-ondas, pode-se confirmar que a eficiência de decomposição da quinoa por MWAD utilizando o sistema de alta pressão foi inferior (0,90%) ao teor de RCC obtido na solução resultante após decomposição por MWAD em sistema de média pressão (20,98%).

A avaliação de diferentes reagentes (adição de peróxido de hidrogênio) na decomposição por via úmida assistida por micro-ondas também foi feita, conforme mencionado anteriormente. Utilizando-se dois sistemas de radiação micro-ondas, conforme descrito anteriormente, a decomposição foi feita com uma mistura de 6 mL de HNO₃ concentrado e 1 mL de H₂O₂ concentrado. As Figuras 21 e 22 mostram os perfis dos sinais obtidos e os respectivos valores de absorvância quando utilizado o forno de micro-ondas de média pressão e de alta pressão, respectivamente.

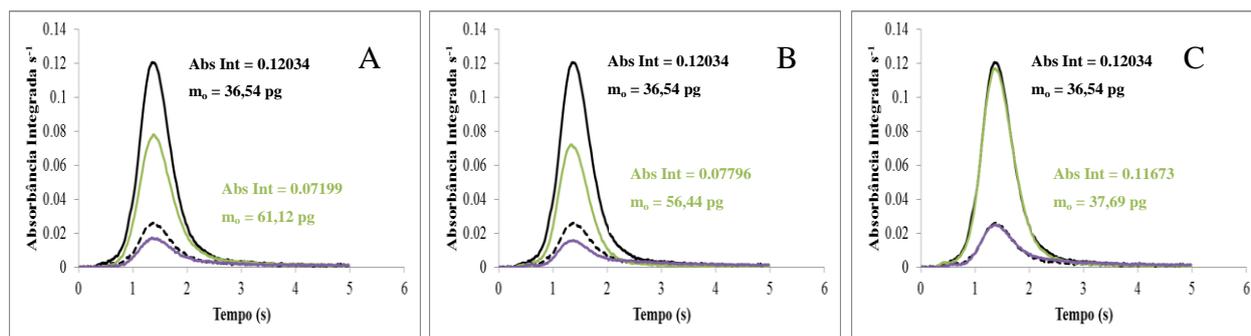


Figura 21. Perfis dos sinais de Pb para (-) solução padrão de Pb 50 $\mu\text{g L}^{-1}$; (--) sinal de fundo da solução padrão; (-) quinoa (MWAD-sistema de média pressão) +50 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Pb; (--) sinal de fundo para quinoa (MWAD-sistema de média pressão) + 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Pb. A: solução da amostra diluída 15 vezes; B: 30 vezes; C: 50 vezes.

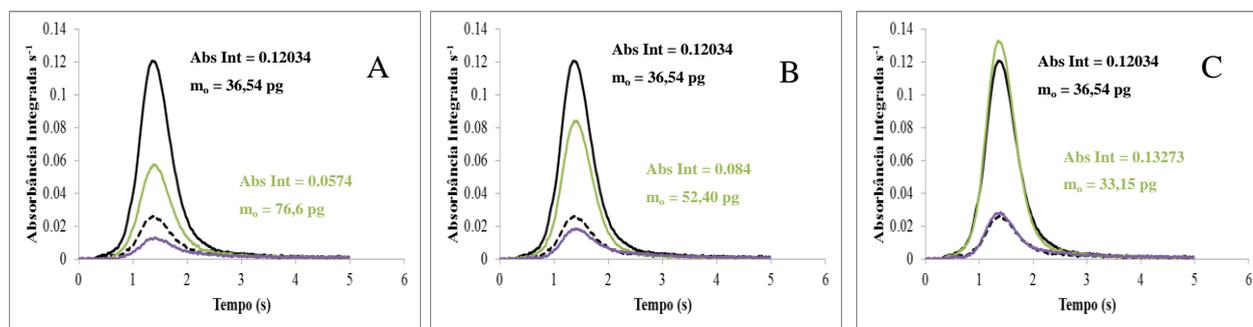


Figura 22. Perfis dos sinais de Pb para (-) solução padrão de Pb 50 $\mu\text{g L}^{-1}$; (--) sinal de fundo da solução padrão; (-) quinoa (MWAD-sistema de alta pressão) +50 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Pb; (--) sinal de fundo para quinoa (MWAD-sistema de alta pressão) + 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Pb. A: solução da amostra diluída 15 vezes; B: 30 vezes; C: 50 vezes.

