

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Bruno de Oliveira Poletto

**MÉTODO DE PREPARO DE AMOSTRAS EM CÂMARA ÚNICA DE
REAÇÃO ASSISTIDA POR RADIAÇÃO MICRO-ONDAS E
DETERMINAÇÃO DE ELEMENTOS TERRAS RARAS EM AZEITE DE
OLIVA EXTRA VIRGEM POR USN-ICP-MS**

Santa Maria, RS
2022

Bruno de Oliveira Poletto

**MÉTODO DE PREPARO DE AMOSTRAS EM CÂMARA ÚNICA DE REAÇÃO
ASSISTIDA POR RADIAÇÃO MICRO-ONDAS E DETERMINAÇÃO DE ELEMENTOS
TERRAS RARAS EM AZEITE DE OLIVA EXTRA VIRGEM POR USN-ICP-MS**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Química**.

ORIENTADORA: Profa. Dra. Jussiane Souza da Silva

Santa Maria, RS
2022

Poletto, Bruno de Oliveira

Método de preparo de amostras em câmara única de reação assistida por radiação micro-ondas e determinação de elementos terras raras em azeite de oliva extra virgem por USN-ICP-MS / Bruno de Oliveira Poletto.

– 2022.

88 p.; 30 cm

Orientadora: Jussiane Souza da Silva

Coorientador: Érico Marlon de Moraes Flores

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química, Santa Maria, RS, 2022.

1. Azeite de oliva 2. Autenticidade 3. Elementos terras raras 4. Preparo de amostras 5. ICP-MS I. Silva, Jussiane Souza II. Flores, Érico Marlon de Moraes III. Título.

Bruno de Oliveira Poletto

**MÉTODO DE PREPARO DE AMOSTRAS EM CÂMARA ÚNICA DE REAÇÃO
ASSISTIDA POR RADIAÇÃO MICRO-ONDAS E DETERMINAÇÃO DE ELEMENTOS
TERRAS RARAS EM AZEITE DE OLIVA EXTRA VIRGEM POR USN-ICP-MS**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do título de **Mestre em Química**.

Aprovado em 16 de dezembro de 2022:

Jussiane Souza da Silva, Dra. (UFSM)
(Presidente/Orientadora)

Éder Lisandro de Moraes Flores, Dr. (UTFPR)

Cezar Augusto Bizzi, Dr. (UFSM)

Santa Maria, RS
2022

DECLARAÇÃO

A pesquisa descrita nesta dissertação foi totalmente elaborada por mim, e as informações retiradas da literatura estão devidamente referenciadas. Esta dissertação (ou partes dela) não foi apresentada anteriormente para obtenção de qualquer outro grau.



Bruno de Oliveira Poletto

AGRADECIMENTOS

Ao **Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Maria**, pela possibilidade de execução deste trabalho.

Ao **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)**, pelo apoio financeiro para o desenvolvimento deste trabalho.

À **Secretaria Estadual de Educação de Rondônia (SEDUC)**, pelo meu afastamento profissional da SEDUC-RO para que eu pudesse dedicar-me exclusivamente aos trabalhos do mestrado.

À **Profa. Dra. Jussiane Souza da Silva**, pela orientação durante esse período de mestrado, pela paciência em transmitir seus conhecimentos, pela disponibilidade em discutir as atividades desenvolvidas, pelo incentivo de crescimento profissional e pessoal, pelo exemplo profissional que és, e, não menos importante, pela amizade.

Ao **Prof. Dr. Éder Lisandro de Moraes Flores**, pela participação da banca de defesa, pelas valiosas sugestões contribuindo para o aperfeiçoamento e enriquecimento deste trabalho.

Ao **Prof. Dr. Cezar Augusto Bizzi**, pela participação da banca de defesa e de qualificação, pelas valiosas sugestões contribuindo para o aperfeiçoamento e enriquecimento deste trabalho, pela excelência profissional e convívio.

Ao **Prof. Dr. Edson Irineu Müller**, por participar da banca de qualificação e pelas valiosas sugestões que contribuíram para melhorias neste trabalho.

Ao **Prof. Dr. Érico Marlon de Moraes Flores**, pela coorientação e por todas as contribuições e oportunidades, as quais foram fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos **colegas e amigos** Professores, Doutorandos, Mestrandos, Iniciação Científica, entre outros, pelo convívio e pela contribuição direta ou indiretamente no desenvolvimento e conclusão deste trabalho.

Aos funcionários do **LAQIA/CEPETRO**, pelo convívio, auxílio e colaboração na execução deste trabalho.

Em especial aos **meus familiares** pela compreensão, pelo incentivo, pelo apoio incondicional e por acreditarem em mim, sempre.

RESUMO

MÉTODO DE PREPARO DE AMOSTRAS EM CÂMARA ÚNICA DE REAÇÃO ASSISTIDA POR RADIAÇÃO MICRO-ONDAS E DETERMINAÇÃO DE ELEMENTOS TERRAS RARAS EM AZEITE DE OLIVA EXTRA VIRGEM POR USN-ICP-MS

AUTOR: Bruno de Oliveira Poletto

ORIENTADORA: Profa. Dra. Jussiane Souza da Silva

Os elementos terras raras (REE) presentes no azeite de oliva extra virgem (EVOO) têm sido considerados marcadores estudados para rastreabilidade da origem de produção do azeite. Entretanto, os REE estão presentes em baixas concentrações (faixa de ng g^{-1}) no EVOO, exigindo métodos analíticos eficientes para determinação multielementar e com baixos limites de quantificação (LOQ). Além disso, é necessário que as condições utilizadas no método minimizem as interferências da matriz, da acidez residual (RA) e sejam capazes de decompor elevada massa do EVOO. Com isso, o objetivo deste trabalho foi propor um método de preparo de amostras de EVOO utilizando decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas em câmara única de reação (MAWD-SRC) e determinação de REE por espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado com nebulizador ultrassônico (USN-ICP-MS). Inicialmente, o programa de irradiação foi avaliado para o favorecimento da decomposição de elevadas massas de EVOO (1,0 a 2,0 g). As condições otimizadas do programa de irradiação foram: (i) 5 minutos de rampa até 115 °C; (ii) 50 minutos de rampa até 180 °C; (iii) 10 minutos de rampa até 270 °C, e permanência por 20 minutos em 270 °C. A pressão inicial de Ar e potência aplicadas foram de 40 bar e 1500 W, respectivamente. A eficiência de decomposição dos digeridos foi avaliada a partir da determinação do carbono orgânico dissolvido (DOC) e acidez residual (RA). Considerando a complexidade da amostra, como a presença de compostos orgânicos de difícil decomposição, destacando-se o ácido linoleico, é necessário o uso de HNO_3 concentrado empregando o método MAWD-SRC. Foram avaliadas a decomposição de 1, 1,5 e 2 g de EVOO com 6, 7 e 8 mL de HNO_3 14,4 mol L^{-1} . Com o programa de irradiação otimizado, foi possível decompor completamente até 2 g de EVOO. A condição ótima para determinação de REE, foi obtida utilizando 1 g de EVOO e 8 mL de HNO_3 14,4 mol L^{-1} , resultando em DOC e RA de 129 mg L^{-1} e 7%, respectivamente, requerendo um baixo fator de diluição dos digeridos (4 vezes) para adequar o teor de acidez com a solução de calibração. A exatidão foi avaliada pela adição de REE nas amostras a partir da solução de referência antes da decomposição, obtendo recuperação de 90% a 107%. A exatidão também foi avaliada comparando os resultados obtidos pelo método proposto e o método de referência, sendo a decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas (MAWD). Não teve diferença estatística (*teste-t*, com nível de confiança de 95%) entre os resultados de REE após utilização de ambos os métodos. Além disso, a MAWD-SRC permitiu a decomposição eficiente de uma maior massa de EVOO (1 g) em comparação com a MAWD (0,4 g). A MAWD-SRC possibilitou menores LOQ (0,01 - 0,7 ng g^{-1}) que a MAWD (0,1 - 6,8 ng g^{-1}), favorecendo a quantificação de mais analitos REE em baixas concentrações. Portanto, o método proposto é eficiente para determinação de REE em concentrações muito baixas em EVOO, podendo ser utilizado em estudos de autenticidade de azeite de oliva.

Palavras-chave: Azeite de oliva, autenticidade, elementos terras raras, preparo de amostra, ICP-MS.

ABSTRACT

SAMPLE PREPARATION METHOD IN SINGLE REACTION CHAMBER ASSISTED BY MICROWAVE RADIATION AND DETERMINATION OF RARE EARTH ELEMENTS IN EXTRA VIRGIN OLIVE OIL BY USN-ICP-MS

AUTHOR: Bruno de Oliveira Poletto
ADVISOR: Profa. Dra. Jussiane Souza da Silva

The rare earth elements (REE) present in extra virgin olive oil (EVOO) have been considered as studied markers for traceability of the production origin. However, REE are present in low concentrations (ng g^{-1} range) in EVOO, requiring analytical methods sufficient for multi-element determination and with low limits of quantification (LOQ). In addition, the conditions used in the method must minimize matrix and residual acidity (RA) interferences and digest a high mass of EVOO. Thus, the objective of this work was to propose a method for sample preparation of EVOO using microwave-assisted wet digestion in a single reaction chamber (MAWD-SRC) and determination of REE by inductively coupled plasma mass spectrometry with an ultrasonic nebulizer (USN-ICP-MS). Initially, the irradiation program was evaluated to allow the digestion of high masses of EVOO (1.0 to 2.0 g). The optimized irradiation program conditions were: (i) 5 min ramp to 115 °C; (ii) 50 min ramp to 180 °C; (iii) 10 min ramp to 270 °C, and hold for 20 min at 270 °C. The initial pressure with Ar gas and power applied was 40 bar and 1500 W, respectively. The digestion efficiency was evaluated from dissolved organic carbon (DOC) and residual acidity (RA). Considering the complexity of the sample, such as the presence of organic compounds that are difficult to decompose, especially linoleic acid, it is necessary to use concentrated HNO_3 employing the MAWD-SRC. Thus, the digestion of 1.0, 1.5 and 2.0 g of EVOO in 6, 7 and 8 mL of 14.4 mol L^{-1} HNO_3 was evaluated. Using the optimized irradiation program was possible to digest up to 2.0 g of EVOO completely. The optimal condition for REE determination was obtained using 1.0 g of EVOO and 8 mL of 14.4 mol L^{-1} HNO_3 , resulting in DOC and RA of 129 mg L^{-1} and 7%, respectively, requiring a low dilution factor of the digests (4 times) to match the acidity content with the calibration solution. The accuracy was evaluated by adding REE to the samples from the reference solution before digestion, obtaining 90 to 107% recovery. Accuracy was also evaluated by comparing the results obtained with the proposed and the microwave-assisted wet digestion (MAWD) reference methods, and showed no statistical difference (t-test, with 95% confidence level) between the results. Moreover, MAWD-SRC allowed the efficient digestion of the high mass of EVOO (1 g) compared to MAWD (0.4 g). MAWD-SRC enabled lower LOQ ($0.01 - 0.7 \text{ ng g}^{-1}$) than MAWD ($0.1 - 6.8 \text{ ng g}^{-1}$), favoring the quantification of more REE analytes at low concentrations. Therefore, the proposed method is efficient for REE determination at very low concentrations in EVOO and can be used in olive oil authenticity studies.

Keywords: Olive oil, authenticity, rare earth elements, sample preparation, ICP-MS.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Sequência de etapas para a decomposição de amostra de EVOO utilizando MAWD-SRC.....	41
Figura 2 -	Procedimentos e parâmetros utilizados para as avaliações dos métodos MAWD-SRC e MAWD.....	44
Figura 3 -	Pontos de nucleação da liberação dos gases CO ₂ e NO _x na interface entre o HNO ₃ 14,4 mol L ⁻¹ e o EVOO.....	47
Figura 4 -	Variação da temperatura e pressão do programa de irradiação 4 durante a decomposição de 1 g de EVOO com 6 mL de HNO ₃ 14,4 mol L ⁻¹	51
Figura 5 -	Variação da temperatura e pressão do programa de irradiação 4 durante a decomposição de 1,5 g de EVOO com 6 mL de HNO ₃ 14,4 mol L ⁻¹	52
Figura 6 -	Variação da temperatura e pressão do programa de irradiação 5 durante a decomposição de 1,5 g de EVOO com 6 mL de HNO ₃ 14,4 mol L ⁻¹	53
Figura 7 -	Aspectos dos digeridos utilizando o programa de irradiação 6 para decomposição de 1,5 g de EVOO com 6 mL de HNO ₃ 14,4 mol L ⁻¹	55
Figura 8 -	Variação da temperatura e pressão do programa de irradiação 6 durante a decomposição de 1,5 g de EVOO com 6 mL de HNO ₃ 14,4 mol L ⁻¹	55
Figura 9 -	Aspectos dos digeridos utilizando o programa de irradiação 6 para decomposição de 1,75 g de EVOO com 6 mL de HNO ₃ 14,4 mol L ⁻¹ ..	56
Figura 10 -	Variação da temperatura e pressão do programa de irradiação 6 durante a decomposição de 1,75 g de EVOO com 6 mL de HNO ₃ 14,4 mol L ⁻¹	56
Figura 11 -	Variação da temperatura e pressão do programa de irradiação 6 durante a decomposição de 2 g de EVOO com 6 mL de HNO ₃ 14,4 mol L ⁻¹	57

Figura 12 -	Variação da temperatura e pressão do programa de irradiação 7 durante a decomposição de 2 g de EVOO com 6 mL de HNO ₃ 14,4 mol L ⁻¹	58
Figura 13 -	Aspectos dos digeridos utilizando o programa de irradiação 7 para decomposição de 2,0g de EVOO com 6 mL de HNO ₃ 14,4 mol L ⁻¹	59
Figura 14 -	Aspectos dos digeridos utilizando programa de irradiação 7 para decomposição de 2 g de EVOO com 6 mL (A), 7 mL (B) e 8 mL (C) de HNO ₃ 14,4 mol L ⁻¹	60
Figura 15 -	Variação da temperatura e pressão do programa de irradiação 7 durante a decomposição 2 g de EVOO com 8 mL de HNO ₃ 14,4 mol L ⁻¹ ..	61
Figura 16 -	Concentração de DOC (em colunas) e RA (em linha) da decomposição de 2 g de EVOO com diferentes volumes de HNO ₃ 14,4 mol L ⁻¹ por MAWD-SRC.....	62
Figura 17 -	Concentração de DOC (em colunas) e RA (em linha) da decomposição de 1 g, 1,5 g e 2 g de EVOO com 8 mL de HNO ₃ 14,4 mol L ⁻¹ por MAWD-SRC.....	63
Figura 18 -	Concentração de DOC (em colunas) e RA (em linha) da decomposição de 1 g de EVOO por MAWD-SRC com 6, 7 e 8 mL de HNO ₃ 14,4 mol L ⁻¹	64
Figura 19 -	Efeito da RA sobre as concentrações dos REE provenientes da decomposição de 1 g de EVOO por MAWD-SRC utilizando 8 mL de HNO ₃ 14,4 mol L ⁻¹ . Digeridos da mesma decomposição: RA 5,5% (diluído 4 vezes com HNO ₃ 5%) e RA 7,2% (concentrado). A linha contínua representa a concordância em 100% das concentrações de REE (RA 5,5%) e as linhas tracejadas representam os níveis das variações estabelecidos em ± 10%.....	67
Figura 20 -	Efeito da concentração DOC sobre as concentrações dos REE obtidas por USN-ICP-MS após a MAWD-SRC de diferentes massas de EVOO, sendo 1 g de EVOO (DOC = 129 mg L ⁻¹), 1,5 g de EVOO (DOC = 5732 mg L ⁻¹) e 2 g de EVOO (DOC = 22628 mg L ⁻¹), em que	

os digeridos foram diluídos para obter DOC de 32, 1150 e 2828 mg L⁻¹,
respectivamente.....70

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Métodos analíticos utilizados para a determinação de REE em amostras de azeite de oliva.....	33
Tabela 2 -	Condições operacionais de ICP OES, USN-ICP-MS para determinação multielementar.....	37
Tabela 3 -	Programa de irradiação 1 utilizado para a decomposição de 1 g de EVOO por MAWD-SRC.....	46
Tabela 4 -	Programa de irradiação 2 utilizado para a decomposição de 1 g de EVOO por MAWD-SRC.....	48
Tabela 5 -	Programa de irradiação 3 utilizado para a decomposição de 1 g de EVOO por MAWD-SRC.....	49
Tabela 6 -	Programa de irradiação 4 utilizado para a decomposição de 1 g de EVOO por MAWD-SRC.....	50
Tabela 7 -	Programa de irradiação 5 utilizado para a decomposição de 1,5 g de EVOO por MAWD-SRC.....	53
Tabela 8 -	Programa de irradiação 6 utilizado para a decomposição de 1,5 g de EVOO por MAWD-SRC.....	54
Tabela 9 -	Programa de irradiação 7 utilizado para a decomposição de 2,0 g de EVOO por MAWD-SRC.....	58
Tabela 10 -	Resultados obtidos das concentrações de REE por USN-ICP-MS com 5,5% e 7,2% de acidez da mesma decomposição de 1 g de EVOO. RA de 5,5% (digerido diluído 4 vezes em HNO ₃ 5%) e 7,2% (digerido concentrado). Média ± desvio padrão (ng g ⁻¹), n = 3.....	66
Tabela 11 -	Concentrações dos REE obtidas por USN-ICP-MS após MAWD-SRC utilizando 8 mL de HNO ₃ 14,4 mol L ⁻¹ . Concentrações de REE obtidas da decomposição de 1 g de EVOO (DOC = 129 mg L ⁻¹), 1,5 g de EVOO (DOC = 5748 mg L ⁻¹) e 2 g de EVOO (DOC = 22632 mg L ⁻¹), em que os digeridos foram diluídos para obter DOC de 32, 1150 e 2830 mg L ⁻¹ , respectivamente. Média ± desvio padrão (ng g ⁻¹), n = 3.....	69
Tabela 12 -	Resultados das concentrações dos REE (média e desvio padrão em ng g ⁻¹ , n = 3) em EVOO determinadas por USN-ICP-MS após método	

	proposto (MAWD-SRC) e método de referência (MAWD) e ensaio de recuperação (média e desvio padrão em %, n = 3).....	73
Tabela 13 -	Resultados dos LOQ do método proposto MAWD-SRC e do método de referência MAWD para a determinação dos REE por USN-ICP-MS.....	75
Tabela 14 -	Concentrações dos REE em amostras de EVOO por USN-ICP-MS após MAWD-SRC. Média \pm desvio padrão (ng g^{-1}), n = 3.....	77

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DOC	Carbono orgânico dissolvido, do inglês, <i>dissolved organic carbon</i> .
EVOO	Azeite de oliva extra virgem, do inglês, <i>extra virgin olive oil</i> .
ETV	Vaporização eletrotérmica, do inglês, <i>electrothermal vaporization</i> .
EU	União europeia, do inglês, <i>European Union</i> .
ICP OES	Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado, do inglês, <i>inductively coupled plasma optical emission spectrometry</i> .
ICP-MS	Espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado, do inglês, <i>inductively coupled plasma mass spectrometry</i> .
IOC	Conselho Oleícola Internacional, do inglês, <i>International Olive Council</i> .
LOQ	Limite de quantificação, do inglês, <i>limit of quantification</i> .
LOD	Limite de detecção, do inglês, <i>limit of detection</i> .
MAWD	Decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas, do inglês, <i>microwave-assisted wet digestion</i> .
MAWD-SRC	Decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas em câmara única de reação, do inglês, <i>microwave-assisted wet digestion in a single reaction chamber</i> .
MIC	Combustão iniciada por radiação micro-ondas, do inglês, <i>microwave-induced combustion</i> .
PN	Nebulizador pneumático, do inglês, <i>pneumatic nebulizer</i> .
RA	Acidez residual, do inglês, <i>residual acidity</i> .
REE	Elementos terras raras, do inglês, <i>rare earth elements</i> .
RSD	Desvio padrão relativo, do inglês, <i>relative standard deviation</i> .
SD	Desvio padrão, do inglês, <i>standard deviation</i> .
TE	Temperatura de ebulição, do inglês, <i>boiling temperature</i> .
UAE	Extração assistida por ultrassom, do inglês, <i>ultrasound-assisted extraction</i> .
USN	Nebulizador ultrassônico, do inglês, <i>ultrasonic nebulizer</i> .