Nas Figuras 21 e 22 observa-se que a partir de uma diluição de 50 vezes já é possível recuperar o sinal de Pb na amostra, o que não foi possível quando a decomposição é feita

somente com HNO_3 que necessita de uma diluição maior que 100 vezes. Mesmo observando que o aumento da temperatura e o uso de H_2O_2 atenuam as interferências causadas pela matriz, essas medidas não foram suficientes para que essas interferências fossem eliminadas. Nesse sentido, a combustão iniciada por micro-ondas foi avaliada como um método de preparo de amostras alternativo para decompor amostras complexas. Além disso, o uso de soluções absorvedoras diluídas permite que as soluções obtidas após a decomposição sejam introduzidas no tubo de grafite sem a necessidade de diluições prévias, preservando a vida útil do tubo e permitindo a quantificação de elementos em baixas concentrações. Sendo assim, também foi feita avaliação das interferências nas soluções obtidas após decomposição de amostras de quinoa por MIC e os sinais transientes estão apresentados na Figura 23. Neste estudo, somente a amostra de quinoa foi avaliada em função de as amostras de chia, amaranto e linhaça apresentarem comportamento similar ao da quinoa nos estudos feitos anteriormente com diferentes métodos de decomposição.

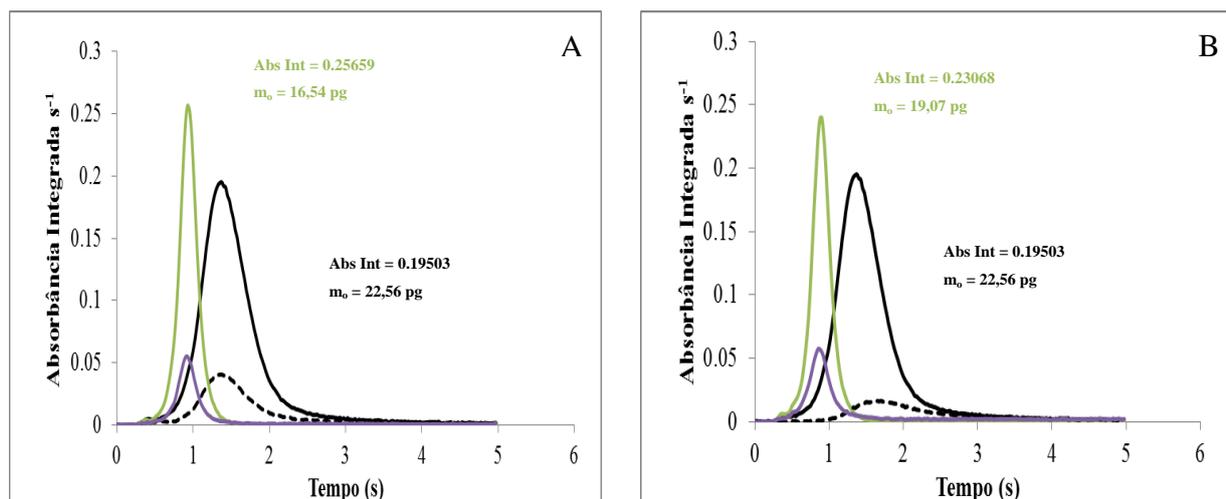


Figura 23. Perfis dos sinais de Pb para (-) solução padrão de Pb $50 \mu\text{g L}^{-1}$; (--) sinal de fundo da solução padrão; (-) quinoa (MIC) $+50 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb; (-) sinal de fundo para quinoa (MIC) $+ 50 \mu\text{g L}^{-1}$ de Pb. A: solução da amostra diluída 5 vezes; B: sem diluição.

Como pode ser observado na Figura 23, os sinais de Pb não foram suprimidos quando adicionados na solução da amostra obtida após a decomposição por MIC e não houve diferenças significativas (teste t-student, 95% de confiança) entre os valores obtidos nas soluções concentradas e diluídas. Assim, o uso da MIC como método de preparo de amostras, foi eficiente para contornar as interferências observadas em relação à supressão do sinal do

analito (Pb). Possivelmente, este fato está relacionado com a elevada temperatura atingida durante a etapa de decomposição das amostras (superior a 1400 °C), onde a matéria orgânica é completamente oxidada e o uso de soluções diluídas para retenção dos analitos o que por sua vez, possibilita a análise se soluções sem etapa prévia de diluição.

5.3.4 Figuras de mérito

As figuras de mérito (limites de detecção, LD, e quantificação, LQ) para os diferentes métodos de preparo de amostras e determinação dos analitos por GF AAS estão apresentados na Tabela XII. Para a decomposição em sistema fechado com aquecimento convencional foi considerada a massa de amostra de 250 mg, enquanto que para MWAD e por MIC foi considerada a massa de amostra de 500 mg.

Tabela XII. Figuras de mérito para Cd e Pb nos diferentes métodos de decomposição e determinação por GF AAS.

Parâmetro		Cd	Pb	Fator de diluição
CVWD	LD ($\mu\text{g g}^{-1}$)	0,146	2,46	15
	LQ ($\mu\text{g g}^{-1}$)	0,855	7,06	15
MWAD	LD ($\mu\text{g g}^{-1}$)	0,072	1,23	15
	LQ ($\mu\text{g g}^{-1}$)	0,420	3,53	15
MIC	LD ($\mu\text{g g}^{-1}$)	0,014	0,322	1
	LQ ($\mu\text{g g}^{-1}$)	0,087	0,443	1
Faixa linear		0,1 a 10 $\mu\text{g L}^{-1}$	5 a 100 $\mu\text{g L}^{-1}$	
Coeficiente de correlação		0,9998	0,9986	
Massa característica, pg		1,1	32,6	

Como pode ser observado na Tabela XII, os valores de LD e LQ para CVWD é duas vezes maior que para MWAD. Isso deve-se à baixa quantidade de amostra que o sistema fechado com aquecimento convencional permite em uma decomposição eficiente e segura. Os valores de LD e LQ obtidos para MIC mostraram-se menores que aqueles obtidos para os outros métodos de decomposição.

5.4 DETERMINAÇÃO DE CÁDMIO E CHUMBO NAS AMOSTRAS DECOMPOSTAS

Primeiramente, as determinações de Cd e Pb foram feitas na solução da amostra de quinoa diluída 15 vezes decompostas por CVWD e MWAD de média pressão. Neste caso, as concentrações de cádmio obtidas foram abaixo do limite de quantificação. Assim, mesmo não havendo interferências, a diluição de 15 vezes impossibilitou a detecção de cádmio por GF AAS. Como descrito anteriormente, não foi possível a detecção de chumbo na amostra de quinoa devido à necessidade de diluição excessiva, utilizada para eliminar interferências causadas pela matriz da amostra.

Em seguida foi feita a determinação de Cd e Pb nas soluções das amostras de amaranto, chia e linhaça, decompostas por CVWD, diluídas 15 vezes. Nestas soluções, as concentrações ficaram abaixo do limite de quantificação tanto para cádmio quanto para chumbo.