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	20
2.1	AZEITE DE OLIVA	21
2.2	ELEMENTOS TERRAS RARAS EM AZEITE DE OLIVA	23
2.3	MÉTODO DE PREPARO DE AMOSTRAS PARA DECOMPOSIÇÃO DE AZEITE DE OLIVA	24
2.3.2.1	Decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas em câmara única de reação	28
2.4	TÉCNICAS DE DETERMINAÇÃO DE REE EM ÓLEO	29
2.4.1	Determinação de REE em azeite de oliva	31
3	MATERIAIS E MÉTODOS	35
3.1	INSTRUMENTAÇÃO	36
3.3	AMOSTRAS DE EVOO E MÉTODOS DE PREPARO	39
3.3.1	Amostras de EVOO	39
3.3.2	Decomposição de EVOO por MAWD-SRC	39
3.3.3	Decomposição de EVOO por MAWD	42
3.4	ANÁLISES DE DADOS	42
4	APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	45
4.1	OTIMIZAÇÃO DO PROGRAMA DE IRRADIAÇÃO UTILIZANDO MAWD-SRC E DETERMINAÇÃO DE REE EM EVOO POR USN-ICP-MS	46
4.2	DECOMPOSIÇÃO DE 2 g DE EVOO COM DIFERENTES VOLUMES DE HNO ₃ 14,4 mol L ⁻¹	59
4.3	AVALIAÇÃO DA DECOMPOSIÇÃO DE DIFERENTES MASSAS DE EVOO	63
4.4	AVALIAÇÃO DO VOLUME DE HNO ₃ 14,4 mol L ⁻¹ PARA DECOMPOSIÇÃO DE 1 g DE EVOO	64
4.5	AVALIAÇÃO DAS INTERFERÊNCIAS DA ACIDEZ E DA MATRIZ	65
4.6	AVALIAÇÃO DA EXATIDÃO	71
5	CONCLUSÃO	80

1 INTRODUÇÃO

O azeite de oliva consiste em misturas de triacilgliceróis com valores próximos a 99% (m/m), que são oriundos da reação do glicerol com ácidos graxos (BOSKOU, 2006; ENDERS *et al.*, 2020). Estão presentes no azeite de oliva majoritariamente os ácidos monoinsaturados (58 e 83%), os ácidos saturados (7 a 18%), e os ácidos poli-insaturados (0,4 a 21%). Além disso, o azeite de oliva possui compostos bioativos, bem como clorofilas e carotenoides (BOSKOU, 2006; ALLALOUT *et al.*, 2009; KRICHENE *et al.*, 2010; FREGAPANE e SALVADOR, 2013; VAN DURME e VANDAMME, 2016).

O *International Olive Council* (IOC) (IOC, 2022) é uma organização que define normas de qualidade e vigilância de autenticidade do azeite de oliva, sendo as normas mais amplamente utilizadas para as especificações do azeite. Além disso, os regulamentos estabelecidos pelo Codex Alimentarius (CODEX ALIMENTARIUS, 2022) e a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) regulamento nº 270/2005 (BRASIL, 2005) regem que o azeite de oliva é óleo obtido somente dos frutos da oliveira (*Olea europaea L.*) sem empregar solventes, processos de re-esterificação nem envolver qualquer mistura de outros óleos (BRASIL, 2005; CODEX ALIMENTARIUS, 2022; IOC, 2022).

Assim, a extração do azeite de oliva é feita apenas através de processos mecânicos ou outros meios físicos. Além disso, as condições térmicas não podem gerar alterações das propriedades físico-químicas. Assim, a sequência do processo é lavagem, decantação, maceração, centrifugação e filtração, conservando, mantendo as propriedades sensoriais e nutricionais do produto (BRASIL, 2005; BRUSCATTO *et al.*, 2017).

Um dos parâmetros para classificação dos diferentes tipos de azeite é o percentual de ácidos graxos livres (AGL), ou acidez livre, sendo que para o azeite de oliva extra virgem (EVOO) é de até 0,8% (m/m) e para o azeite de oliva virgem é de 0,8 até 2,0% (m/m) (BRASIL, 2005; EUROPEAN UNION, 2007; CECCHI *et al.*, 2021).

Considerando o elevado valor sensorial, nutricional e, portanto, o valor comercial dos azeites de oliva, em especial o EVOO, desperta interesse em práticas fraudulentas de adulteração do EVOO, causando sérias implicações econômicas. Conforme consta no relatório anual de 2021 da Rede de Alerta e Cooperação da União Europeia (UE), o azeite, entre outros óleos comestíveis, foi colocado como a categoria

de alimentos mais notificada devido a não conformidades do produto (EUROPEAN UNION, 2021; QUINTANILLA-CASAS *et al.*, 2022). Dentre os diversos meios de adulteração do EVOO, pode ocorrer através de diluições com outros óleos com menor valor nutricional e valor agregado e produção com azeitonas de origem desconhecidas, o que afeta as propriedades autenticadas do produto.

Entretanto, para alguns meios de adulteração, como produção de azeite com azeitonas de origem desconhecida, a determinação multielementar torna-se viável, em vista que podem apresentar relação com características correspondentes às olivas, espécies de oliveiras e até mesmo com o solo da origem de produção. O grupo de elementos terras raras (REE) apresentaram relação com as características do solo, folha e frutos da origem de produção (ACETO *et al.*, 2019).

Para a determinação de REE, as técnicas empregadas incluem fluorescência de raios-X (XRF) (EL-TAHER, 2012), análise por ativação neutrônica (NAA) e as técnicas baseadas em plasma (EL-TAHER e ABDELHALIM, 2014). A XRF por ser uma técnica baseada em excitação eletrônica pode ter maior interferências espectrais para analitos com elevado número atômico e isso implica em maior limite de quantificação (LOQ). Embora a NAA é um meio atrativo por ser uma técnica não destrutiva e necessitar de baixa massa de amostra (0,5 µg, por exemplo), requer um reator nuclear o que limita o acesso para a maioria dos laboratórios, além de custo elevado e geração de lixo radioativo (KAYASTH e SWAIN, 2004; BULSKA *et al.*, 2012; EL-TAHER, 2012). Entre as técnicas baseadas em plasma estão a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) e a espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) (SILVA *et al.*, 2018).

Entretanto, os limites de detecção (LOD) obtidos pela técnica de ICP OES estão na faixa de ($\mu\text{g g}^{-1}$), sendo maiores que os LOD obtidos por ICP-MS (ng g^{-1}), além das possíveis interferências de sobreposição espectral das emissões. Exemplos de LOD para determinação de REE utilizando ICP OES podem ser citados os trabalhos de Karadas e Kara (2013) e de Krishnakumar *et al.* (2015) que obtiveram LOD entre 0,006 a 0,193 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 0,3 a 12,5 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. Por outro lado, os LOD por ICP-MS são mais apropriados, como os LOD obtidos por Dulski (1994), sendo menores que 0,1 ng L^{-1} (DULSKI, P., 1994; KARADAŞ e KARA, 2013; KRISHNAKUMAR *et al.*, 2015).

Com isso, o emprego de ICP-MS para a determinação de REE em EVOO vem se popularizando cada vez mais devido à elevada sensibilidade desta técnica, favorecendo a obtenção de menores LOQ (SAVIO *et al.*, 2014; ACETO *et al.*, 2019; CONTE *et al.*, 2020; DAMAK *et al.*, 2021; QUINTANILLA-CASAS *et al.*, 2022). Entretanto, durante a determinação de REE por ICP-MS podem ocorrer interferências devido à formação de óxidos e hidróxidos. Essas interferências podem ocorrer quando as espécies apresentam a mesma razão massa/carga (m/z) do analito, como as de óxido de bário sobre o Nd, Sm e Eu, e dos óxidos e hidróxidos dos REE mais leves sobre os REE mais pesados (por exemplo Gd, Tb, Dy) (DULSKI, P., 1994; SILVA *et al.*, 2018).

Uma forma de minimizar essas interferências é utilizando o nebulizador ultrassônico (USN), pois seu sistema de aquecimento e resfriamento promove a redução do solvente da amostra que é introduzida no plasma. Além disso, favorece a maior taxa de introdução de amostra no equipamento de ICP-MS, aproximadamente 6 vezes mais se comparado ao nebulizador pneumático (PN) (PINTO *et al.*, 2015).

Contudo, a técnica de ICP-MS requer que a amostra esteja na forma de uma solução, necessitando assim, de uma etapa prévia de preparo de amostra que elimine a fração orgânica de forma eficiente para não afetar significativamente os resultados durante a determinação. Com isso, leva-se em consideração as características da matriz, a massa necessária de decomposição para obter menores LOQ, bem como do volume do agente oxidante necessário para obter uma decomposição eficiente (baixo teor de acidez residual e carbono) (KRUG e ROCHA, 2019).

Uma vez que os REE estão em baixas concentrações em EVOO, é necessário a decomposição de elevada massa de azeite de forma eficiente para a obtenção de menores LOQ. Outro fator crítico da decomposição de EVOO está na composição da matriz, contendo compostos orgânicos de difícil decomposição, como o ácido linoleico, afetando a eficiência da decomposição e requerendo um método de preparo capaz de superar esses fatores. Assim, um meio viável que possibilita a decomposição de uma elevada massa de amostra de EVOO é empregando a decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas em câmara única de reação (MAWD-SRC). Esse sistema pode alcançar elevadas temperatura e pressão (até 300 °C e 199 bar, respectivamente) durante a decomposição. Com a possibilidade de decompor amostras com a pressão mais elevada se comparado aos demais sistemas fechados,

como MAWD, o que favorece temperatura de ebulição mais elevada do reagente oxidante, melhorando assim a eficiência de decomposição de matrizes complexas e difíceis de decompor. Conseqüentemente, reduz a possibilidade de interferência de carbono orgânico dissolvido (DOC) (KRUG e ROCHA, 2019; LAUTENSCHLÄGER *et al.*, 2020).

Entretanto, a limitação que se destaca dos sistemas fechados para decomposição de alta massa de amostras orgânicas está na liberação de gases CO₂ e NO_x pois o acúmulo desses gases, somado à pressão inicial pode alcançar as pressões críticas do sistema. Essa limitação pode ser contornada com avaliações da massa de amostra a ser decomposta, e com uso de um programa de irradiação apropriado conforme as características específicas da matriz.

A decomposição de elevada massa de EVOO se faz necessária quando se pretende determinar os analitos em baixas concentrações, como os REE com variações de 0,01 a 9,0 ng g⁻¹. A determinação de REE em baixas concentrações torna-se possível pois obtém menores valores de LOQ quanto maior for a massa de amostra decomposta (CAMIN *et al.*, 2010; ACETO *et al.*, 2019; DAMAK *et al.*, 2021).

Assim, o objetivo deste trabalho foi desenvolver um método de preparo de amostra de EVOO utilizando decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas em câmara única de reação e posterior determinação de Y, La, Ce, Pr, Nd, Sm, Eu, Tb, Dy, Gd, Ho, Er, Tm, Yb e Lu em baixas concentrações utilizando USN-ICP-MS.

Para a otimização do método proposto, primeiramente, foram avaliadas a temperatura e o tempo do programa de irradiação durante a etapa de aquecimento. Em seguida, avaliou-se a decomposição de EVOO com massas de EVOO variando de 1 g até 2 g com diferentes volumes de HNO₃ 14,4 mol L⁻¹. A eficiência de decomposição de EVOO foi avaliada a partir da determinação de DOC. A exatidão do método proposto foi avaliada a partir da adição de analito de uma solução de referência junto a amostra a ser decomposta. Além disso, a exatidão foi avaliada pela comparação dos resultados obtidos pelo método proposto com aqueles obtidos por USN-ICP-MS após a MAWD (método de referência). Outro fator avaliado foram as interferências de RA e de DOC proveniente da matriz sobre a determinação dos REE por USN-ICP-MS. Por fim, o método otimizado de MAWD-SRC e determinação por USN-ICP-MS foi aplicado para outras amostras de EVOO.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Esta revisão bibliográfica está dividida em três partes. Na primeira, serão abordados, de maneira breve, os aspectos gerais sobre o azeite de oliva, bem como a composição química e a presença de elementos traço, como os elementos terras raras (REE). Na segunda parte, serão descritos sobre os métodos de preparo de amostras, com ênfase em decomposição por via úmida em sistema fechado, para posterior determinação de REE em azeite de oliva. Na terceira parte, serão apresentadas as técnicas de determinações de REE, enfatizando entre elas a utilização espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado com um nebulizador ultrassônico (USN-ICP-MS).

2.1 AZEITE DE OLIVA

O azeite de oliva é composto por uma mistura de triacilgliceróis com valores próximo a 99% (m/m), que são oriundo da reação do glicerol com ácidos graxos (BOSKOU, 2006). Os ácidos graxos presentes no azeite de oliva são majoritariamente os ácidos monoinsaturados (C18:1) entre 58 e 83%, seguidos dos ácidos saturados (C16:0) entre 7 e 18%, e os de menor quantidade, os ácidos poli-insaturados, na faixa de 2 e 21% (C18:2) e 0,4 e 1,9% (C18:3). A parte saponificável, é constituída de ácido α -linolênico, linolênico, ácido oleico, compostos fenólicos, β -sitosterol, e constituído também de tocoferóis, carotenoides, vitaminas, polifenóis e esqualeno (BOSKOU, 2006; ALLALOUT *et al.*, 2009; KRICHENE *et al.*, 2010; FREGAPANE e SALVADOR, 2013; VAN DURME e VANDAMME, 2016; BRUSCATTO *et al.*, 2017).

O azeite de oliva pode ser classificado como azeite de oliva extra virgem (EVOO) e azeite de oliva virgem (VOO) (BRASIL, 2005; CODEX ALIMENTARIUS, 2022). Dentre os parâmetros para a classificação do azeite de oliva é feito através do percentual de ácido graxos livres (AGL) ou acidez livre, em que para o azeite de oliva extra virgem a acidez tem que ser até 0,8% e para ser classificado em azeite de oliva virgem, a acidez tem que ser até 0,8% a 2,0% (BRASIL, 2005). Essa variação da acidez está diretamente relacionada às condições e qualidade das azeitonas, como frutos com avarias ou machucado, bem como tempo e condições de estocagem e processamento das azeitonas (BOSKOU, 2006; CECCHI *et al.*, 2021; NASR *et al.*, 2022).

O EVOO está descrito como alimento dotado de elevada qualidade nutricional, bio-funcionais, anti-oxidante e nutracêuticos e redução do risco de doenças coronárias (PANEL ON DIETETIC PRODUCTS, 2011; FLORI *et al.*, 2019). Esses benefícios do EVOO à saúde são provenientes principalmente das vitaminas, compostos fenólicos, tocoferóis e ácidos graxos (PANEL ON DIETETIC PRODUCTS, 2011; FOOD & DRUG, 2018; FLORI *et al.*, 2019).

As características sensoriais, nutricionais, e nutracêuticas do EVOO são influenciadas por processos que iniciam desde a origem de produção, práticas agrônômicas, cultivares, amadurecimento da azeitona, matéria-prima, colheita, condições do armazenamento dos frutos, processos de extração até a embalagem. Assim, regiões que possuem Denominação de Origem Protegida, e Indicação

Geográfica Protegida, agregam valor econômico ao produto (REINERS e GROSCH, 1998; FARMAKI *et al.*, 2012; VAN DURME e VANDAMME, 2016; FLORI *et al.*, 2019; CECCHI *et al.*, 2021; DAMAK *et al.*, 2021).

Segundo a *International Olive Council* (IOC) os principais produtores de EVOO estão localizados na região mediterrânea. Entre esses estão, Espanha, Itália, Grécia e Portugal, que produziram 2,8 milhões de toneladas na safra 2020/21, representando aproximadamente 93% da produção mundial (IOC, 2022).

No Brasil, segundo os dados do Instituto Brasileiro de Olivicultura, o estado do Rio Grande do Sul é o principal produtor de EVOO com mais de 70% da produção nacional, obtendo 406,3 toneladas de EVOO na safra de 2022, o qual corresponde a um crescimento de 122% em relação ao mesmo período de produção do ano anterior, em que a produção foi de 183 toneladas de EVOO (MORAIS, 2022).

O azeite de oliva por ser amplamente aceito nas culinárias, ter elevado valor sensorial, nutricional e, portanto, o valor comercial, em especial o EVOO, desperta interesses em práticas fraudulentas de adulteração do azeite (MATTHÄUS *et al.*, 2019; YAN *et al.*, 2020; EUROPEAN UNION, 2021; NASR *et al.*, 2022; QUINTANILLA-CASAS *et al.*, 2022). Conforme consta no relatório anual de 2021 da Rede de Alerta e Cooperação da União Europeia (UE), o azeite foi colocado como a categoria de alimentos mais notificado devido a não conformidades do produto (EUROPEAN UNION, 2021).

Os meios de adulterações do EVOO podem ocorrer pela diluição com óleos de sementes, como os de soja, mistura de EVOO com azeite de oliva virgem, óleos de sementes corados, EVOO produzido em região estrangeira da certificação, EVOO produzido com azeitona de origem desconhecida (ACETO *et al.*, 2019).

Alguns meios de adulteração, como azeite produzido com azeitona de origem desconhecida ou não certificada, são difíceis de serem identificados por análises sensoriais ou por determinação de compostos orgânicos. Nesse sentido, existe a necessidade do desenvolvimento de métodos analíticos para verificar a autenticidade e origem geográfica do EVOO.

Para isso, alguns estudos envolvendo a presença de elementos terras raras como marcadores de proveniência de origem vêm sendo avaliados para rastreabilidade do EVOO. Alguns exemplos são os estudos realizados por Aceto *et al.* (2019), Pösic *et al.* (2020) e Damark (2021) que determinaram REE em azeite de oliva

e apresentaram relação proporcional com as concentrações encontradas em parte, das olivas, bem como com as concentrações de REE encontradas no solo onde as espécies são cultivadas (ACETO *et al.*, 2019; POŠĆIĆ *et al.*, 2020; DAMAK *et al.*, 2021).

2.2 ELEMENTOS TERRAS RARAS EM AZEITE DE OLIVA

Com relação à presença de metais em EVOO que contribuem para o estudo da rastreabilidade e autenticidade do produto, os REE, que são do grupo dos lantanídeos, Y e Sc, vêm se destacando devido à elevada estabilidade e por terem relação com a origem geográfica (planta e solo). No estudo desenvolvido por Aceto *et al.* (2019) foi apresentado dados apontando os REE como indicadores de autenticidade devido à sua elevada estabilidade térmica e por ser um dos grupos de analitos inorgânicos que apresentam relação entre as concentrações encontradas no EVOO, no solo das origens das azeitonas e nas folhas das oliveiras e frutos (ACETO *et al.*, 2019). Entretanto, vale ressaltar que há poucos dados na literatura destinados ao estudo e avaliação da rastreabilidade geográfica de EVOO a partir das concentrações de REE.

Além disso, requer estudos mais apurados avaliando outros fatores que possam influenciar na concentração do REE presentes no EVOO a partir da origem de produção, como o clima, meio de cultivo, ou até mesmo processo de extração. Estudos direcionados para a identificação das espécies que os REE estão presentes no azeite de oliva, podem ser de grande importância para distinguir a origem desses elementos no azeite, se são provenientes de processos naturais a partir da origem geográfica ou do processo de produção.

Estudos sobre a quantificação dos REE constataram que tais analitos estão presentes em baixas concentrações em amostras de EVOO (ng g^{-1}), com exemplos dos resultados apresentados por Benincasa *et al.* (2007) (0,003 a $0,33 \text{ ng g}^{-1}$) e por Pošćić *et al.* (2020) ($0,0005$ a $0,033 \text{ ng g}^{-1}$) (BENINCASA *et al.*, 2007; POŠĆIĆ *et al.*, 2020). Para a determinação de REE em baixas concentrações, é necessária a decomposição de elevada massa de amostra (idealmente acima de 1 g) (DRUZIAN, 2016).