Após a otimização do método de MIC (uso de HNO_3 7 mol L^{-1} como solução absorvedora) e decomposição dos cereais, foi feita a determinação Cd e Pb nas amostras utilizando as condições de determinação previamente otimizadas. No entanto, para todas as amostras investigadas, os valores de Cd e Pb ficaram abaixo do limite de quantificação. Sendo assim, os cereais utilizados neste trabalho não apresentaram valores de Cd e Pb maiores que o permitido para consumo pela legislação. Cabe ressaltar que, alguns trabalhos descritos na literatura encontraram valores relativamente elevados de Cd e Pb em amostras de cereais, como cevada, milho, arroz e trigo.^{47, 80} Para as amostras de cereais estudados neste trabalho somente em um trabalho¹ foi encontrada alta concentração de Cd em linhaça. Em um outro trabalho⁴² foi estudado o acúmulo de Cd em diferentes partes da linhaça, como as raízes, mas não foram encontradas quantidades significativas de Cd nas sementes de linhaça.

6 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos, o método de decomposição por via úmida em sistema aberto com aquecimento convencional mostrou-se bastante moroso e ineficiente para a decomposição de cereais. O método de decomposição por via úmida em sistema fechado com aquecimento convencional também mostrou-se bastante moroso e, apesar de a decomposição ter sido completa, não foi suficiente para eliminar as interferências de matriz. Além disso, por permitir a decomposição de pequenas quantidades de amostra, os limites de detecção e quantificação obtidos foram mais altos que os obtidos por decomposição em sistema fechado assistido por radiação micro-ondas.

O método de decomposição em sistema fechado assistido por radiação micro-ondas proporcionou decomposições mais rápidas e seguras do que aquelas baseadas em aquecimento convencional. Foi observado que o sistema que permite uso de alta pressão (até 80 bar) apresentou elevada eficiência de decomposição (RCC inferior a 1%), significativamente superior ao sistema de média pressão, onde o RCC nas soluções resultantes foi superior a 20%. No entanto, mesmo que a decomposição por MWAD em sistema de alta pressão ter sido eficiente, impossibilitou a posterior determinação de Cd e Pb por GF AAS, devido à alta concentração de ácido nas soluções das amostras decompostas, sendo necessário aplicar etapa prévia de diluição.

Os resultados obtidos na determinação de Cd e Pb por GF AAS, mostraram que há interferências de matriz quando utilizado os métodos de decomposição por via úmida em sistema fechado com aquecimento convencional e assistido por micro-ondas. Foi observado que essas interferências foram eliminadas com a diluição de no mínimo 30 vezes da solução decomposta, impossibilitando a quantificação dos elementos por GF AAS.

O método de decomposição por MIC foi adequado para a decomposição de amostras de cereais como amaranto, chia, linhaça e quinoa, obtendo teores de carbono residual inferiores a 0,12%. Utilizando a decomposição por MIC foi possível decompor massas de amostras de até 500 mg e recuperações quantitativas foram obtidas quando utilizado ácido nítrico diluído (HNO_3 7 mol L^{-1}) como solução absorvedora. A concordância com o material de referência certificado com matriz similar foi de 92%. Este método também está de acordo com os princípios da química verde por permitir o uso de ácidos diluídos, diminuindo o uso de reagentes e geração de resíduos.

REFERÊNCIAS

1. Ozkutlu, F., *Asian J. Chem.* **2008**, *20*, 1081-1088.
2. Organization, W. H. *Evaluation of certain food additives and contaminants*; 2011; p 237.
3. Aydin, I., *Microchem. J.* **2008**, *90*, 82-87.
4. Flores, E. M. M.; Barin, J. S.; Mesko, M. F.; Knapp, G., *Spectrochim. Acta Part B-Atomic Spectroscopy* **2007**, *62*, 1051-1064.
5. <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/>
6. Delcour, J. A., In *Principles of Cereal Science and Technology* services, R. R. R., Ed. AACC International: USA, 2010, p 1.
7. Slavin, J., *Nutr. Res. Rev.* **2004**, *17*, 99-110.
8. GA, S., In *Whole grains, whole wheat and white flours in history*, L Marquart, J. S. a. R.; Fulcher, Eds. St Paul, MN: Eagan Press, 2002, pp 1-7.
9. Repo-Carrasco-Valencia, R.; Pena, J.; Kallio, H.; Salminen, S., *J. Cereal Sci* **2009**, *49*, 219-224.
10. Cheftel, C., In *Extrusion cooking and food safety*, Mercier, C. L., P.; Harper, J. M., Ed. American Association Cereal Chemistry: St Paul, MN, 1989, pp 435-461.
11. Poutanen, K.; Sozer, N.; Della Valle, G., *J Cereal Sci* **2014**, *59*, 327-336.
12. <http://wholegrainscouncil.org>
13. Kaur, S.; Singh, N.; Rana, J. C., *Food Chem* **2010**, *123*, 1227-1234.
14. Silva-Sanchez, C.; de la Rosa, A. P. B.; Leon-Galvan, M. F.; de Lumen, B. O.; de Leon-Rodriguez, A.; de Mejia, E. G., *J. Agric. Food. Chem.* **2008**, *56*, 1233-1240.
15. Marcone, M. F.; Kakuda, Y.; Yada, R. Y., *Plant Food Hum Nutr* **2003**, *58*, 207-211.
16. Vidueiros, S. M.; Curti, R. N.; Dyner, L. M.; Binaghi, M. J.; Peterson, G.; Bertero, H. D.; Pallaro, A. N., *J. Cereal Sci* **2015**, *62*, 87-93.
17. Nascimento, A. C.; Mota, C.; Coelho, I.; Gueirao, S.; Santos, M.; Matos, A. S.; Gimenez, A.; Lobo, M.; Samman, N.; Castanheira, I., *Food Chem.* **2014**, *148*, 420-426.
18. Hirose, Y.; Fujita, T.; Ishii, T.; Ueno, N., *Food Chem.* **2010**, *119*, 1300-1306.
19. Repo-Carrasco, R.; Espinoza, C.; Jacobsen, S. E., *Food Rev Int* **2003**, *19*, 179-189.
20. Segura-Campos, M. R.; Salazar-Vega, I. M.; Chel-Guerrero, L. A.; Betancur-Ancona, D. A., *Lwt-Food SciTech* **2013**, *50*, 723-731.
21. Ayerza, R.; Coates, W., *Ind Crops Prod* **2011**, *34*, 1366-1371.