Considerando que a matriz de azeite de oliva é de difícil decomposição por apresentar compostos resistente ao ataque ácido, como por exemplo o ácido linoleico,

requer maior volume de HNO_3 $14,4 \text{ mol L}^{-1}$ (DRUZIAN *et al.*, 2016; ANSCHAU *et al.*, 2019). Como exemplo da relação massa da matriz e volume de ácido concentrado, Druzian *et al* (2016) utilizaram 8 mL de HNO_3 $14,4 \text{ mol L}^{-1}$ para decomposição de 1 g de amostra de petróleo (DRUZIAN *et al.*, 2016).

Além disso, a determinação dos REE por ICP-MS em concentrações significativamente baixas pode ser facilmente afetada por interferências espectrais, devido à presença de carbono e metais alcalinos ou alcalino-terrosos, bem como por interferências não espectrais provenientes da RA presente nos digeridos. Assim, para permitir a determinação dos REE na faixa de ng g^{-1} sem interferências significativas de C e RA, é necessário que o método utilizado possibilite a eliminação do C da matriz de difícil decomposição, como o EVOO, utilizando a menor quantidade possível de ácido (DUBUISSON *et al.*, 1998; DRUZIAN *et al.*, 2016; SILVA *et al.*, 2018).

2.3 MÉTODO DE PREPARO DE AMOSTRAS PARA DECOMPOSIÇÃO DE AZEITE DE OLIVA

Considera-se a etapa de preparo de amostras como a etapa mais crítica dentro da sequência analítica para determinação elementar, pois há maior chance de contaminação, como também demanda mais tempo. Idealmente requer uma condição que utilize menor quantidade de reagentes, menor tempo de preparo possível, de acordo com complexidade da matriz, e uma decomposição de massa significativamente elevada, de forma eficiente, capaz de viabilizar a quantificação de analitos que estejam em baixos níveis de concentrações (KRUG e ROCHA, 2019).

Considerando que os REE estão significativamente em baixas concentrações em amostras de EVOO, necessita de meios para eliminação completa de interferentes, ou que a fração das interferências que restar não afete significativamente a etapa de determinação dos REE. Com isso, a utilização de frascos de quartzo e ou de politetrafluoretileno (PTFE), bem como redução do volume de reagentes, torna-se ideal para a diminuição da possibilidade de contaminação (KRUG e ROCHA, 2019). Esses fatores favorecem a obtenção de menores valores de brancos e, conseqüentemente, possibilita a determinação de REE em baixas concentrações em EVOO.

O método empregado no preparo de amostras oleosas, dentre elas o EVOO, visa deixar a amostra em condições adequadas, em solução, para que sejam compatíveis com sistemas de introdução nos equipamentos, como os espectrômetros (ICP OES e ICP-MS). Além disso, a sequência do método utilizado precisa ser eficiente na eliminação da concentração de DOC, deve resultar em digeridos de amostra com RA que não interfira na etapa de determinação e deve ser representativa da amostra original (PEREIRA, J. S. F. *et al.*, 2014).

Sistemas abertos podem ser empregados para decomposição de EVOO ou demais matrizes oleosas. A decomposição pode ser via seca em forno mufla ou via úmida em bloco digestor. Além de sistema abertos, os métodos em sistemas fechados podem ser decomposição por combustão empregando radiação micro-ondas e a decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas (PEREIRA, J. S. F. *et al.*, 2014; DALLA NORA *et al.*, 2017; ANSCHAU *et al.*, 2019; DRUZIAN, 2021a).

2.3.1 Sistemas abertos para decomposição de óleo

A utilização de mecanismo via seca em sistema aberto utilizando mufla para a decomposição de azeite de oliva não há risco de perda dos REE por volatilização, uma vez que temperatura de ebulição (TE) dos REE são maiores que 1000 °C (LIDE, 2005) e a temperatura utilizada na mufla para a eliminação da matriz orgânica é em torno de 400 a 600 °C. Entretanto, considerando que a amostra de azeite de oliva apresenta densidade em torno de 84 mm²/cm a 20 °C (ANDRADE *et al.*, 2017), essa característica da viscosidade e fluidez pode favorecer a projeção da amostra quando estiver em condições de rápido aquecimento.

Para evitar a possibilidade de projeção da amostra, menor temperatura na mufla ou etapa prévia de calcinação da amostra de EVOO, o que demandaria maior tempo nesta etapa de preparo, não sendo viável devido à redução da frequência de análise. Além disso, a exposição da amostra em sistema aberto pode favorecer contaminação cruzada e, conseqüentemente, maiores valores de brancos se comparados aos valores de branco obtidos a partir da decomposição em sistemas fechados (PEREIRA, J. S. F. *et al.*, 2014; DALLA NORA *et al.*, 2017; DRUZIAN, 2021a)

Outro sistema aberto que pode ser empregado para a decomposição de amostras oleosas é por via úmida com aquecimento convencional em bloco digestor.

Entretanto, para decomposição de amostra oleosa, como o EVOO, nesse sistema, há menor eficiência de decomposição se comparado aos sistemas fechados MAWD ou MAWD-SRC, pois a TE do HNO_3 se mantém constante (aproximadamente $121\text{ }^\circ\text{C}$) em sistemas abertos e em sistemas pressurizados, a ação oxidante do HNO_3 será maior. Isso considerando que a TE do HNO_3 aumenta com o aumento da pressão. Com isso, sistema aberto em bloco digestor não é ideal para decomposição de elevada massa de amostra oleosa (1 g ou mais). Além desses fatores, por ser um sistema aberto, há maior risco de contaminação se comparado aos sistemas fechados como MIC, MAWD ou MAWD-SRC (KORN *et al.*, 2010; KRUG e ROCHA, 2019). Com isso, métodos envolvendo sistemas fechados assistidos por radiação micro-ondas são maneiras atrativas para decomposição de massa em torno de 1 g de amostras oleosas (DRUZIAN *et al.*, 2016; ANSCHAU *et al.*, 2019)

2.3.2 Sistemas fechados para decomposição de óleo

A decomposição em sistema fechado assistida por radiação micro-ondas é uma alternativa viável para decomposição de amostras de EVOO, pois permitem redução de tempo de preparo, reduz o consumo de ácidos concentrados se comparado aos sistemas abertos, diminuindo os riscos de contaminação e perda dos analitos. Além disso, aumenta a eficiência de decomposição uma vez que é possível trabalhar com pressões elevadas (até 199 bar), bem como temperaturas elevadas (até $300\text{ }^\circ\text{C}$) usando MAWD-SRC (KORN *et al.*, 2010; DRUZIAN *et al.*, 2016; ANSCHAU *et al.*, 2019; LAUTENSCHLÄGER *et al.*, 2020).

Dentre os sistemas fechados, há a combustão iniciada por micro-ondas (MIC), em que a radiação micro-ondas passando pelo agente ignitor (solução de nitrato de amônio, NH_4NO_3) que está sobre a amostra. Quando a radiação passa pela solução, promove rotação dipolar e condução iônica da solução de nitrato de amônio (NH_4NO_3) favorecendo aquecimento instantâneo e, conseqüentemente, a ignição e combustão da amostra que fica sobre um suporte dentro de frascos de quartzo, em atmosfera de O_2 . Após a combustão e eliminação da matriz orgânica, os analitos são retidos em uma solução absorvedora (MESKO *et al.*, 2006; FLORES, 2014; LECLERCQ *et al.*, 2015).

Entretanto, o aumento da pressão interna desse sistema é gerado pela formação de CO₂ e outros gases provenientes da combustão da amostra durante a decomposição. Conseqüentemente, quanto maior for a fração orgânica da amostra, menor deverá ser a massa para MIC devido ao limite de pressão que o equipamento suporta (80 bar) (FLORES, 2014; KRUG e ROCHA, 2019). Assim, considera-se que para cada 1 mol de C oxidado a CO₂ requer 2 mols de HNO₃ (BIZZI *et al.*, 2021). Com o fator da pressão desse sistema ser mais limitada quando comparada ao MAWD-SRC, esse método torna-se inviável para decomposição de elevada massa de EVOO (acima de 1 g) visando determinação de REE em baixas concentrações.

Dentre de sistemas fechados, há a decomposição via úmida assistida por radiação micro-ondas (MAWD). Com esse método, a amostra é adicionada com ácido mineral (comumente o HNO₃) nos frascos de quartzo ou de politetrafluoretileno (PTFE), os quais são mantidos no rotor dentro da cavidade do forno. A radiação micro-ondas promove rotação dipolar e condução iônica e, conseqüentemente, gerando aquecimento, o que favorece a oxidação da matriz orgânica.

A massa de amostra a ser decomposta neste sistema está condicionada à resistência de pressão do sistema (MITRA e SONS, 2003; FLORES, 2014; KRUG e ROCHA, 2019). Portanto, considerando a menor temperatura e pressão do sistema MAWD se compara ao sistema MAWD-SRC, inviabiliza a decomposição de elevada massa de EVOO para determinação de REE na faixa de ng g⁻¹. Para decomposição de 1 g de EVOO ou mais, requer método capaz de alcançar elevada pressão e temperatura e que tenha maior frequência de análise se comparado aos sistemas abertos (LAUTENSCHLÄGER *et al.*, 2020).

Ademais, o desafio é realizar a decomposição de massa acima de 1 g de amostra oleosa, em que a concentração de carbono orgânico dissolvido (DOC) esteja no máximo 250 mg L⁻¹ para posterior determinação dos REE por ICP-MS (LECLERCQ *et al.*, 2015; DRUZIAN, 2021a).

Diante desses fatores, o uso da MAWD-SRC é uma alternativa viável para a decomposição de massa acima de 1 g de EVOO se comparado aos sistemas abertos, MIC ou MAWD, pois neste sistema é possível alcançar temperaturas de até 300 °C e pressões de 199 bar.

2.3.2.1 Decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas em câmara única de reação

A decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas em câmara única de reação (MAWD-SRC, sistema UltraWAVE[®]) é uma alternativa viável para decomposição de elevada massa de EVOO (1 g ou mais) pois alcança maiores temperaturas e pressões se comparadas com a temperatura e pressão da MAWD (sistema MultiWAVE 7000[®]). A temperatura e pressão de trabalho alcançada no sistema UltraWAVE[®] são até 300 e 199 bar e para o sistema MultiWAVE 7000[®] são 270 e 160 bar, respectivamente (OPERATOR MANUAL, 2013; ANTON PAAR, 2022).

O que possibilita elevada pressão na MAWD-SRC é o equilíbrio entre pressão de dentro dos frascos de quartzo com a cavidade da câmara de reação. Com pressões mais elevada na câmara, diminui a pressão de vapor do solvente, requerendo mais energia para que inicie a ebulição, aumentando assim a temperatura de ebulição (TE) do ácido, favorecendo a eficiência de oxidação e requerendo menor volume de ácido concentrado se comparado com método funcionando em pressão atmosférica (DRUZIAN *et al.*, 2016; ANSCHAU *et al.*, 2019; LAUTENSCHLÄGER *et al.*, 2020).

A alta eficiência de decomposição está diretamente relacionada com o aumento da TE do agente oxidante, como exemplo o HNO₃. Outro fator que altera a TE do ácido é a variação da pressão do meio reacional, pois aumentando a pressão, aumenta a TE do ácido e, conseqüentemente, favorecendo, o poder oxidativo do reagente. Proporcionando assim a degradação da matriz orgânica da amostra de forma eficiente (WASILEWSKA *et al.*, 2002; MITRA e SONS, 2003; FLORES, 2014; KRUG e ROCHA, 2019; LAUTENSCHLÄGER *et al.*, 2020).

Com o sistema MAWD-SRC é possível avaliar o aumento da temperatura e pressão em tempo real durante a decomposição. Com isso, facilita o ajuste de um programa de irradiação otimizado específico para matrizes de difícil decomposição e com massas elevadas. Fatores avaliados para se obter um programa de irradiação otimizado são: menor tempo possível, menor consumo de reagentes e maior eficiência de decomposição, de acordo com as características e massa da amostra utilizada (LAUTENSCHLÄGER *et al.*, 2020).

Entretanto, a decomposição de elevada massa de amostra usando MAWD-SRC (UltraWAVE[®]), entre outros sistemas fechados, está limitada à proporção da

matriz orgânica. Essa limitação ocorre devido à liberação de gases CO₂ durante a decomposição, somado aos vapores de água e gases NO_x (provenientes do ácido nítrico) e com o acúmulo de gás Ar, usado na pressurização inicial do sistema, pode-se alcançar os limites críticos de pressão. Outro fator é a possibilidade de otimização do programa de irradiação conforme a necessidade de decomposição de maior massa de amostra, evitando assim a intensa liberação de CO₂ e NO_x que possa promover a projeção da amostra, comprometendo a eficiência da decomposição. Além disso, com a otimização do programa de irradiação, visa redução de tempo e reagentes concentrados mantendo a mesma eficiência (PEREIRA, 2011; DRUZIAN *et al.*, 2016; ANSCHAU *et al.*, 2019; BIZZI *et al.*, 2021).

Usando MAWD-SRC para decomposição de 1 g de amostra de petróleo e posterior determinação de REE por USN-ICP-MS, Druzian *et al.* (2016) obtiveram LOQ variando de 0,1 a 2,0 ng g⁻¹. Além disso, obtiveram concentrações de carbono e acidez residual nos digeridos de 2345 mg L⁻¹ e 14,6%, respectivamente (DRUZIAN *et al.*, 2016). Infere-se a partir dos LOQ o uso viável da MAWD-SRC para a avaliação da decomposição de 1 g de EVOO para a determinação de REE em baixas concentrações.

2.4 TÉCNICAS DE DETERMINAÇÃO DE REE EM ÓLEO

As técnicas utilizadas para determinação de REE incluem fluorescência de raios-X (XRF) (EL-TAHER, 2012), análise por ativação neutrônica (NAA) e as técnicas espectrométricas. A XRF, por ser uma técnica baseada em excitação eletrônica, pode ter maior interferências espectrais para analitos com elevado número atômico e isso reflete nos LOQ elevados (EL-TAHER e ABDELHALIM, 2014). A NAA é um meio atrativo por ser uma técnica não destrutiva e que necessita de pequena quantidade de amostra (aproximadamente 0,5 µg), no entanto requer um reator nuclear, o que limita o acesso para a maioria dos laboratórios, além de custo elevado e geração de lixo radioativo (KAYASTH e SWAIN, 2004; BULSKA *et al.*, 2012; EL-TAHER, 2012). Entre as técnicas baseadas em plasma estão ICP OES e a ICP-MS, sendo que a ICP-MS se destaca por obter menores LOQ em relação as demais técnicas (DAMAK *et al.*, 2021).

A ICP-MS tem sido amplamente utilizada como técnica para determinação de REE, pois possibilita obter LOQ na faixa de ng g^{-1} . Além disso, é possível utilizar diferentes sistemas de introdução de amostras visando melhorar a taxa de introdução, como o nebulizador ultrassônico (USN) e sistemas de amostragem direta de sólidos, como vaporizadores eletrotérmicos (ETV) (DRUZIAN *et al.*, 2016; SILVA *et al.*, 2018; DAMAK *et al.*, 2021).

A introdução de amostra em solução, como os digeridos após MAWD-SRC, no espectrômetro pode ser com PN ou USN. Porém, o PN não é viável quando se pretende determinar REE em baixas concentrações devido às interferências poliatômicas, como a formação de óxidos e hidróxidos. Uma forma de reduzir essa limitação é pelo uso de um nebulizador ultrassônico com sistema de dessolvatação, o qual possibilita a redução do solvente introduzido no plasma através de aquecimento e resfriamento. Outra vantagem é a formação de um aerossol fino, gerado quando a solução entra em contato com uma superfície em constante vibração ocasionada pelas ondas ultrassônicas geradas de um cristal piezoelétrico, com frequência entre 0,2 a 10 MHz). Utilizando o USN, é possível obter uma taxa de introdução de amostra significativamente maior, cerca de 20%, em comparação com o sistema de PN, que varia de 3% a 5%. Isso proporciona a obtenção LODs e limites de quantificações (LOQ) mais baixos (BRENNER *et al.*, 1995; MONTASER *et al.*, 1998; PINTO *et al.*, 2015; DRUZIAN *et al.*, 2016; SILVA *et al.*, 2018).

Além das interferências provenientes do excesso de solvente no plasma, a concentração de DOC dos digeridos interfere significativamente no sinal analítico para os REE a partir de 250 mg L^{-1} . Outros fatores provenientes da amostra podem provocar supressão de sinal dos REE durante a determinação por ICP-MS. Exemplos são os elementos facilmente ionizáveis como Na, K, Ca e Mg, em que começam a interferir significativamente quando as concentrações estão acima de 50 mg L^{-1} de Na e K, 75 mg L^{-1} de Ca e 100 mg L^{-1} de Mg e Fe (DRUZIAN, 2021a).

O efeito da concentração de HNO_3 do digerido final pode afetar significativamente a intensidade dos sinais de REE a partir de 1 mol L^{-1} (BRENNER *et al.*, 1995). Outro estudo realizado por Pereira (2011) constatou que até $1,4 \text{ mol L}^{-1}$ de HNO_3 , o que equivale até 10% (v/v) de acidez, não promoveu supressão da intensidade dos REE determinados por UNS-ICP-MS (PEREIRA, J. S. F *et al.*, 2014).

Assim, está evidenciado que a etapa de preparo de amostra é uma etapa crítica a fim de obter digeridos em condições que não possuem interferências de C ou acidez durante a determinação em técnica como ICP-MS, minimizando as interferências durante a etapa de determinação, além de prezar pelo menor consumo de reagentes e, conseqüentemente, pela redução da geração de resíduos, bem pela redução do tempo de preparo.

Outro fator que merece destaque quando se trata da determinação por ICP-MS dos REE, são as interferências poliatômicas. Além da formação de óxidos e hidróxidos, os REE podem se combinar entre si, resultando em uma razão massa carga (m/z) mais elevada, o que pode interferir nos resultados de REE com maior m/z . No anexo A estão apresentadas as possíveis interferências poliatômicas provenientes da recombinação entre os REE, bem como os REE mais abundantes (DULSKI, P., 1994; MAY e WIEDMEYER, 1998; PERKINELMER SCIEX, 2008).

2.4.1 Determinação de REE em azeite de oliva

No estudo realizado por Aceto *et al.* (2019), foi utilizada a ICP-MS com cela de colisão para a determinação de REE em amostras de EVOO coletadas no noroeste da Itália, utilizando essa ferramenta para o estudo da autenticação geográfica do EVOO através da relação entre as proporções de REE presentes no EVOO com as proporções presentes nas azeitonas, folhas de oliveira e do solo de origem. Os autores utilizaram a MAWD como método de preparo para a decomposição de 0,4 g de azeite. Para isso, foram adicionados 7 mL de HNO₃ concentrado e 1 mL de H₂O₂ 30% (v/v) durante 30 minutos até 200 °C e permanência nessa temperatura por 15 minutos. Entretanto, não foram relatadas as concentrações de carbono orgânico dissolvido (DOC) e acidez residual (RA) dos digeridos, bem como outras possíveis interferências provenientes da matriz pela presença de elementos do grupo dos metais alcalinos e alcalino-terrosos, que podem interferir diretamente no sinal analítico utilizando técnica de ICP-MS (ACETO *et al.*, 2019).

Outro estudo utilizando a decomposição MAWD para decompor 0,5 g de azeite realizado por Benincasa *et al.* (2007) também determinaram Y, Sm, Eu, Gd em azeite de oliva por ICP-MS, em que as concentrações dos REE variaram de 0,003 ng g⁻¹ a 0,33 ng g⁻¹, entretanto a variação dos valores de RSD foram extremamente elevados,

variando de 0 a 82%. Além disso, não foi relatado as concentrações de DOC e RA dos digeridos (BENINCASA *et al.*, 2007).

Outra pesquisa determinando REE foi realizada por Damak *et al.* (2021), após extração assistida por ultrassom (UAE) foi feita a determinação de La, Ce, Pr, Eu, Ho e Lu utilizando ICP-MS, obtendo-se concentrações variando de 0,1 ng g⁻¹ a 4,1 ng g⁻¹. No entanto, não foram abordadas as características das amostras após a extração, em relação às concentrações de DOC e RA para introdução da amostra no ICP-MS (DAMAK *et al.*, 2021).

Além desses trabalhos, na Tabela 1 estão apresentados, de forma resumida, os trabalhos que utilizaram técnicas espectrométricas para determinação de REE em azeite de oliva.

Tabela 1 – Métodos analíticos utilizados para a determinação de REE em amostras de azeite de oliva.

Método	Amostra	Procedimento	Determinação	Referências
MAWD	EVOO	0,4 g de EVO foi adicionado em recipientes de PTFE e digerido com 1 mL de H ₂ O ₂ a 30% e 7 mL de HNO ₃ 14,4 mol L ⁻¹ dentro do sistema de micro-ondas (Milestone, Sorisole, Itália), com o aumento da temperatura de 25 °C para 200 °C em 30 minutos e mantendo-a constante por 15 minutos. A solução resultante foi aferida com água até 50 mL. LOQ: não informado.	ICP-MS	(ACETO <i>et al.</i> , 2019)
MAWD	VOO	Foi pesado 0,5 g de azeite de oliva em um frasco de propileno. A decomposição foi realizada adicionando 5 mL HNO ₃ 14,4 mol L ⁻¹ para cada amostra de azeite. Foi utilizado um forno de micro-ondas (Milestone, MLS-1200, Itália), com um programa de irradiação que consistiu de 6 etapas, aplicando potência de 250 W a 700 W por 31 minutos, mais o tempo de resfriamento. Não foi informado a temperatura máxima durante a decomposição das amostras. Posteriormente os digeridos foram aferidos com água até 20 mL. LOQ: 0,009 – 0,12 ng g ⁻¹ .	ICP-MS	(BENINCASA <i>et al.</i> , 2007)
MAWD	VOO	0,5 g de VOO foi previamente homogeneizado. Foram adicionados 5 mL de HNO ₃ 14,4 mol L ⁻¹ . Foi utilizado um forno micro-ondas (Milestone, MLS-1200, Itália), com um programa de irradiação composto por 6 etapas, aplicando potência de 250 W a 700 W por 31 minutos, mais o tempo de resfriamento. Não foram informadas as condições de pressão e temperatura durante a decomposição da amostra. Posteriormente os digeridos foram aferidos com água até 30 mL. LOQ: La 56 ng g ⁻¹ .	ICP-MS	(BENINCASA <i>et al.</i> , 2012)
MAWD	EVOO	Foi pesado 0,5 g de EVOO e adicionado sobre a amostra 5 mL de HNO ₃ 14,4 mol L ⁻¹ , 3 mL de H ₂ O ₂ 30% (v/v) e 1 mL de HCl 12 mol L ⁻¹ . A decomposição da amostra foi realizada utilizando um forno de micro-ondas Anton Paar (Anton Paar, Multiwave 3000 SOLV, Áustria) com programa de irradiação de 15 minutos até 280 °C e mantido nessa temperatura por 20 minutos, seguidos de 15 minutos de resfriamento. Posteriormente os digeridos foram aferidos com água até 25 mL. LOQ: não informado.	ICP-MS	(SAYAGO <i>et al.</i> , 2018)
MAWD	VOO	Foi realizada a decomposição de 0,5 g de azeite de oliva mantido com 5 mL de HNO ₃ 14,4 mol L ⁻¹ por 30 minutos e em seguida levado ao forno micro-ondas (Mars, EUA), o qual não foi detalhado o programa de irradiação. Por fim, os digeridos foram aferidos com água até 20 mL. LOD: 0,01 – 0,8 ng g ⁻¹ .	ICP-MS	(FARMAKI <i>et al.</i> , 2012)

(Continuação)

EXTRAÇÃO	EVOO	Foi realizada uma extração do azeite a partir do bagaço das azeitonas. Para isso, 15 mL de azeite foram centrifugados a 3500 rpm por 5 minutos e coletado o sobrenadante. Posteriormente, foi realizada uma extração ácida com ultrassom constituída de 5 etapas (i) 15 mL de uma mistura ácida (0,2% (v/v) de HCl 10 mol L ⁻¹ , 2% (v/v) de HNO ₃ 14,4 mol L ⁻¹), (ii) agitação utilizando vortex por 30 segundos, (iii) sonicação em um banho ultrassônico (1100 W, 50 Hz) durante 5 minutos, (iv) centrifugação da mistura a 3500 rpm durante 5 minutos, (V) remoção da fase oleosa (fase superior) e determinação dos analitos na fase aquosa. LOD: 0,5 pg g ⁻¹ .	ICP-MS	(POŠĆIĆ <i>et al.</i> , 2020)
EXTRAÇÃO e MAWD	EVOO	20 mL de EVOO recém extraídos foram centrifugados a 3500 rpm por 5 minutos para remoção de qualquer resíduo proveniente do bagaço. Em seguida, foi pesado 0,05 g do sobrenadante (EVOO) e adicionado 5 mL de HNO ₃ 14,4 mol L ⁻¹ e 1 mL de água. Foi utilizado um forno micro-ondas (Multiwave GO, Anton Paar, Áustria, potência 850 W), com um programa de irradiação foi de 20 minutos de rampa até 180 °C e permanência por 10 minutos nessa temperatura. LOD: 0,01 - 370 ng g ⁻¹ .	ICP-MS	(POŠĆIĆ <i>et al.</i> , 2019)
EXTRAÇÃO	EVOO	15 g de EVOO foram adicionados em um frasco cônico de polipropileno. Em seguida, foram adicionados 15 mL de uma mistura ácida (0,1% de HNO ₃ 14,4 mol L ⁻¹ e 0,2% de HCl 12 mol L ⁻¹) e agitou-se com vortex por 30 segundos. O processo de extração consistiu em 3 etapas: (i) banho ultrassônico por 5 minutos (170 W), (ii) centrifugação por 5 minutos a 4000 rpm e, (iii) separação das fases, removendo-se o sobrenadante e coletando-se a solução aquosa para posterior determinação. LOD: 0,0002 – 0,02 ng g ⁻¹ .	ICP-MS	(CAMIN <i>et al.</i> , 2010)
EXTRAÇÃO	Azeite de oliva	10 g do azeite de oliva foram previamente centrifugados em 3000 rpm e o sobrenadante foi transferido para um frasco de polipropileno de 50 mL. Em seguida, foi adicionado 10 mL de uma mistura ácida preparada com proporções de 6,7% (v/v) de H ₂ O ₂ 30% (v/v), 1% de HNO ₃ 14,4 mol L ⁻¹ e 0,2% de HCl 10 mol L ⁻¹ . A mistura foi agitada com um agitador vortex (tempo de agitação não especificado) e em seguida mantida em banho com ultrassom por 15 minutos a 26 °C (300 W). Posteriormente, a mistura foi centrifugada, a fase oleosa foi removida e com a fase aquosa, realizou-se a determinação dos analitos. LOD: não informado.	ICP-MS	(DAMAK <i>et al.</i> , 2021)

MAWD: Digestão via úmida assistida por radiação micro-ondas, EVOO: Azeite de Oliva Extra Virgem, VOO: Azeite de Oliva virgem, ICP-MS: Espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado.

Fonte: Autor (2022).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Neste capítulo estão descritos os reagentes, equipamentos e as amostras utilizadas para o desenvolvimento deste trabalho, bem como os parâmetros avaliados na otimização do método de decomposição por MAWD-SRC e para as determinações dos REE em amostras de azeite extra virgem por USN-ICP-MS. Estão descritos também os procedimentos utilizados para avaliação da exatidão do método proposto.

3.1 INSTRUMENTAÇÃO

Para o método proposto, foi utilizado o equipamento de MAWD-SRC (UltraWAVE®, Milestone, Sorisole, Itália), que possui uma câmara de reação única onde é introduzido um recipiente de politetrafluoretileno (PTFE) com capacidade de 1 L. Além disso, dispõe de um suporte de PTFE onde os frascos contendo as amostras e ácido são alocados. Os frascos utilizados para decomposição das amostras foram de quartzo com volume de 40 mL contendo tampas de PTFE com orifício para manter em equilíbrio as pressões internas dos frascos com a pressão interna da cavidade. Toda a cavidade é revestida e selada com aço inoxidável, o que garante maior resistência à pressão se comparado com sistemas de MIC ou MAWD.

Para o método de referência, foi utilizado o método de MAWD, que usa um forno com radiação micro-ondas (modelo *Synthos 3000™*, Microwave Sample Preparation System, Anton Paar, Áustria) com capacidade máxima para 168 frascos. As condições máximas de temperatura, pressão e potência recomendadas pelo fabricante desse forno são 240 °C, 70 bar e 1400 W, respectivamente. Foram utilizados frascos de PTFE com capacidade de 100 mL.

A determinação dos REE foi feita usando um espectrômetro de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS, Elan DRC II, Perkin-Elmer Sciex, Canadá). Este espectrômetro é equipado com uma tocha de quartzo e um tubo injetor de quartzo com 2 mm de diâmetro interno, além de um separador de massas do tipo quadrupolo.

Os parâmetros instrumentais do ICP-MS foram avaliados utilizando uma solução contendo 1 µg L⁻¹ de In e Ce, e 10 µg L⁻¹ de Ba. Assim, foram monitoradas a sensibilidade do equipamento, formação de óxidos e íons de carga dupla utilizando a intensidade dos sinais de ¹¹⁵In⁺, ¹⁴⁰Ce⁺ e ¹⁵⁶CeO⁺, ¹⁴⁰Ba⁺ e ⁶⁹Ba⁺⁺, respectivamente.

O ICP-MS foi equipado com nebulizador ultrassônico (U6000AT+, CETAC Technologies, EUA) contendo um transdutor piezoelétrico, com frequência variando entre 50 – 60 Hz, além de um sistema de aquecimento de 140 °C e resfriamento até -5 °C, com vazão de amostra de 2,5 mL min⁻¹. A amostra é bombeada por um capilar de Tygon® (1,11 mm d.i, 95601-30, Ismatec, Cole Parmer, EUA) conectado na bomba peristáltica do espectrômetro de massa.

A verificação da eficiência de decomposição das amostras do método de MAWD-SRC foi feita pela determinação do DOC utilizando o espectrômetro de

emissão ótica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) (Optima 4300 DV, Perkin Elmer, EUA), com modo de vista axial (modelo Ciros CCD, Spectro Analytical Instruments, Alemanha). Esse equipamento é equipado com uma câmara de nebulização de duplo passo (tipo Scott), e um nebulizador GemCone (Glass Expansion Inc. Itália). As condições operacionais do ICP OES e do ICP-MS estão apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2 - Condições operacionais de ICP OES, USN-ICP-MS para determinação multielementar.

Parâmetros	ICP OES	USN-ICP-MS
Potência do gerador de rádio frequência, W	1400	1300
Vazão de argônio principal, L min ⁻¹	15	15
Vazão de argônio auxiliar, L min ⁻¹	0,2	1,20
Vazão de argônio do nebulizador, L min ⁻¹	0,7	1,02
Nebulizador	Concêntrico	Ultrassônico
Comprimentos de ondas - ICP OES, nm	C ^I (193,030), Y ^{II} (371,029), Mg (280,270), Ca (317,933), Na (589,592), K (766,491)	
Isótopos - ICP-MS, <i>m/z</i>	⁸⁹ Y ⁺ , ¹³⁹ La ⁺ , ¹⁴⁰ Ce ⁺ , ¹⁴¹ Pr ⁺ , ¹⁴⁶ Nd ⁺ , ¹⁵² Sm ⁺ , ¹⁵³ Eu ⁺ , ¹⁵⁹ Tb ⁺ , ¹⁶⁰ Gd ⁺ , ¹⁶³ Dy ⁺ , ¹⁶⁵ Ho ⁺ , ¹⁶⁷ Er ⁺ , ¹⁶⁹ Tm ⁺ , ¹⁷⁴ Yb ⁺ , ¹⁷⁵ Lu ⁺ .	

^I Linha de emissão atômica. ^{II} Linha de emissão iônica.

Fonte: Druzian (2016), Silva (2018), Anschau *et al.* (2019)

A escolha da razão massa carga de cada REE foi baseada nas menores interferências possíveis relacionadas às espécies de maior abundância, conforme anexo A (DULSKI, P., 1994; MAY e WIEDMEYER, 1998; PERKINELMER SCIEX, 2008).

Para determinar a RA dos digeridos provenientes da decomposição por MAWD-SRC, foi utilizado um sistema de titulação automática (836, Metrohm, Suíça) equipado com um módulo de agitação automática (803 Ti Stand, Metrohm) e um eletrodo de pH combinado (6.0262.100, Metrohm).

3.2 REAGENTES

A água usada na etapa de preparo ou determinação foi previamente destilada em um destilador, deionizada em uma coluna de troca iônica e purificada em sistema Milli-Q® tendo como resistividade igual a 18,2 MΩ cm (Millipore Corp. Bedford, USA).

O HNO₃ 14,4 mol L⁻¹ PA (65%, 1,4 kg L⁻¹, Sigma Aldrich, EUA) utilizado na decomposição das amostras de EVOO foi destilado abaixo da temperatura de ebulição em um sistema de destilação de quartzo (DuoPUR, Subboiling Destillation System, Milestone, Itália).

A calibração do ICP-MS foi realizada a partir da solução de referência multielementar (CCS-1, Inorganic Ventures, EUA) com concentrações que variaram de 5 ng L⁻¹ até 500 ng L⁻¹ em HNO₃ 5%.

Para a geração de plasma, nebulização e gás auxiliar, foi utilizado argônio (Ar) com pureza de 99,996% (White Martins, Brasil). Para a pressurização do sistema MAWD-SRC, foi utilizado Ar comum com 99,5% de pureza (White Martins, Brasil).

Uma solução de referência de 10000 mg L⁻¹ de C foi preparada a partir do ácido cítrico (Sigma-Aldrich, EUA) e utilizada para preparar as soluções de calibração variando de 5 a 1000 mg L⁻¹ em HNO₃ 5% (v/v). O ítrio (1 mg L⁻¹) foi utilizado como padrão interno nas soluções de calibração e nas diluições das amostras. Tanto as soluções de calibração quanto as diluições das amostras foram purgados com gás Ar por 2 minutos a uma vazão de 1 L min⁻¹.

Utilizou-se da solução multielementar (SCP33 MS PlasmaCAL, Canadá) para o preparo das soluções de calibração com concentrações variando de 5 a 500 µg L⁻¹ em HNO₃ 5% (v/v), para a calibração do ICP OES e posterior determinação de Na, K, Ca e Mg.

Para a determinação da acidez residual nas soluções das amostras após MAWD-SRC e MAWD, aproximadamente 100 mg das soluções resultantes da decomposição foram diluídas em 20 mL de água e tituladas com uma solução de KOH 0,1 mol L⁻¹ previamente padronizada biftalato de potássio.

Foi utilizado H₂O₂ 30% (v/v) (Êxodo Científica, Brasil) para decomposição da amostra de EVOO pelo MAWD.

3.3 AMOSTRAS DE EVOO E MÉTODOS DE PREPARO

3.3.1 Amostras de EVOO

Foram adquiridas quatro amostras distintas de EVOO no comércio local da cidade de Santa Maria (RS), que foram produzidas e importadas de diferentes países, e uma amostra produzida na região Sul do país. As amostras foram identificadas como Amostra-A (Portugal), Amostra-B (Espanha), Amostra-C (Brasil) e Amostra-D (Líbano).

3.3.2 Decomposição de EVOO por MAWD-SRC

Para a seleção das condições iniciais do programa de irradiação e otimização do método, foi selecionada a amostra que teve maior concentração de REE. O preparo de amostra empregado para avaliar as concentrações de REE foi realizado utilizando o método adaptado de Enders *et al.* (2020), que foi utilizado para a decomposição de petróleo. Foram decompostos gradativamente 0,5, 0,75 e 1,0 g de EVOO por MAWD-SRC para avaliação do aumento da pressão. A sequência da decomposição consistiu em adicionar 6 mL de HNO_3 14,4 mol L^{-1} na amostra, seguida de uma etapa de pré-digestão utilizando chapa de aquecimento a cerca de 100 °C, durante 50 minutos. Após esse período os frascos foram alocados no sistema UltraWAVE® e a cavidade pressurizada até 40 bar com gás Ar, e o programa de irradiação foi iniciado com 5 minutos a 90 °C, 15 minutos a 110 °C, permanecendo por 10 minutos a 110 °C, 10 minutos a 120 °C, 15 minutos a 130 °C, 15 minutos a 250 °C, permanecendo por 15 minutos a 250 °C (ENDERS, 2020).

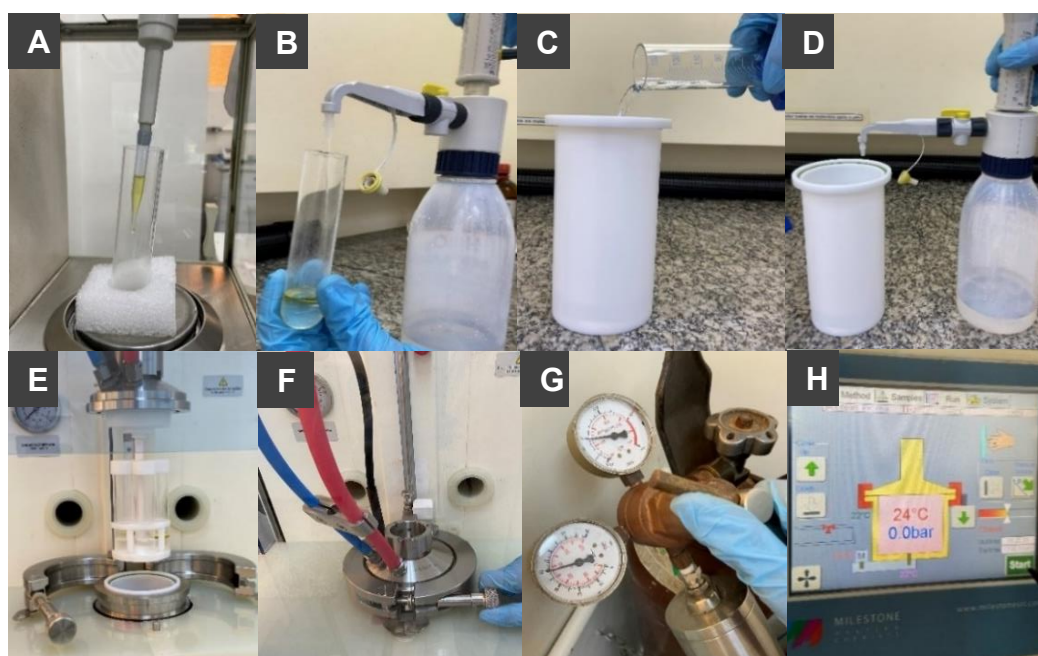
Com MAWD-SRC, sistema UltraWAVE®, foram realizadas etapas de descontaminação dos frascos de quartzo de 40 mL, adicionando 6 mL de HNO_3 14,4 mol L^{-1} PA dentro de cada frasco. No frasco de PTFE foi inserido 130 mL de água e 5 mL de HNO_3 14,4 mol L^{-1} PA, a qual serviu para intensificar o aquecimento do sistema interno durante a passagem da radiação micro-ondas. Posteriormente, esse frasco contendo a solução ácida foi alocado na câmara única de reação do equipamento, seguido do isolamento da cavidade e pressurização com 25 bar de gás argônio e iniciado o programa de irradiação para descontaminação. O programa de irradiação para descontaminação consiste em uma rampa de aquecimento de 10

minutos até 250 °C e 15 minutos à 250 °C, aplicando potência de 1500 W. Após o resfriamento, foi retirado o resíduo ácido, lavados os frascos com água e secados com ar comprimido.

A otimização do programa de irradiação usando MAWD-SRC foi realizada utilizando um volume fixo de 6 mL de HNO_3 14,4 mol L^{-1} em diferentes massas de amostra, aumentando o tempo de programa para possibilitar a decomposição de uma maior massa de amostra. As massas de amostra de EVOO decompostas gradativamente foram 1,0 g, 1,5 g, 1,75 g e 2,0 g de EVOO para otimização do método MAWD-SRC. Na Figura 1 está apresentada a sequência dos procedimentos desde a pesagem da amostra até o início do programa de irradiação.