22. Ali, N. M. Y., Swee Keong; Ho, Wan Yong; Beh, Boon Kee; Tan, Sheau Wei; Tan, Soon Guan, *J Biomed Biotechnol* **2012**, 2012, 9 páginas.
23. Department of agriculture, f. a. f. *Production guidelines for flax (Linum usitatissimum L.)*; Republic of South Africa, 2012.
24. Zuk, M.; Richter, D.; Matuła, J.; Szopa, J., *Ind Crops Prod* **2015**.
25. Amalesh, S., *PDA J. Pharm Sci Tech* **2015**, 6, 12-35.
26. Kajla, P.; Sharma, A.; Sood, D. R., *J. Food Sci Tech* **2015**, 52, 1857-1871.
27. Ekholm, P.; Reinivuo, H.; Mattila, P.; Pakkala, H.; Koponen, J.; Happonen, A.; Hellstrom, J.; Ovaskainen, M.-L., *J. Food Compos Anal* **2007**, 20, 487-495.
28. Tejera, R. L.; Luis, G.; Gonzalez-Weller, D.; Caballero, J. M.; Gutierrez, A. J.; Rubio, C.; Hardisson, A., *Nutr Hosp* **2013**, 28, 506-513.
29. Larini, L., In *Toxicologia*, Manole, Ed. São Paulo, 1987.
30. Nardi, E. P.; Evangelista, F. S.; Tormen, L.; SaintPierre, T. D.; Curtius, A. J.; de Souza, S. S.; Barbosa, F., Jr., *Food Chem* **2009**, 112, 727-732.
31. Golia, E. E.; Dimirkou, A.; Mitsios, I. K., *B Environ Contam Tox* **2008**, 81, 80-84.
32. Capar, S. G.; Mindak, W. R.; Cheng, J., *Anal Bioanal Chem* **2007**, 389, 159-169.
33. <http://www.inmetro.gov.br/qualidade/comites/codex.aspx>
34. Sturgeon, R. E., *Sample Preparation for Trace Element Analysis*; Amsterdam, The Netherlands, 2003.
35. Flores, E. M. M., *Microwave-Assisted Sample Preparation for Trace Element Determination*; 1 ed.; Elsevier B. V.: Santa Maria, Brazil, 2014.
36. Junior, F. J. K. e. D. S., In *Métodos de Preparo de Amostras; fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar*, Krug, F. J., Ed. Piracicaba, 2010.
37. Santelli, M. A. Z. A. e. R. E., *Quim Nova* **1997**, 20, 638-643.
38. Ruales, J.; Nair, B. M., *Food Chem* **1993**, 48, 131-136.
39. Aguilar, E. G.; Cantarelli, M. A.; Marchevsky, E. J.; Escudero, N. L.; Camiña, J. M., *J Chem* **2013**.
40. Čičová, A. V. E. M. M. K. I., *Environmental Protection and Natural Resources* **2013**, 24, 17-20.
41. A., A. M. O. E. A. I. O. K., *Afr Crop Sci J.* **2009**, 16, 225-235.
42. Bjelkova, M.; Gencurova, V.; Griga, M., *Ind Crops Prod* **2011**, 33, 761-774.

43. Coelho, I.; Gueifão, S.; Matos, A. S.; Roe, M.; Castanheira, I., *Food Chem* **2013**, *141*, 604-611.
44. Llorent-Martínez, E. J.; Fernández-de Córdoba, M. L.; Ortega-Barrales, P.; Ruiz-Medina, A., *Microchem J.* **2013**, *110*, 444-451.
45. Antonio Celso Spinola Costa, F. J. K., Elisabeth de Oliveira, Joaquim de Araújo Nóbrega e Telma Blanco Matias, In *Métodos de Preparo de Amostras; fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar*, Krug, F. J., Ed. 2010.
46. Bethge, P. O., *Anal Chim Acta* **1954**, *10*, 317-320.
47. Kazi, T. G.; Jamali, M. K.; Arain, M. B.; Afridi, H. I.; Jalbani, N.; Sarfraz, R. A.; Ansari, R., *J Hazard Mater* **2009**, *161*, 1391-1398.
48. Érico Marlon de Moraes Flores, F. J. K., Juliano Smanioto Barin e Marco Aurélio Zezzi Arruda, In *Métodos de Preparo de Amostras; fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar* Krug, F. J., Ed. Piracicaba, 2010.
49. K. Lange Hesse, L. D. a. G. S., *Fresenius J. Anal. Chem.* **1994**, *349*, 460.
50. Hintelmann, T. L. a. H., *Anal. Chem.* **2002**, *74*, 4602.
51. K. Polec, M. P. z.-C., O. Garcia-Arribas, J. Szpunar, B. Ribas-Ozonas e R. Lobinski, *J. Inorg. Biochem* **2001**, *88*, 197.
52. K. Polec, M. P. z.-C., O. Garcí'a-Arribas, J. Szpunar, B. Ribas-Ozonas e R. Lobinski, *J. Anal. At. Spectrom.* **2000**, *15*, 1363.
53. X.R. Zhang, R. C., J. De Kimpe, L. Mees and N. Lameire, *Clin. Chem.* **1997**, *43*, 406.
54. Pereira, J. S. F. Determinação de cloreto por cromatografia de íons em petróleo extrapesado, coque e resíduo de vácuo após decomposição em sistema fechado por combustão iniciada por micro-ondas. Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil, 2007.
55. Akinyele, I. O.; Shokunbi, O. S., *Food Chem* **2015**, *173*, 682-684.
56. Koirtiyohann, A. A.-S. J. S. M. S. R., *Anal. Chem.* **1975**, *47*, 1475.
57. Jin, Q.; Liang, F.; Zhang, H.; Zhao, L.; Huan, Y.; Daqian, S., *TrAC - Trend Anal Chem* **1999**, *18*, 479-484.
58. Kingston, H. M., Haswell, S. J., *Microwave-enhanced chemistry - Fundamentals, sample preparation and applications*; American Chemical Society: Washington, 1997.
59. Wolf, R. E.; Thomas, C.; Bohlke, A., *Applied Surface Science* **1998**, *127*, 299-303.