Outras condições fixadas para as avaliações foram a adição de 130 mL de água e 5 mL de HNO_3 14,4 mol L^{-1} no frasco de PTFE (1 L). Em cada condição de decomposição, o sistema foi selado, pressurizado com gás argônio até 40 bar e em seguida acionado o programa de irradiação. Todas as avaliações foram feitas com as mesmas condições de potência, mantendo até 1500 W, bem como com a temperatura e pressão constantes, a 270 °C e 160 bar, respectivamente.

Figura 1 – Sequência de etapas para a decomposição de amostra de EVOO utilizando MAWD-SRC.



A - Pesagem do EVOO nos frascos de quartzo de 40 mL, B – Adição de 6 mL de HNO_3 14,4 mol L^{-1} sobre o EVOO, C – Adição de 130 mL de água no frasco de PTFE (1 L), D – Adição de 5 mL de HNO_3 14,4 mol L^{-1} no frasco de PTFE (1 L), E – Frascos colocados no sistema UltraWAVE, F – Isolamento da câmara única de reação do sistema, G – Pressurização da linha com Ar, H – Início da pressurização seguida do programa de irradiação.

Fonte: Autor (2022)

O primeiro programa de irradiação na MAWD-SRC consistiu em (i) 5 minutos de rampa até 110 °C, (ii) permanência por 20 minutos a 110 °C, (iii) 20 minutos até 270 °C, (iv) permanência por 20 a 270 °C e (v) resfriamento por 25 minutos. Através dessas condições iniciais do programa, foram avaliadas as etapas 1, 2 e 3 do programa de irradiação com objetivo de melhorar a eficiência de decomposição da amostra em menor tempo possível em cada etapa do programa, conforme será discutido no item 4.1. Os fatores avaliados foram os aspectos qualitativos dos digeridos, como aparência gordurosa, escura ou límpida, a ocorrência de projeção da amostra evidenciada com aspecto gorduroso nas tampas dos frascos de quartzo de 40 mL, bem como diferença significativa entre os volumes dos digeridos e os volumes dos brancos (contendo apenas HNO_3 14,4 mol L⁻¹). Além disso, foram avaliados os aspectos quantitativos, como a concentração de DOC e RA.

Com as condições otimizadas do programa de irradiação, foi avaliada a eficiência de decomposição em diferentes massas de EVOO (1, 1,5 e 2,0 g) e em diferentes volumes de ácido, sendo 6, 7 e 8 mL de HNO_3 14,4 mol L⁻¹.

A exatidão do método de MAWD-SRC foi avaliada com a adição de 6 µL da solução multielementar CCS-1 com concentração de 60 ng L⁻¹ dos REE, sobre as amostras dentro do frasco de quartzo. Em seguida, foram adicionados 8 mL de HNO_3 14,4 mol L⁻¹ para posterior decomposição usando o programa de irradiação otimizado. Por fim, os digeridos foram aferidos com água até 25 mL.

Outra forma de avaliar a exatidão foi utilizando o método MAWD, que já foi reportado na literatura como adequado para a decomposição de EVOO e determinação de REE. Posteriormente, foram comparados os resultados das concentrações dos REE obtidos com o MAWD-SRC e o MAWD. A otimização do programa de irradiação, o ensaio de recuperação, a massa da amostra e o volume de ácido concentrado avaliados no método proposto e utilizados no método de referência estão apresentados na Figura 2.

3.3.3 Decomposição de EVOO por MAWD

O método MAWD empregado para a decomposição de EVOO foi feito com base em trabalho desenvolvido por Aceto *et al.* (2019), adaptando apenas as condições iniciais em chapa de aquecimento (ACETO, 2019).

O preparo de amostra de EVOO para o método de referência usando MAWD, envolveu a pesagem de 0,4 g de EVOO em frascos de PTFE (100 mL), seguida da adição de 7 mL de HNO_3 14,4 mol L^{-1} , mantendo por 30 minutos em chapa de aquecimento a cerca de 100 °C, depois foi adicionado 1 mL de H_2O_2 30% (v/v) e aquecido por mais 15 minutos em chapa. Posteriormente, a mistura foi selada e levada ao rotor do sistema de micro-ondas (*Synthos*), em que foi acionado o programa de irradiação, consistindo de (i) 30 minutos até 200 °C, (ii) 15 minutos a 200 °C, aplicando potência de até 600 W, e (iii) 25 minutos de resfriamento. Posteriormente, os digeridos foram aferidos com água até 25 mL.

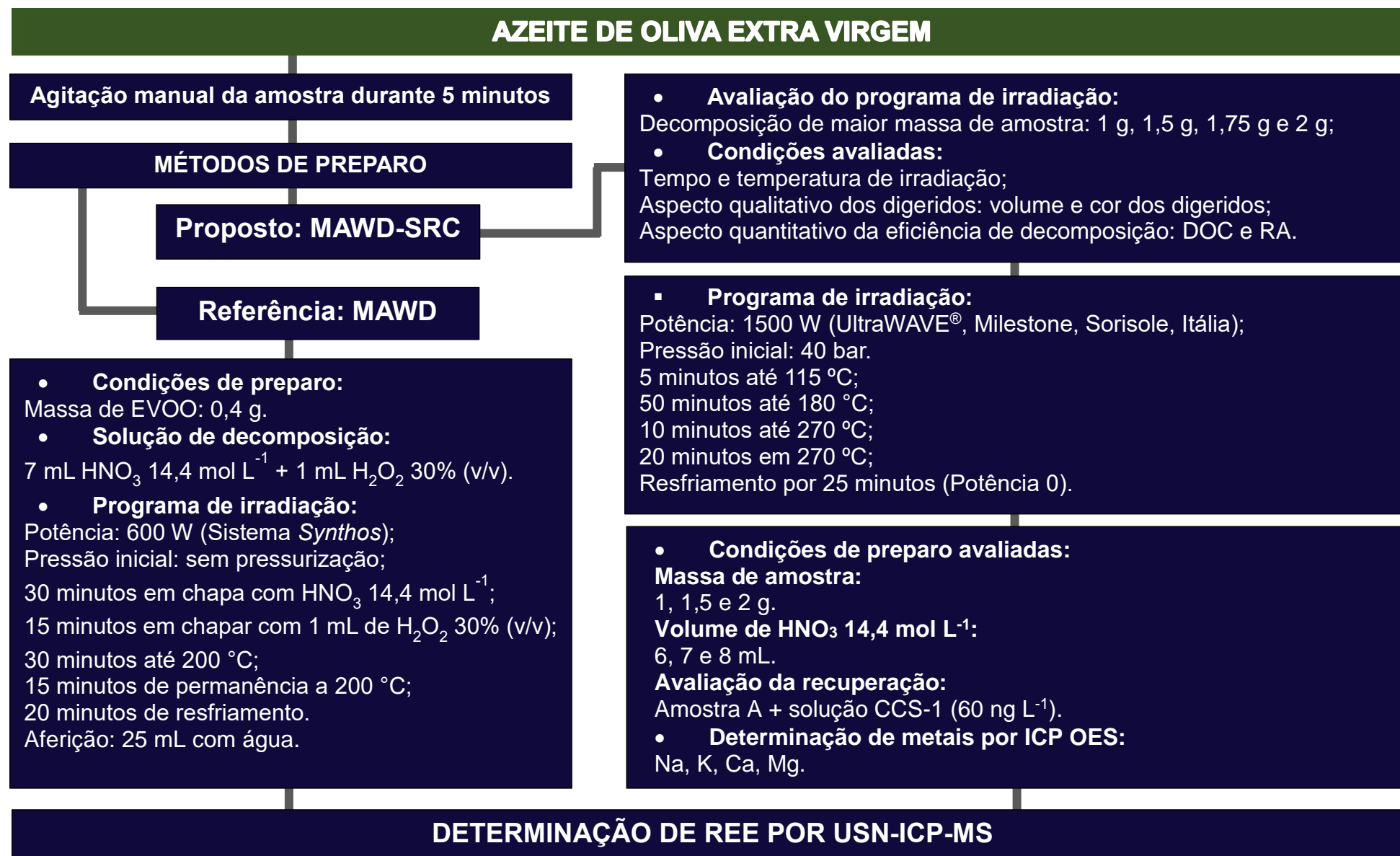
3.4 ANÁLISES DE DADOS

As avaliações foram realizadas a partir da aplicação de testes estatísticos entre os parâmetros investigados de DOC e RA e entre os métodos utilizados. Para essas avaliações, foi utilizado o *Software GraphPad InStat*, versão 3.0, 1997 (GraphPad InStat Software, EUA). Aplicou-se a análise de variância ANOVA para avaliar os resultados das concentrações de REE em diferentes concentrações de DOC e RA, e o teste *t-Student* para avaliações entre os resultados das concentrações obtidas pela MAWD-SRC e MAWD. Ambas as aplicações com nível de confiança de 95% para a comparação das médias ($n = 3$).

A estimativa dos valores LOQ foram baseados como recomendado pela União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC) (CURRIE, 1995) e Eurachem (MAGNUSSON e ÖRNEMARK, 2014), ou seja, $\text{LOQ} = 10 \times \text{SD} + \bar{X}$; onde SD é o desvio padrão de dez leituras de branco e \bar{X} é a média das dez leituras do branco. As dez leituras do branco por USN-ICP-MS foram realizadas utilizando o branco de uma das replicatas do procedimento sem a amostra e com as mesmas quantidades de reagentes do método proposto MAWD-SRC (8 mL de HNO_3 14,4 mol L^{-1}). Assim, para o método de referência MAWD, foram utilizados 7 mL de HNO_3 14,4 mol L^{-1} com 1 mL

de H₂O₂ 30% (v/v). Em ambos os métodos as soluções foram coletadas e diluídas para 25 mL com água. A massa máxima da amostra que pode ser decomposta pelo método MAWD-SRC e pelo método MAWD foi utilizada para estimar o LOQ em µg g⁻¹.

Figura 2 – Procedimentos e parâmetros utilizados para as avaliações dos métodos MAWD-SRC e MAWD.



4 APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Neste capítulo, estão apresentados e discutidos os resultados relacionados à otimização dos métodos de preparo de amostras de azeite de oliva extra virgem utilizando MAWD-SRC, como também estão apresentados e discutidos os parâmetros avaliados e otimizados para a determinação de REE por USN-ICP-MS.

4.1 OTIMIZAÇÃO DO PROGRAMA DE IRRADIAÇÃO UTILIZANDO MAWD-SRC E DETERMINAÇÃO DE REE EM EVOO POR USN-ICP-MS

Para o programa de irradiação, inicialmente foi realizada uma busca na literatura sobre o uso do equipamento MAWD-SRC como método de decomposição de amostras orgânicas empregando agentes oxidantes como o HNO_3 e H_2O_2 30% (v/v) em diferentes concentrações, bem como programa de irradiação com base nas características distintas de cada amostra, massa de amostra e as concentrações dos analitos. Dentre esses trabalhos, destacam-se o trabalho de Druzian *et al.* (2016), bem como de Anschau *et al.* (2019), pois realizaram a decomposição de elevada massa de amostras oleosas e de difícil decomposição, como o caso de 1 g de petróleo e 1g de óleos vegetais, respectivamente. Com base nesses trabalhos prévios, as condições iniciais utilizadas para a otimização do programa de irradiação empregando o método MAWD-SRC foram fixadas em 1 g de massa de amostra, 6 mL de HNO_3 14,4 mol L⁻¹ e uma pressão de 40 bar (DRUZIAN *et al.*, 2016; ENDERS *et al.*, 2020).

O programa de irradiação 1, conforme está apresentado na Tabela 3, foi configurado com 5 etapas. A primeira etapa foi criada para que o aumento da temperatura ocorresse de forma mais rápida, apresentando uma inclinação mais acentuada da rampa de aquecimento em relação à etapa 3, já que a temperatura nesta etapa é inferior à temperatura de ebulição do ácido. A segunda etapa, definida por um tempo de permanência, foi criada para permitir a ocorrência de oxidações prévias da amostra de forma mais lenta, reduzindo a matriz orgânica antes de prosseguir para temperaturas mais elevadas.

Tabela 3 - Programa de irradiação 1 utilizado para a decomposição de 1 g de EVOO por MAWD-SRC.

Etapa	Tempo, min	Condição de Programa	Temperatura, °C
1	15	Rampa	110
2	10	Permanência	110
3	20	Rampa	270
4	20	Permanência	270
5	25	Resfriamento	-

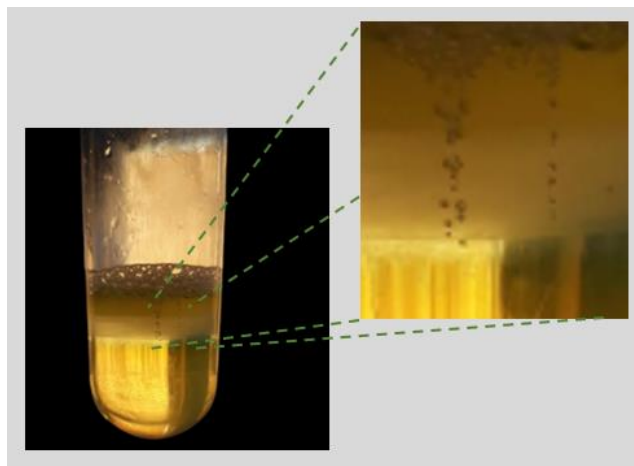
Fonte: Autor (2022).

Com a temperatura de permanência de 110 °C durante 10 minutos, na etapa 2, foi observado um aumento significativo na pressão após 5 minutos de rampa da etapa 3, que corresponde a 25 minutos de irradiação, quando a temperatura atingiu aproximadamente 140 °C, onde a pressão do sistema variou 15 bar em menos de 2 minutos. Depois, a pressão foi aumentada gradativamente conforme o aumento da temperatura, permanecendo em torno de 91 bar no tempo de permanência da etapa 4, utilizando 270 °C.

Essa variação significativa de pressão, formando um pico de pressão, possivelmente, ocorreu devido à formação dos gases CO₂, NO_x e vapores liberados instantaneamente quando a pressão de vapor das bolhas formadas na interface entre o ácido e o azeite superou as forças de coesão do meio de reação (ANSCHAU, 2019; BIZZI, 2021). Na Figura 3, estão apresentados os pontos de nucleação da formação dos gases na interface entre o HNO₃ 14,4 mol L⁻¹ (parte inferior) e o EVOO (parte superior), bem como uma camada intermediária mais clara em virtude da maior proporção de gases. A imagem apresentada na Figura 3 foi obtida após 18 minutos (135 °C) do programa de irradiação otimizado, conforme programa de irradiação 7.

Quando a liberação desses gases provenientes da amostra ocorre de forma muito intensa, agitando o meio reacional, pode favorecer a projeção da amostra para a parte superior do frasco, até a tampa de PTFE. Isso pode fazer com que uma parte do EVOO fique aderida na tampa, reduzindo o contato com o ácido e, conseqüentemente, a eficiência de decomposição.

Figura 3 - Pontos de nucleação da liberação dos gases CO₂ e NO_x na interface entre o HNO₃ 14,4 mol L⁻¹ e o EVOO.



Fonte: Autor (2022).

Após o programa de irradiação 1, foi observado aspecto gorduroso nas tampas dos frascos. Além disso, foi constatada uma redução significativa no volume dos digeridos da amostra, onde restaram apenas 2,5 mL dos 6 mL de HNO₃ 14,4 mol L⁻¹ adicionados antes de iniciar o programa de irradiação, indicando que ocorreu projeção da amostra e do ácido.

Considerando que as condições de rampa da etapa 1 e permanência da etapa 2, com temperatura de 110 °C durante 10 minutos, não foram suficientes para permitir a oxidação prévia e eliminar uma grande fração da matriz orgânica antes de alcançar temperaturas mais elevadas no sistema, foi configurada uma nova temperatura para as etapas 1 e 2 do programa de irradiação, conforme apresentado na Tabela 4.

Tabela 4 - Programa de irradiação 2 utilizado para a decomposição de 1 g de EVOO por MAWD-SRC.

Etapa	Tempo, min	Condição de Programa	Temperatura, °C
1	15	Rampa	120
2	10	Permanência	120
3	20	Rampa	270
4	20	Permanência	270
5	30	Resfriamento	-

Fonte: Autor (2022).

Com temperatura de 120 °C de permanência na etapa 2, foi observado que o aumento acentuado de pressão ocorreu após 18 minutos de irradiação, ou seja, 3 minutos após iniciada a etapa 2, em que a pressão foi de 48 a 61 bar, com uma variação de 13 bar. Esse fato pode ser atribuído às condições ajustadas no programa de irradiação 2, em que foi configurado uma temperatura de 10 °C mais elevada na etapa 2 em comparação com a mesma etapa do programa de irradiação 1. Isso favoreceu uma maior oxidação da amostra, promovendo a intensa liberação dos gases CO₂ e NO_x em menos tempo do programa de irradiação.

Essa variação da pressão na etapa 2 destaca a inviabilidade de usar o programa de irradiação 2 para a decomposição de maiores massas de EVOO, pois essa variação na pressão pode ser intensificada ainda mais durante a decomposição de maiores massas e favorecer a projeção da amostra.

Com isso, foi necessário alterar a temperatura de permanência da etapa 2, intermediária ao programa de aquecimento 1 e 2, conforme Tabela 5.

Tabela 5 - Programa de irradiação 3 utilizado para a decomposição de 1 g de EVOO por MAWD-SRC.

Etapa	Tempo, min	Condição de Programa	Temperatura, °C
1	15	Rampa	115
2	10	Permanência	115
3	20	Rampa	270
4	20	Permanência	270
5	30	Resfriamento	-

Fonte: Autor (2022).

Ao utilizar a temperatura de permanência de 115 °C na etapa 2 do programa de irradiação 3, foi observada uma significativa liberação dos gases CO₂ e NO_x durante a etapa 3, após 28 minutos de irradiação, quando a temperatura estava em torno de 149 °C e a pressão do sistema variou entre 48 e 66 bar. Durante a etapa 4 a pressão máxima alcançada foi de 90 bar, mantendo-se constante durante os 20 minutos de permanência.

Apesar da variação da pressão durante a decomposição de 1 g de EVOO com 6 mL de HNO₃ 14,4 mol L⁻¹ utilizando o programa de irradiação 1 e o programa de irradiação 3 tenham sido semelhantes, ocorrendo durante a etapa 3, foi observado que não ficou aspecto gorduroso na região interna da tampa após a decomposição de EVOO utilizando o programa de irradiação 3, ao contrário do que ocorreu após a decomposição utilizando o programa de irradiação 1.

Esse fato pode ser justificado pelo aumento de 5 °C na temperatura de permanência da etapa 2, de 110 °C do programa de irradiação 1 para 115 °C do programa de irradiação 3, que foi suficiente para a oxidação de uma fração maior da amostra. Além disso, não houve projeção da amostra como ocorreu utilizando o programa de irradiação 3, em que a temperatura de permanência da etapa 2 foi de 115 °C. Portanto, foi estabelecido a temperatura de 115 °C para etapa 2, como a mais adequada para a decomposição da amostra de EVOO por MAWD-SRC, garantindo uma oxidação gradual da amostra sem a ocorrência de projeção da mistura de amostra e ácido.

O tempo para a etapa 1 foi reduzido de 15 minutos para 10 minutos até alcançar a temperatura de 115 °, conforme apresentado na Tabela 6. Essa redução do tempo da etapa 1 ocorreu pois foi observado pouca variação da pressão, sendo de apenas 5 bar (de 40 até 45 bar). A variação da pressão na etapa 1 é significativamente menor se comparada à etapa 3. Com isso, há menor possibilidade de projeção da amostra na etapa 1 pois há menor liberação dos gases CO₂ e NO_x.

No programa de irradiação 4, estendeu-se o tempo da etapa 2 para 20 minutos, conforme apresentado na Tabela 6, com o objetivo de permitir maior oxidação da matriz orgânica e reduzir a possibilidade de projeção da amostra durante a variação significativa de pressão na etapa 3, quando houver decomposição de maior massa de amostra.

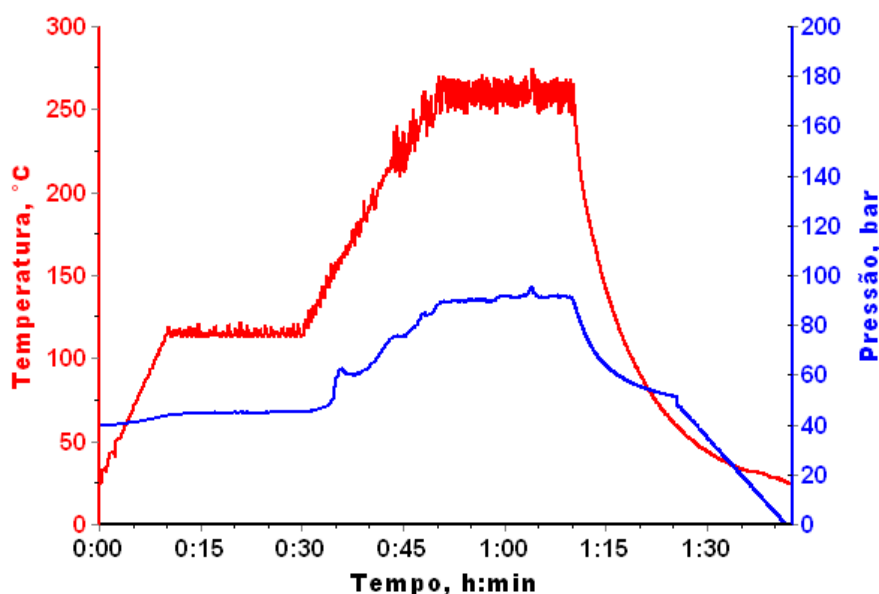
Tabela 6 - Programa de irradiação 4 utilizado para a decomposição de 1 g de EVOO por MAWD-SRC.

Etapa	Tempo, min	Condição de Programa	Temperatura, °C
1	10	Rampa	115
2	20	Permanência	115
3	20	Rampa	270
4	20	Permanência	270
5	30	Resfriamento	-

Fonte: Autor (2022).

Considerando o tempo de 20 minutos para a oxidação da amostra durante a etapa 2 do programa de irradiação 4, a variação significativa de pressão ocorreu após 34 minutos de irradiação, quando a pressão estava a 51 bar, com uma variação de 12 bar em menos de 2 minutos. Isso ocorreu 4 minutos após o início da etapa 3, quando a temperatura estava em torno de 150 °C, conforme mostrado na Figura 4.

Figura 4 - Variação da temperatura e pressão do programa de irradiação 4 durante a decomposição de 1 g de EVOO com 6 mL de HNO₃ 14,4 mol L⁻¹.

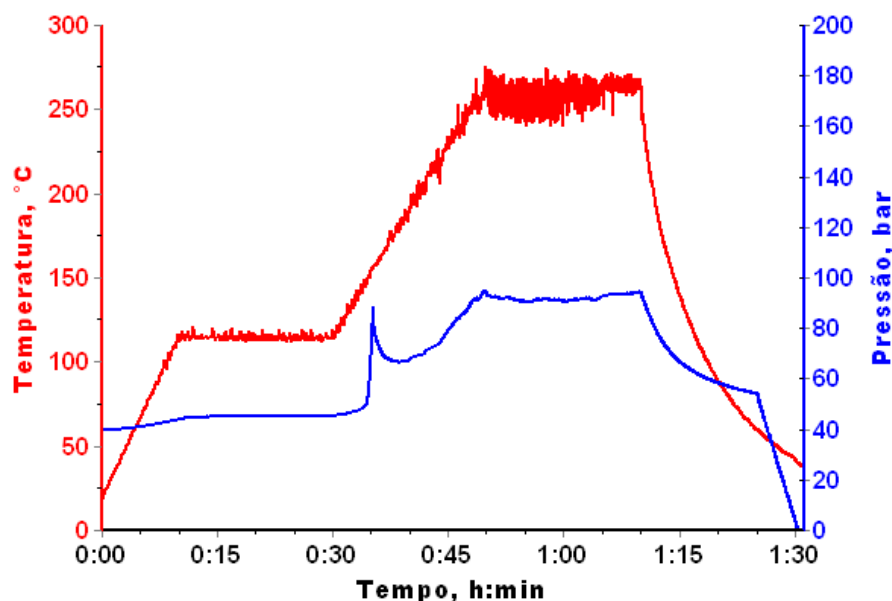


Fonte: Autor (2022).

Ao observar as condições de pressão apresentadas na Figura 4, mesmo havendo uma variação da pressão após decorrido 35 minutos do programa de irradiação, essa agitação do meio não foi significativa o suficiente para ocasionar projeção da amostra, visto que não ficou com aspecto gorduroso nas tampas e os volumes dos digeridos foram iguais aos volumes dos brancos. Com isso, essa mesma condição foi utilizada para decomposição de 1,5 g de EVOO.

Entretanto, quando foi avaliada a decomposição de 1,5 g de EVOO utilizando o programa de irradiação 4, foi observada uma variação significativa de pressão na etapa 3, após 35 minutos de programa, com uma variação da pressão de 50 bar até 90 bar e retornando para 68 bar em menos de 3 minutos. A elevada intensidade dessa variação, apresentado na Figura 5, favoreceu a projeção da amostra para a tampa do frasco, deixando-a com aspecto gorduroso após término do programa de irradiação. Além disso, o volume do digerido final foi de apenas 1 mL, evidenciando que a amostra e ácido foram projetados para fora do frasco de quartzo. Outra característica que comprovou a ineficiência da decomposição de 1,5 g da amostra nas condições do programa de irradiação 4.

Figura 5 – Variação da temperatura e pressão do programa de irradiação 4 durante a decomposição de 1,5 g de EVOO com 6 mL de HNO_3 14,4 mol L^{-1} .



Fonte: Autor (2022).

Considerando que não teve uma variação significativa na pressão durante o tempo de permanência na etapa 2, em que foi destinada para oxidação e liberação gradativa dos gases provenientes da decomposição da amostra, antes de elevar a temperatura até 270 °C, infere-se que manter a etapa 2 como tempo de permanência não foi suficiente para degradar eficientemente 1,5 g de EVOO.

Assim, foi avaliado um novo programa de irradiação, conforme apresentado na Tabela 7. Reduziu-se o tempo de rampa da etapa 1, uma vez que teve pouca variação da pressão durante essa etapa do programa de irradiação 4, mostrado na Figura 5. A etapa 2 deixou de ser um tempo de permanência e passou a ser uma rampa de aquecimento. Além disso, foi aumentado o tempo de 20 minutos para 30 minutos da etapa 2, o que pode favorecer maior oxidação da amostra de forma gradativa, possibilitando menor tempo da etapa 3. Com isso, o tempo da etapa 3 foi reduzido de 20 minutos para 10 minutos.

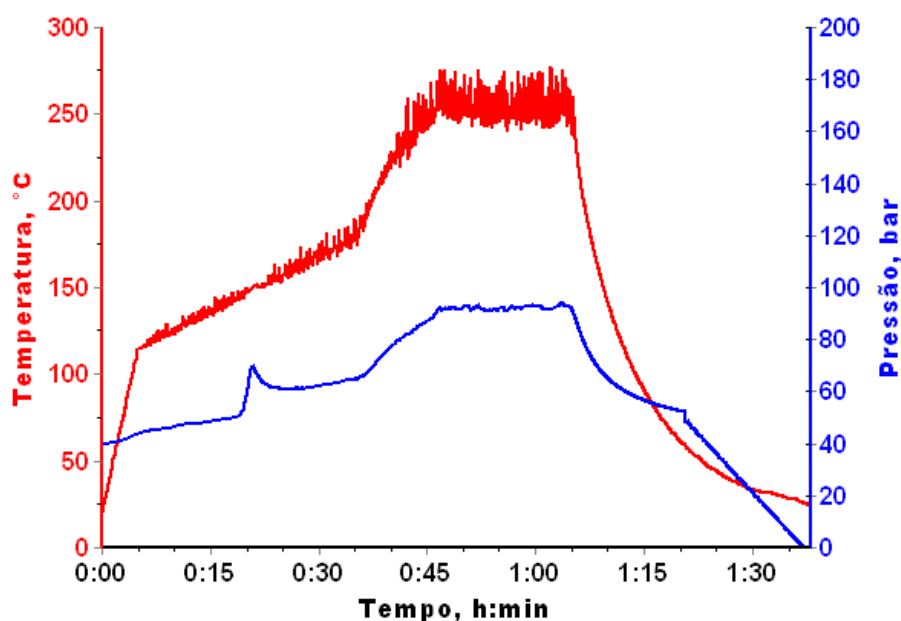
Tabela 7 - Programa de irradiação 5 utilizado para a decomposição de 1,5 g de EVOO por MAWD-SRC.

Etapa	Tempo, minutos	Condição de Programa	Temperatura, °C
1	5	Rampa	115
2	30	Rampa	180
3	10	Rampa	270
4	20	Permanência	270
5	30	Resfriamento	-

Fonte: Autor (2022).

Utilizando as condições do programa de irradiação 5 para decomposição de 1,5 g de EVOO, foi observado uma intensa variação de pressão, variando de 50 até 69 bar e retornando para 63 bar. Apesar dos digeridos não terem ficado com aspecto gordurosos e sem evidências de projeção de amostra, a variação da pressão ocorreu no meio da etapa 2 (após 20 minutos de irradiação), conforme apresentado na Figura 6, o que ficaria inviável para a decomposição de maior massa de amostra empregando essas condições devido à possibilidade de projeção das amostras de EVOO.

Figura 6 – Variação da temperatura e pressão do programa de irradiação 5 durante a decomposição de 1,5 g de EVOO com 6 mL de HNO₃ 14,4 mol L⁻¹.



Fonte: Autor (2022).

Assim, o tempo da rampa de aquecimento da etapa 2 foi ampliado de 30 para 40 minutos, conforme consta na Tabela 8, para possibilitar a redução da inclinação dessa rampa e promover uma maior oxidação do EVOO de forma menos intensa na etapa 2.

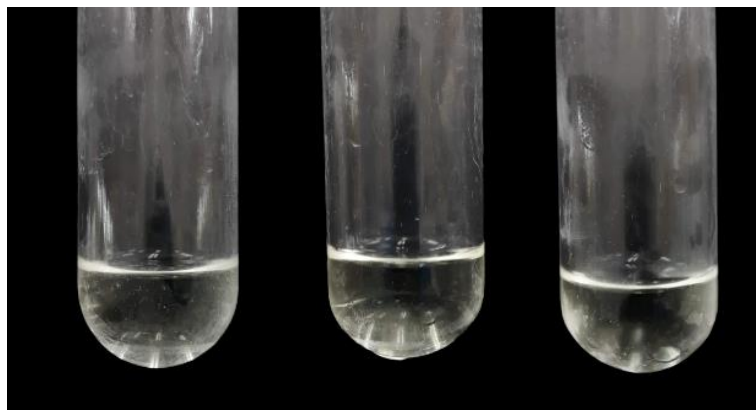
Tabela 8 - Programa de irradiação 6 utilizado para a decomposição de 1,5 g de EVOO por MAWD-SRC.

Etapa	Tempo, min	Condição de Programa	Temperatura, °C
1	5	Rampa	115
2	40	Rampa	180
3	10	Rampa	270
4	20	Permanência	270
5	30	Resfriamento	-

Fonte: Autor (2022).

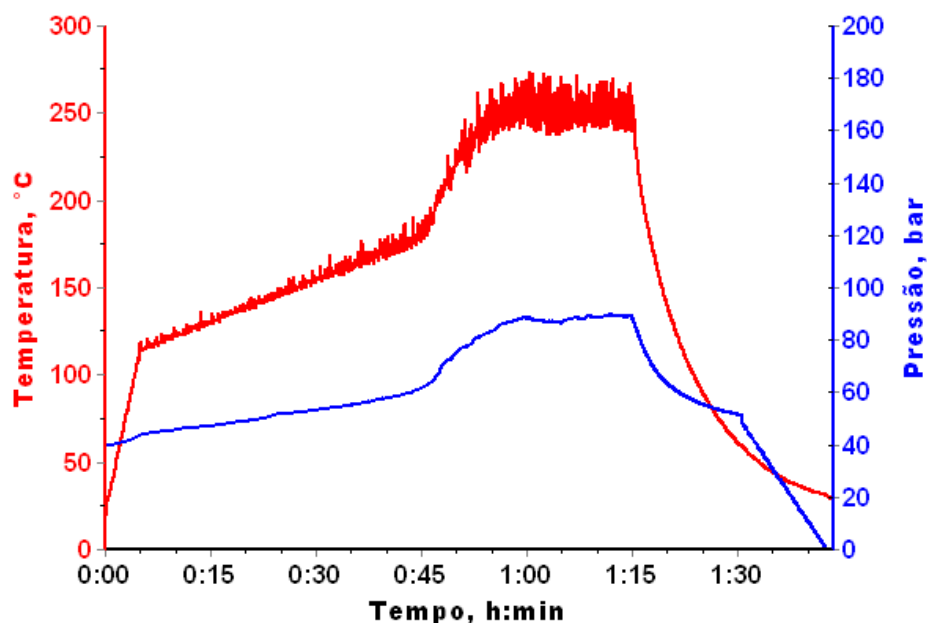
Os digeridos obtidos pelo programa de irradiação 6 ficaram com aspecto límpido, conforme mostrado na Figura 7, com volume de aproximadamente 5 mL, equivalendo aos mesmos volumes dos brancos, indicando que não houve projeção de amostra. Não houve liberação intensa de gases provenientes da decomposição da amostra, resultando em um aumento estável da pressão, mantendo apenas um aumento gradual da pressão durante a decomposição da amostra, conforme mostrado na Figura 8. Essa condição permitiu a decomposição de massa acima de 1,5 g de EVOO com menor possibilidade de projeção de amostra.

Figura 7 – Aspectos dos digeridos utilizando o programa de irradiação 6 para decomposição de 1,5 g de EVOO com 6 mL de HNO_3 14,4 mol L^{-1} .



Fonte: Autor (2022).

Figura 8 – Variação da temperatura e pressão do programa de irradiação 6 durante a decomposição de 1,5 g de EVOO com 6 mL de HNO_3 14,4 mol L^{-1} .



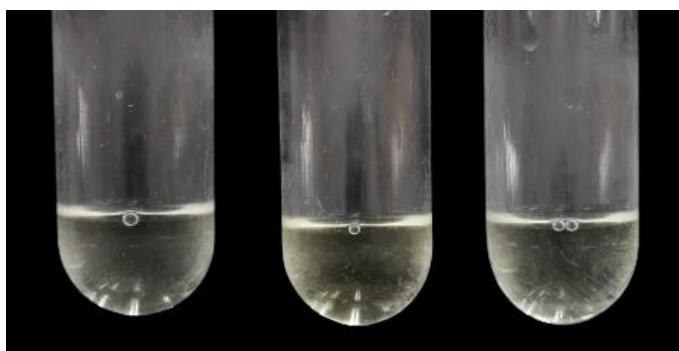
Fonte: Autor (2022).

Considerando que não teve projeção da amostra durante a decomposição de 1,5 g de EVOO usando o programa de irradiação 6, é possível notar que a liberação de gases durante o processo foi minimizada. A variação da pressão observada na Figura 8 corrobora esse resultado, indicando que a decomposição do EVOO não gerou uma liberação intensa de gases. Isso sugere que a decomposição de massas superiores a 1,5 g de EVOO pode ser realizada com menor risco de projeção da

amostra. Com isso, foi escolhido utilizar o programa de irradiação 6 para decompor 1,75 g de EVOO.

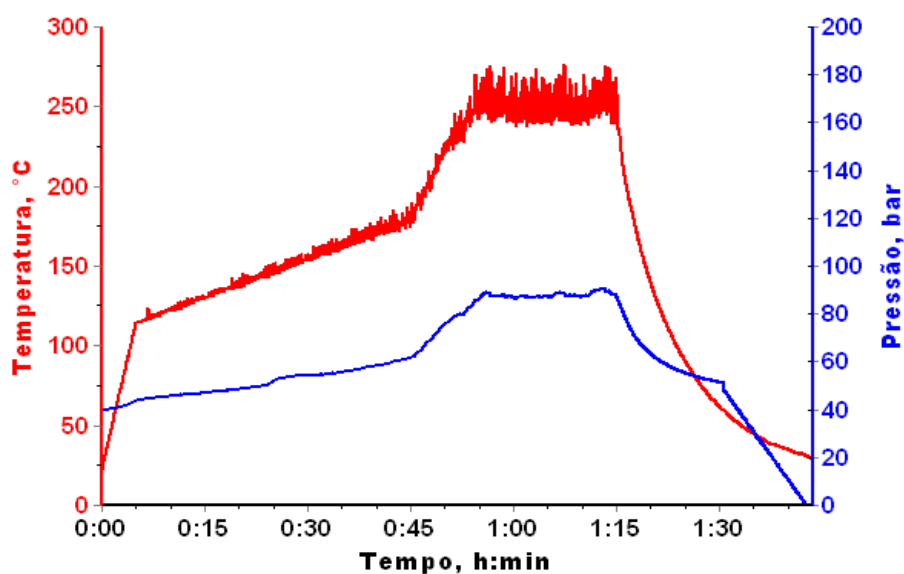
O volume dos digeridos resultantes da decomposição de 1,75 g de EVOO com 6 mL de HNO_3 14,4 mol L^{-1} usando o programa de irradiação 6 foi de aproximadamente 5 mL, sem apresentar aspecto gorduroso, conforme demonstrado na Figura 9. Não ocorreu uma liberação intensa dos gases provenientes da decomposição da amostra, resultando em um aumento estável e gradual da pressão de acordo com a rampa de aquecimento, conforme mostrado na Figura 10.

Figura 9 – Aspectos dos digeridos utilizando o programa de irradiação 6 para decomposição de 1,75 g de EVOO com 6 mL de HNO_3 14,4 mol L^{-1} .



Fonte: Autor (2022).

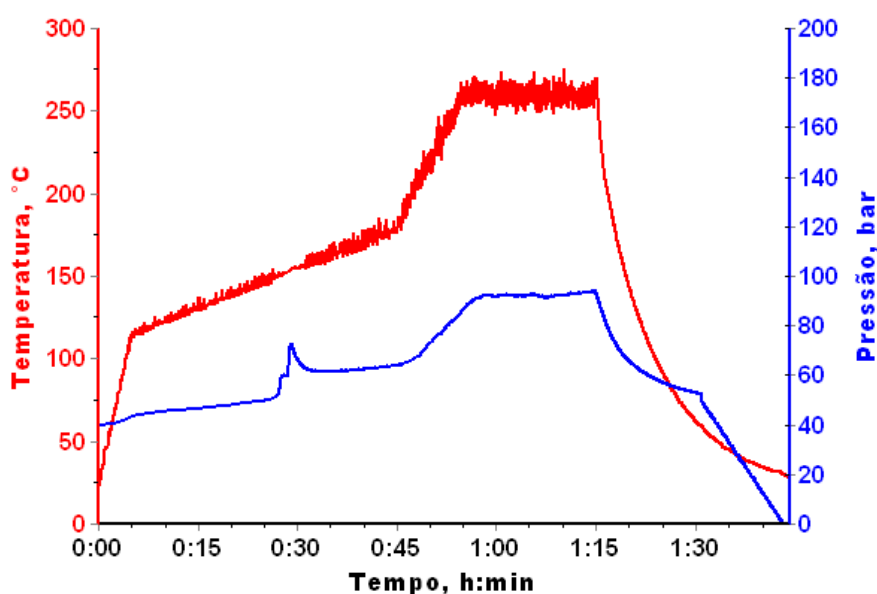
Figura 10 – Variação da temperatura e pressão do programa de irradiação 6 durante a decomposição de 1,75 g de EVOO com 6 mL de HNO_3 14,4 mol L^{-1} .



Fonte: Autor (2022).