60. Barin, J. S. K., G.; Flores, E. M. M., In *Trends in sample preparation*, Arruda, M. A. Z., Ed. Nova science publisher: 2007.
61. Knorr, C. D. L. Combustão iniciada por micro-ondas com radiação focalizada (FMIC) para decomposição de condimentos de origem vegetal para posterior determinação de metais por ICP OES. Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil, 2011.
62. Mello, P. A.; Pereira, J. S. F.; Mesko, M. F.; Barin, J. S.; Flores, E. M. M., *Anal Chim Acta* **2012**, *746*, 15-36.
63. Flores, E. M. D.; Barin, J. S.; Paniz, J. N. G.; Medeiros, J. A.; Knapp, G., *Anal. Chem.* **2004**, *76*, 3525-3529.
64. Mesko, M. F.; de Moraes, D. P.; Barin, J. S.; Dressler, V. L.; Knapp, G.; Flores, E. M. D., *Microchem J.* **2006**, *82*, 183-188.
65. Mesko, M. F. Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil, 2004.
66. Muller, A. L. H.; Muller, C. C.; Lyra, F.; Mello, P. A.; Mesko, M. F.; Muller, E. I.; Flores, E. M. M., *Food Anal Method* **2013**, *6*, 258-264.
67. Dasbasi, T.; Sacmaci, S.; Ulgen, A.; Kartal, S., *Food Chem* **2015**, *174*, 591-596.
68. Hernandez-Martinez, R.; Navarro-Blasco, I., *Food Control* **2012**, *26*, 6-14.
69. Pandelova, M.; Lopez, W. L.; Michalke, B.; Schramm, K.-W., *J.Food Compos Anal* **2012**, *27*, 120-127.
70. Murphy, K. E.; Vetter, T. W., *Anal Bioanal Chem* **2013**, *405*, 4579-4588.
71. Sndedon, D. J. B. J. A., *A practical guide to graphite furnace atomic absorption spectrometry*; John Wiley & Sons: New York, 1998.
72. Welz, B., *Atomic Absorption Spectrometry*; VCH: Weinheim, 1985.
73. Schlemmer, G.; Welz, B., *Spectrochim Acta Part B-Atomic Spectroscopy* **1986**, *41*, 1157-1165.
74. Sturgeon, R. E., *Spectrochim Acta - Part B* **1997**, *52*, 1451-1457.
75. Slavin, W., *At Spectrosc* **1981**, *2*, 137-145.
76. Elmer, P. United States of America.
77. Antes, F. G.; Duarte, F. A.; Mesko, M. F.; Nunes, M. A. G.; Pereira, V. A.; Müller, E. I.; Dressler, V. L.; Flores, E. M. M., *Talanta* **2010**, *83*, 364-369.
78. Dessuy, M. B.; Vale, M. G. R.; Welz, B.; Borges, A. R.; Silva, M. M.; Martelli, P. B., *Talanta* **2011**, *85*, 681-686.

79. Mattos, J. C. P. d. Influência de modificadores orgânicos na determinação de chumbo em amostras de suplementos de cálcio por GF AAS. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Santa Maria, RS, Brasil, 2004.
80. Srikumar, T. S., *Food Chem* **1993**, *46*, 163-167.