Observa-se uma inclinação mais discreta no aumento da pressão cerca de 20 minutos após a etapa 2, quando a temperatura estava em torno de 150 °C. Embora essa inclinação no meio da etapa 2 não tenha sido significativa, é um indicativo de que um aumento mais acentuado da temperatura na etapa 2 ou a decomposição de uma maior massa de EVOO nas condições do programa de irradiação 6 poderiam favorecer uma variação intensa da pressão em torno de 150 °C. Essa hipótese foi comprovada após a decomposição de 2 g de EVOO com 6 mL de HNO₃ 14,4 mol L⁻¹, utilizando o programa de irradiação 6, resultando em uma variação acentuada da pressão cerca de 30 minutos após o início do programa, quando a temperatura estava em torno de 150 °C, conforme apresentado na Figura 11.

Figura 11 – Variação da temperatura e pressão do programa de irradiação 6 durante a decomposição de 2 g de EVOO com 6 mL de HNO₃ 14,4 mol L⁻¹.



Fonte: Autor (2022).

Utilizando o programa de irradiação 6 utilizando 6 mL de HNO₃ 14,4 mol L⁻¹, não foi possível decompor de forma eficiente 2 g de EVOO, pois houve projeção da amostra, e duas replicatas apresentaram um aspecto gorduroso no interior da tampa. Possivelmente, essa projeção ocorreu no momento da liberação intensa de gases provenientes da decomposição da matriz, acarretando uma intensa variação da pressão no tempo de 30 minutos do programa de irradiação. Assim, foi necessário aumentar o tempo da etapa 2 do programa de irradiação de 40 minutos para 50

minutos, conforme Tabela 9, para possibilitar a decomposição de 2 g de amostra com 6 mL de HNO₃ 14,4 mol L⁻¹.

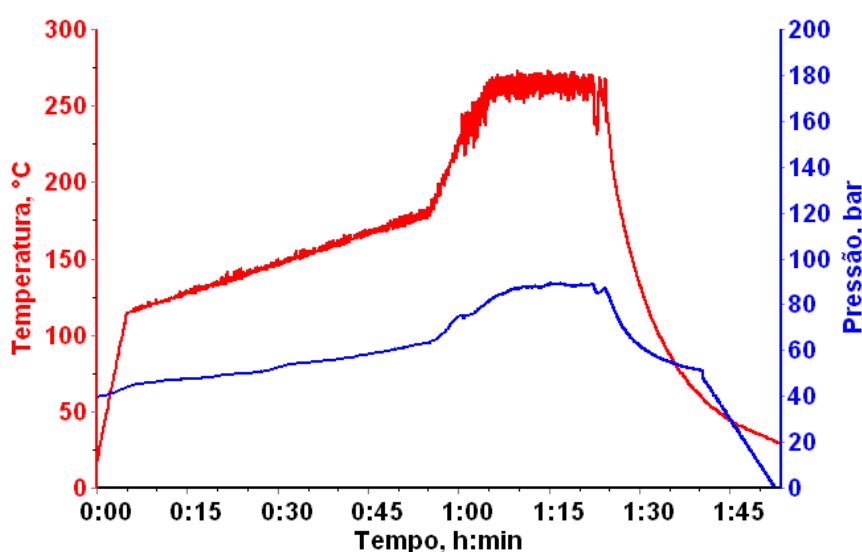
Tabela 9 - Programa de irradiação 7 utilizado para a decomposição de 2,0 g de EVOO por MAWD-SRC.

Etapa	Tempo, min	Condição de Programa	Temperatura, °C
1	5	Rampa	115
2	50	Rampa	180
3	10	Rampa	270
4	20	Permanência	270
5*	30	Resfriamento	-

* Etapa de resfriamento com despressurização de 5 bar min⁻¹ após alcançar o resfriamento de 60 °C.
Fonte: Autor (2022).

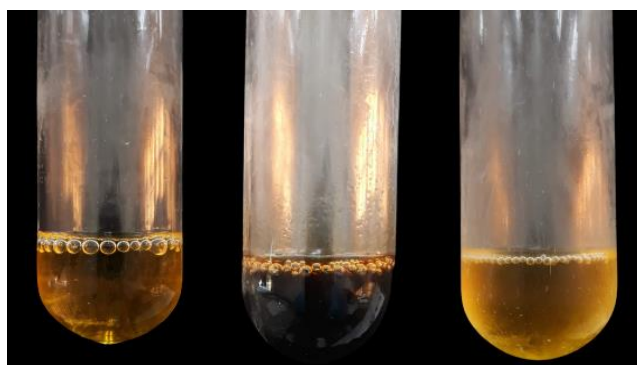
Com as condições do programa de irradiação 7, não houve liberação intensa de gases provenientes da decomposição da matriz. Assim, a variação da pressão da etapa 2 foi gradativa conforme o aumento da temperatura. Conseqüentemente, não ocorreu a projeção da amostra e não foram observados aspectos gordurosos nas tampas dos frascos de quartzo. Além disso, os volumes dos digeridos obtidos foram similares aos volumes dos brancos. Entretanto, a decomposição de 2 g de EVOO ficou incompleta, conforme apresentado na Figura 13.

Figura 12 – Variação da temperatura e pressão do programa de irradiação 7 durante a decomposição de 2 g de EVOO com 6 mL de HNO₃ 14,4 mol L⁻¹.



Fonte: Autor (2022).

Figura 13 – Aspectos dos digeridos utilizando o programa de irradiação 7 para decomposição de 20g de EVOO com 6 mL de HNO_3 14,4 mol L^{-1} .



Fonte: Autor (2022).

Mesmo com o aumento de 40 minutos para 50 minutos na etapa 2, utilizando o programa de irradiação 7 utilizando 6 mL de HNO_3 14,4 mol L^{-1} , a decomposição de 2 g de EVOO foi incompleta, resultando na presença de resíduos sólidos dispersos em um dos digeridos.

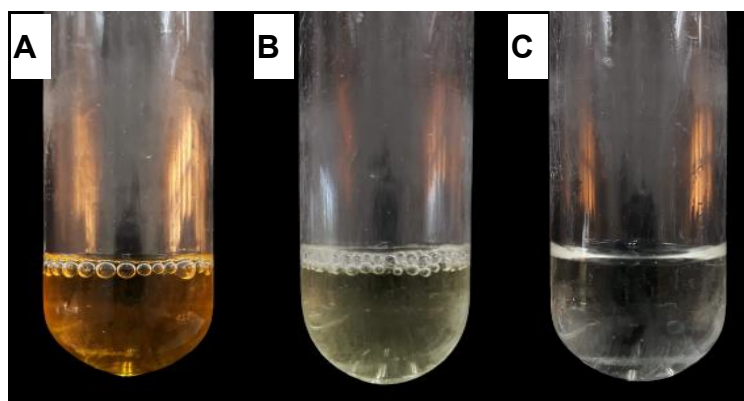
4.2 DECOMPOSIÇÃO DE 2 g DE EVOO COM DIFERENTES VOLUMES DE HNO_3 14,4 mol L^{-1}

A dificuldade em decompor elevada massa de EVOO está relacionada às características dos compostos presentes na matriz, como os ácidos graxos insaturados presentes majoritariamente no EVOO, bem como outros compostos insaturados, como os carotenoides. Destaca-se entre os ácidos graxos, o ácido oleico, por ser resistente à oxidação com HNO_3 . Com isso, é necessário utilizar uma temperatura acima de 260 °C para aumentar a eficiência de decomposição na presença de HNO_3 concentrado (BARIN *et al.*, 2014; MULLER *et al.*, 2015; ANSCHAU *et al.*, 2019).

Considerando que não houve intensa variação da pressão, nem projeção de amostra durante a decomposição de 2 g de EVOO com 6 mL de HNO_3 14,4 mol L^{-1} , utilizando o programa de irradiação 7, este programa foi mantido para a avaliação da eficiência de decomposição de 2 g de EVOO com maiores volumes de HNO_3 14,4 mol L^{-1} . Assim, foram avaliadas as condições para decomposição de 2 g de EVOO utilizando 7 e 8 mL de HNO_3 14,4 mol L^{-1} , visando alcançar uma maior eficiência na de composição.

Diferente do que ocorreu na decomposição de 2 g de EVOO utilizando 6 mL de HNO_3 14,4 mol L^{-1} , ao utilizar volumes de 7 e 8 mL do HNO_3 14,4 mol L^{-1} foi possível obter maior decomposição de EVOO, em que essa decomposição foi diretamente proporcional ao volume de HNO_3 utilizado. Assim, não foram observados resíduos sólidos em suspensão nos digeridos após a decomposição. Os aspectos dos digeridos resultantes da decomposição de 2 g de EVOO utilizando 7 e 8 mL de HNO_3 14,4 mol L^{-1} estão apresentados na Figura 14.

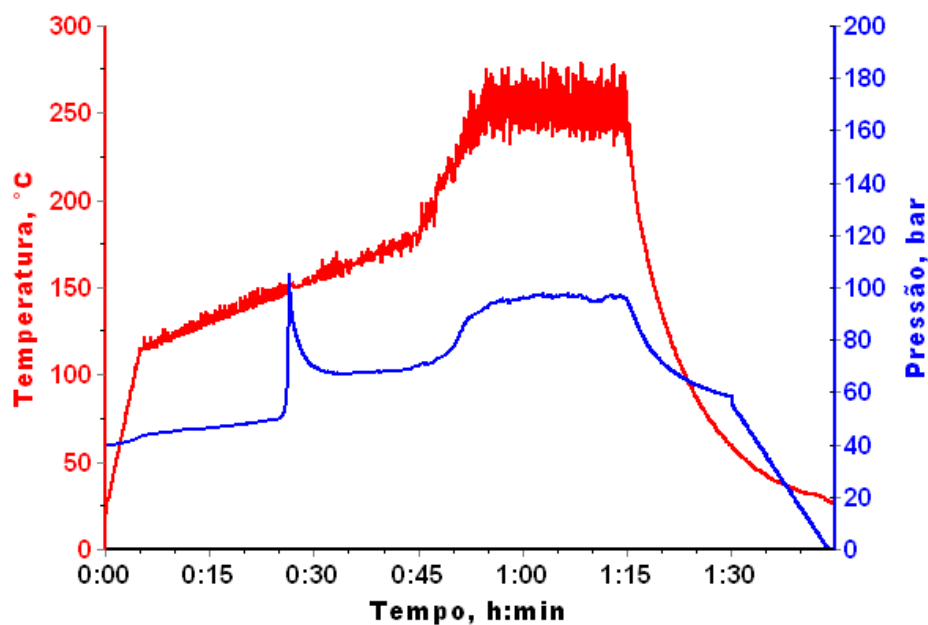
Figura 14 – Aspectos dos digeridos utilizando programa de irradiação 7 para decomposição de 2 g de EVOO com 6 mL (A), 7 mL (B) e 8 mL (C) de HNO_3 14,4 mol L^{-1} .



Fonte: Autor (2022).

Considerando que o aumento da pressão, utilizando o programa de irradiação 7, para decomposição de 2 g de EVOO com 8 mL de HNO_3 14,4 mol L^{-1} ocorreu de forma gradativa, não havendo projeção da amostra durante a decomposição, e considerando também que o tempo de rampa da etapa 2 já estava em 50 minutos, tentou-se realizar a decomposição com menor tempo de programa. Para isso, foi avaliada a decomposição de 2 g de EVOO com 8 mL de HNO_3 14,4 mol L^{-1} utilizando o programa de irradiação 6, que possui uma etapa 2 com tempo de 40 minutos de 115 °C até 180 °C. Ou seja, uma redução de 10 minutos de programa de irradiação, quando comparado ao programa de irradiação 7. Entretanto, como resultado, ocorreu uma liberação intensa de gases durante a etapa 2, após 25 minutos de irradiação, acarretando em um significativo aumento de pressão, com variação de 50 bar em aproximadamente 2 minutos, conforme apresentado na Figura 15. Como consequência, houve a projeção de toda a amostra e do ácido para fora dos frascos de quartzo.

Figura 15 - Variação da temperatura e pressão do programa de irradiação 7 durante a decomposição 2 g de EVOO com 8 mL de HNO_3 14,4 mol L^{-1} .



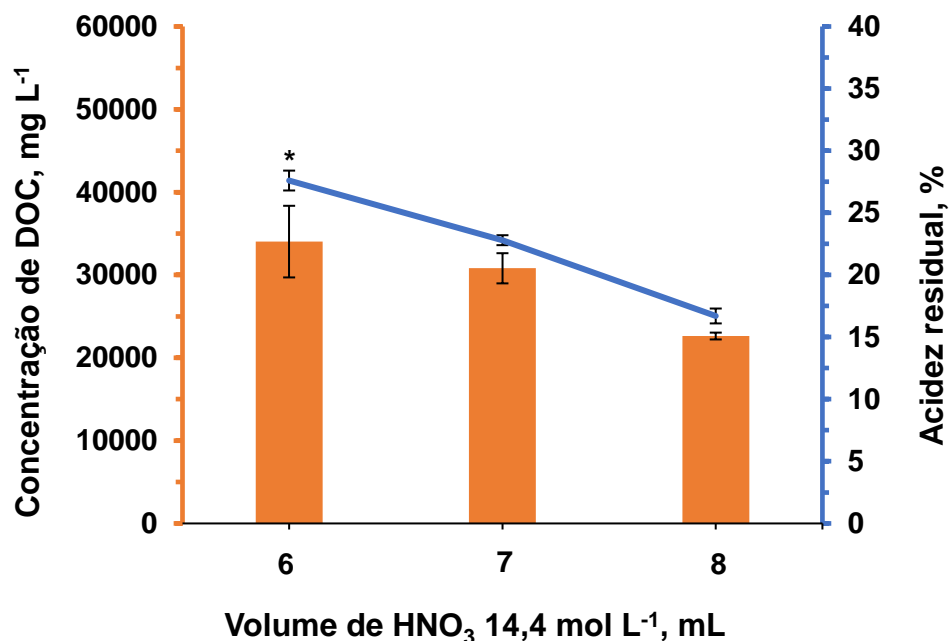
Fonte: Autor (2022).

Portanto, por motivos de segurança, torna-se inviável a utilização do programa de irradiação 6 utilizando o volume de 8 mL de HNO_3 14,4 mol L^{-1} para decomposição de 2 g de EVOO.

A eficiência da decomposição de 2 g de EVOO utilizando 6, 7 e 8 mL de HNO_3 14,4 mol L^{-1} foi avaliada de acordo com a concentração de DOC e RA.

Na Figura 16 estão apresentadas as concentrações DOC (mg L^{-1}) e o percentual de RA para a decomposição de 2 g de EVOO com diferentes volumes de HNO_3 14,4 mol L^{-1} utilizando o programa de irradiação 7.

Figura 16 – Concentração de DOC (em colunas) e RA (em linha) da decomposição de 2 g de EVOO com diferentes volumes de HNO_3 14,4 mol L⁻¹ por MAWD-SRC.



* Decomposição incompleta de 2 g de EVOO.

Fonte: Autor (2022).

Embora a eficiência da decomposição de 2 g de EVOO tenha sido maior utilizando 8 mL de HNO_3 14,4 mol L⁻¹ se comparado com a decomposição de 2 g de EVOO com 7 mL de HNO_3 14,4 mol L⁻¹, as concentrações de DOC foram de 30807 ± 1821 mg L⁻¹ e RA de 23% utilizando 7 mL de HNO_3 14,4 mol L⁻¹, e DOC de 22628 ± 412 mg L⁻¹ e RA de 17% utilizando 8 mL de HNO_3 14,4 mol L⁻¹ na etapa de decomposição.

Esses valores de DOC e RA tornam esses digeridos inviáveis para determinação de REE utilizando a USN-ICP-MS, uma vez que concentrações acima de 250 mg L⁻¹ para DOC podem gerar interferências significativas na determinação dos REE (DRUZIAN, 2021b). Mesmo fazendo diluições antes da introdução da amostra no ICP-MS, seriam necessárias diluições significativamente altas, próximas de 100 vezes, o que também inviabiliza a determinação de REE, pois estariam abaixo do LOQ com essas diluições.

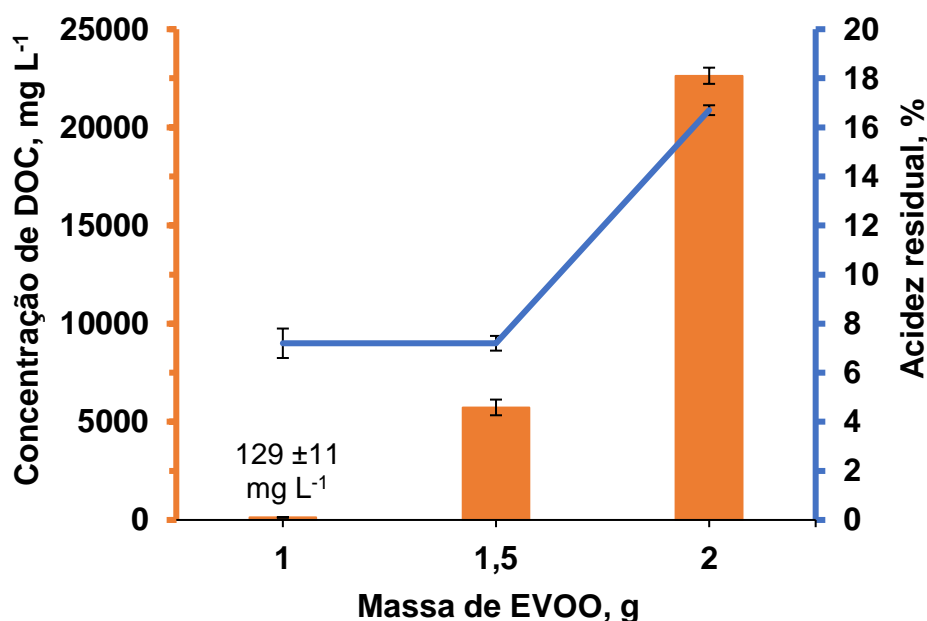
Considerando que o menor percentual de RA e melhor eficiência de decomposição baseada na concentração de DOC foram obtidos utilizando 8 mL de HNO_3 14,4 mol L⁻¹ e programa de irradiação 7 para decomposição de 2 g de EVOO,

foram realizadas avaliações da eficiência de decomposição reduzindo a massa de EVOO nessas mesmas condições de programa e de volume de ácido, conforme dados apresentados e discutidos no item 4.3.

4.3 AVALIAÇÃO DA DECOMPOSIÇÃO DE DIFERENTES MASSAS DE EVOO

Com o objetivo de obter digeridos com menores concentrações de DOC e RA, foram feitas avaliações da eficiência de decomposição de 1, 1,5 e 2 g de amostra de EVOO com 8 mL de HNO_3 $14,4 \text{ mol L}^{-1}$ utilizando o programa de irradiação otimizado (programa de irradiação 7). Os resultados de DOC e RA estão apresentados na Figura 17.

Figura 17 – Concentração de DOC (em colunas) e RA (em linha) da decomposição de 1 g, 1,5 g e 2 g de EVOO com 8 mL de HNO_3 $14,4 \text{ mol L}^{-1}$ por MAWD-SRC.



Fonte: Autor (2022).

Embora tenha havido uma redução significativa de DOC e RA nos digeridos de 1,5 g em comparação com os valores de DOC e RA de 2 g de EVOO, os estudos realizados por Druzian (2021) indicam que seria necessário um elevado fator de diluição (pelo menos de 20 vezes) para evitar interferência significativa do carbono na determinação dos REE (DRUZIAN, 2021b). Isso torna inviável a determinação desses

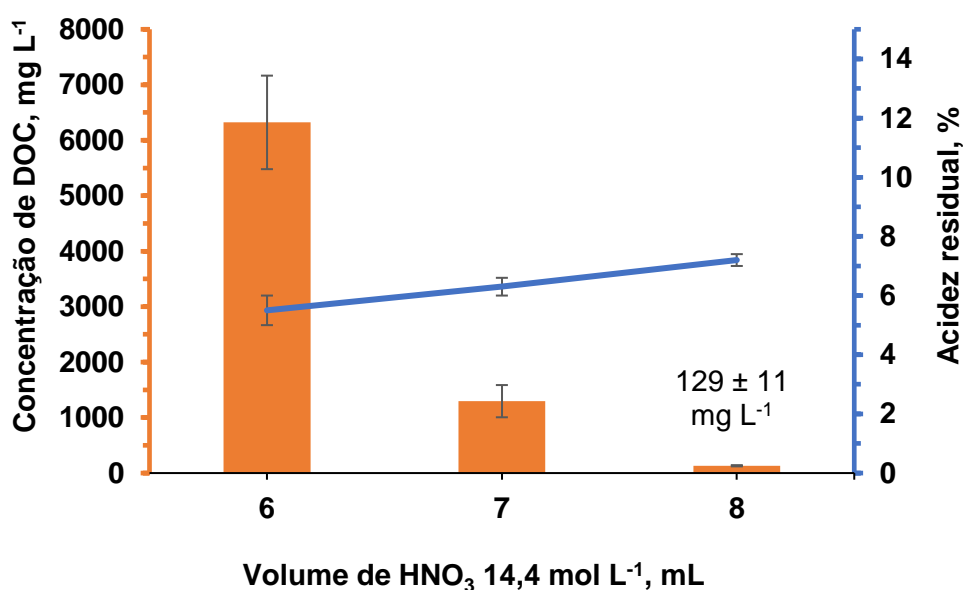
elementos em concentrações próximas aos primeiros pontos da curva de calibração (5 – 10 ng L⁻¹).

A partir da concentração de RC, foi observada uma maior eficiência na decomposição de 1 g de EVOO quando comparada com a decomposição de 1,5 g e 2,0 g de EVOO. Além disso, não houve alteração significativa no percentual de RA entre a decomposição de 1 g e 1,5 g, o que pode ser explicado pelo uso de um volume de HNO₃ 14,4 mol L⁻¹ acima do necessário para a decomposição eficiente de 1 g de EVOO. Para minimizar o valor de RA e reduzir o consumo de reagente, foram realizadas avaliações com diferentes volumes de HNO₃ 14,4 mol L⁻¹ para a decomposição de 1 g de EVOO, conforme dados apresentados e discutido no item 4.4.

4.4 AVALIAÇÃO DO VOLUME DE HNO₃ 14,4 mol L⁻¹ PARA DECOMPOSIÇÃO DE 1 g DE EVOO

Entre os volumes avaliados para a decomposição de 1 g de EVOO, observou-se que o uso de 8 mL de HNO₃ apresentou menor concentração de DOC e RA, conforme apresentado na Figura 18, requerendo fator de diluição de quatro vezes.

Figura 18 – Concentração de DOC (em colunas) e RA (em linha) da decomposição de 1 g de EVOO por MAWD-SRC com 6, 7 e 8 mL de HNO₃ 14,4 mol L⁻¹.



Fonte: Autor (2022).

Considerando que os resultados de DOC obtidos na decomposição de 1 g de EVOO com 6 e 7 mL de HNO_3 14,4 mol L^{-1} foram elevados, seria necessário diluí-los em pelo menos 25 e 6 vezes, respectivamente, para evitar as interferências causadas pelo DOC durante a determinação dos REE. Essa conclusão baseia-se no trabalho desenvolvido por Druzian (2021), no qual foi observada uma interferência significativa na determinação dos REE a partir de 250 mg L^{-1} de RC. Portanto, a decomposição mais eficiente foi a de 1 g de EVOO com 8 mL de HNO_3 14,4 mol L^{-1} , que requer um fator de diluição menor do que a decomposição da mesma massa de EVOO com 6 e 7 mL de HNO_3 14,4 mol L^{-1} para evitar interferências do DOC.

4.5 AVALIAÇÃO DAS INTERFERÊNCIAS DA ACIDEZ E DA MATRIZ

Diferentes diluições foram realizadas nos digeridos obtidos da decomposição de 1 g de EVOO com 8 mL de HNO_3 14,4 mol L^{-1} para caracterizar a intensidade do efeito da RA sobre a determinação dos REE em baixas concentrações em EVOO.

Considerando que a RA dos digeridos de 1 g de EVOO com 8 mL de HNO_3 14,4 mol L^{-1} é de 7,2% e que acidez das soluções para curva de calibração é de 5% (v/v), esse digerido foi diluído quatro vezes com HNO_3 5% a fim de obter uma condição ácida semelhante à da solução da curva de calibração. Os resultados estão apresentados na Tabela 10. Além disso, foi realizada uma avaliação do efeito da acidez sobre as concentrações dos REE presentes na amostra de EVOO.

Com isso, obteve-se dois resultados de REE em diferentes teores acidez. Os resultados das concentrações de REE com acidez de 5,5% foram utilizados para avaliar a intensidade da interferência não espectral sobre os REE proveniente da RA 7,2%, conforme apresentadas na Figura 19.

Tabela 10 - Resultados obtidos das concentrações de REE por USN-ICP-MS com 5,5% e 7,2% de acidez da mesma decomposição de 1 g de EVOO. RA de 5,5% (digerido diluído 4 vezes em HNO₃ 5%) e 7,2% (digerido concentrado). Média ± desvio padrão (ng g⁻¹), n = 3.

Analitos ng g ⁻¹	RA	
	5,5%	7,2%
Y	3,42 ± 0,04 ^a	3,14 ± 0,09 ^b
La	5,90 ± 0,30 ^a	3,91 ± 0,21 ^b
Ce	9,81 ± 0,34 ^a	6,10 ± 0,20 ^b
Pr	< 0,2	< 0,2
Nd	2,96 ± 0,06 ^a	2,13 ± 0,03 ^b
Sm	0,590 ± 0,020 ^a	0,360 ± 0,010 ^b
Eu	0,430 ± 0,010 ^a	0,180 ± 0,010 ^b
Tb	< 0,01	< 0,01
Gd	0,310 ± 0,010 ^a	0,200 ± 0,010 ^b
Dy	0,530 ± 0,010 ^a	0,280 ± 0,020 ^b
Ho	< 0,02	< 0,02
Er	0,560 ± 0,020 ^a	0,330 ± 0,030 ^b
Tm	< 0,02	< 0,02
Yb	0,410 ± 0,030 ^a	0,210 ± 0,010 ^b
Lu	0,320 ± 0,004 ^a	0,120 ± 0,004 ^b

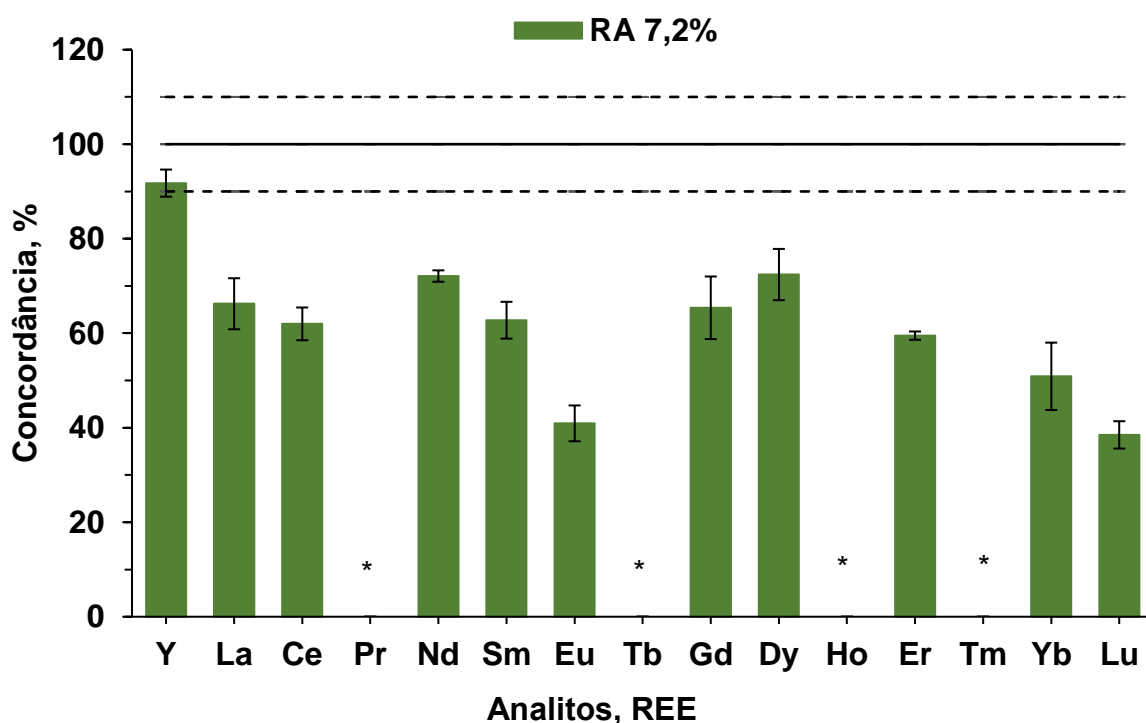
^{A, b} Diferença estatística realizada por teste-*t* (nível de confiança de 95%) entre os mesmos analitos, em que ^a ≠ ^b.

Fonte: Autor (2022).

Observa-se uma supressão de sinal da concentração de REE proveniente da decomposição de 1 g de EVOO empregando MAWD-SRC utilizando 8 mL de HNO₃ 14,4 mol L⁻¹ com RA de 5,5% (diluído 4 vezes em HNO₃ 5%) quando comparadas com as concentrações dos REE obtidas da mesma decomposição com RA 7,2% (concentrado). A escala percentual dessa supressão de sinal está apresentada na Figura 19.

A RA de 5,5% foi a mais próxima da acidez proveniente da curva de calibração e com base nas avaliações da exatidão, foi considerado as concentrações de REE dos digeridos com RA 5,5% como os mais próximos da concentração real da amostra, havendo menos interferência proveniente da acidez.

Figura 19 - Efeito da RA sobre as concentrações dos REE provenientes da decomposição de 1 g de EVOO por MAWD-SRC utilizando 8 mL de HNO₃ 14,4 mol L⁻¹. Digeridos da mesma decomposição: RA 5,5% (diluído 4 vezes com HNO₃ 5%) e RA 7,2% (concentrado). A linha contínua representa a concordância em 100% das concentrações de REE (RA 5,5%) e as linhas tracejadas representam os níveis das variações estabelecidos em $\pm 10\%$.



* Concentração abaixo do LOQ

Fonte: Autor (2022).

A supressão de sinal provocada pelas concentrações de ácidos nos digeridos ocorre à medida que a concentração do ácido aumenta. Isso está relacionado ao efeito do ácido na formação do aerossol no nebulizador, no transporte do digerido e nas modificações na estabilidade do plasma (FERNÁNDEZ, 1994; TODOLÍ, 1999; CANALS, 2002).

Quanto à concentração de DOC, foram feitas avaliações das concentrações de REE utilizando diferentes diluições dos digeridos de 1, 1,5 e 2,0 g para avaliação do quão intensas são as interferências provenientes de DOC.

Observou-se que a concentração de DOC promoveu um aumento na intensidade do sinal para todos os REE, conforme apresentada na Tabela 11, onde a escala percentual dessa intensificação de sinal está demonstrada na Figura 20. A avaliação da intensificação do sinal foi baseada nos valores das concentrações de REE em que a concentração de DOC era de 32 mg L^{-1} , uma vez que esses estavam mais próximos dos valores reais, conforme indicado pelos resultados da avaliação da exatidão.

Para a avaliação da interferência proveniente de carbono, foram utilizados os digeridos da decomposição de 1 g de EVOO empregando MAWD-SRC utilizando 8 mL de HNO_3 $14,4 \text{ mol L}^{-1}$. Esses digeridos foram diluídos quatro vezes em água obtendo concentração final de 32 mg L^{-1} de DOC. Nessas condições, não foram observadas interferências significativas provenientes de DOC nas concentrações de REE. Ou seja, foram obtidas concentrações de REE mais próximos dos valores reais desses analitos presentes na amostra, baseando-se nas avaliações da exatidão.

Com isso, foram estabelecidos os resultados das concentrações de REE com 32 mg L^{-1} como sendo 100% dos valores de REE presentes nas amostras para avaliação do efeito de DOC na amostra, conforme apresentado na Figura 20. A linha contínua da Figura 19 corresponde aos valores das concentrações de REE da decomposição de 1 g de EVOO utilizando 8 mL de HNO_3 $14,4 \text{ mol L}^{-1}$, diluído quatro vezes, com DOC igual a 32 mg L^{-1} . As linhas tracejadas representam os níveis das variações estipulados de mais ou menos 10%.

Outros resultados das concentrações de REE foram obtidos a partir da decomposição de 1,5 g e 2,0 g de EVOO empregando MAWD-SRC utilizando 8 mL de HNO_3 $14,4 \text{ mol L}^{-1}$ obtendo DOC de 5748 mg L^{-1} e 22632 mg L^{-1} , respectivamente. Para avaliação do efeito de DOC nas concentrações de REE, os digeridos da decomposição de 1,5 g e 2,0 g de EVOO foram diluídos 5 e 8 vezes com água DOC igual a 1146 mg L^{-1} e 2828 mg L^{-1} , respectivamente.

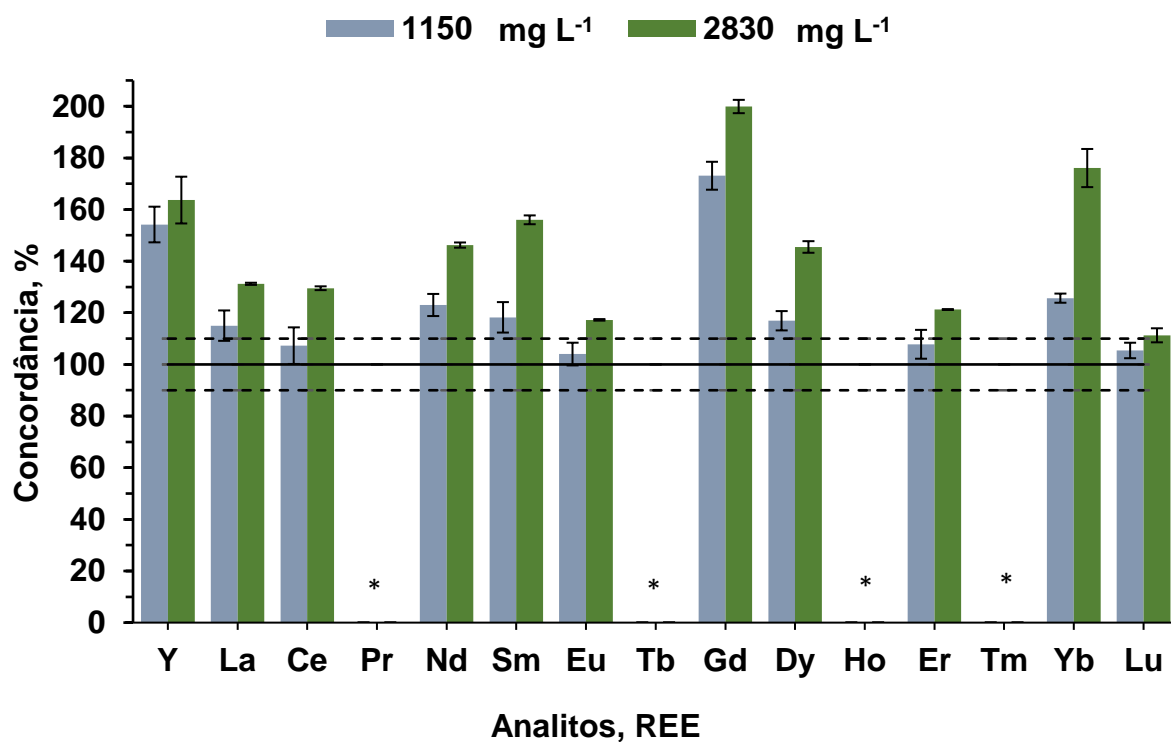
Tabela 11 – Concentrações dos REE obtidas por USN-ICP-MS após MAWD-SRC utilizando 8 mL de HNO₃ 14,4 mol L⁻¹. Concentrações de REE obtidas da decomposição de 1 g de EVOO (DOC = 129 mg L⁻¹), 1,5 g de EVOO (DOC = 5748 mg L⁻¹) e 2 g de EVOO (DOC = 22632 mg L⁻¹), em que os digeridos foram diluídos para obter DOC de 32, 1150 e 2830 mg L⁻¹, respectivamente. Média ± desvio padrão (ng g⁻¹), n = 3.

Analitos ng g ⁻¹	DOC		
	32 mg L ⁻¹	1150 mg L ⁻¹	2830 mg L ⁻¹
Y	3,42 ± 0,04 ^a	5,27 ± 0,36 ^b	5,60 ± 0,50 ^b
La	5,90 ± 0,30 ^a	6,80 ± 0,40 ^b	7,76 ± 0,03 ^c
Ce	9,81 ± 0,34 ^a	10,5 ± 0,8 ^a	12,7 ± 0,1 ^b
Pr	< 0,2	< 0,2	< 0,2
Nd	2,96 ± 0,06 ^a	3,64 ± 0,16 ^b	4,32 ± 0,04 ^c
Sm	0,590 ± 0,020 ^a	0,690 ± 0,040 ^b	0,910 ± 0,020 ^c
Eu	0,430 ± 0,010 ^a	0,460 ± 0,020 ^a	0,510 ± 0,002 ^c
Tb	< 0,01	< 0,01	< 0,01
Gd	0,310 ± 0,010 ^a	0,530 ± 0,030 ^b	0,610 ± 0,020 ^c
Dy	0,530 ± 0,010 ^a	0,620 ± 0,020 ^b	0,780 ± 0,020 ^c
Ho	< 0,02	< 0,02	< 0,02
Er	0,560 ± 0,020 ^a	0,600 ± 0,020 ^a	0,730 ± 0,020 ^b
Tm	< 0,02	< 0,02	< 0,02
Yb	0,410 ± 0,030 ^a	0,520 ± 0,010 ^b	0,720 ± 0,050 ^c
Lu	0,120 ± 0,004 ^a	0,340 ± 0,010 ^b	0,360 ± 0,010 ^b

A, b, c Diferença estatística realizada por análise de variância ANOVA (nível de confiança de 95%) entre os mesmos analitos, onde ^a ≠ ^b ≠ ^c.

Fonte: Autor (2022).

Figura 20 - Efeito da concentração DOC sobre as concentrações dos REE obtidas por USN-ICP-MS após a MAWD-SRC de diferentes massas de EVOO, sendo 1 g de EVOO (DOC = 129 mg L⁻¹), 1,5 g de EVOO (DOC = 5732 mg L⁻¹) e 2 g de EVOO (DOC = 22628 mg L⁻¹), em que os digeridos foram diluídos para obter DOC de 32, 1150 e 2828 mg L⁻¹, respectivamente.



*Concentração abaixo do LOQ

Fonte: Autor (2022).

A intensificação das concentrações dos REE conforme a concentração de DOC aumenta pode ser atribuída a interferências não espectrais, como alterações nas propriedades do plasma durante o processo de atomização, excitação e ionização e as interferências espectrais como a formação de íons poliatômicos (GRINDLAY, 2008; AGATEMOR, 2011; GRINDLAY, G., MORA, J., DE LOOS-VOLLEBREGT, M., & VANHAECKE, F., 2013; LECLERCQ, 2015; DRUZIAN, 2021b). Foi reportado que o aumento do sinal para alguns analitos pode ocorrer devido a reações de transferência de carga com espécies de C (C⁺, C²⁺, CO⁺ ou CO₂⁺) e a formação de espécies poliatômicas (PEREIRA, 2009; GRINDLAY, G., MORA, J., DE LOOS-VOLLEBREGT, M., VANHAECKE, F., 2013).

Além das interferências causadas por DOC e RA, outras interferências podem ocorrer devido à presença significativa de átomos facilmente ionizáveis, como Na, K,

Ca e Mg, que podem ocasionar o efeito de supressão de sinal durante a etapa de determinação e, conseqüentemente, reduzir os valores das concentrações dos REE. Isso ocorre porque esses elementos podem afetar as condições de ionização e provocar mudanças na energia disponível do plasma (DUBUISSON, 1998; AGATEMOR, 2011; DRUZIAN, 2021b). Portanto, foram determinadas as concentrações desses elementos nas amostras para verificar se a faixa de concentração em que estão presentes nos EVOO poderia gerar interferências de supressão de sinal.

No entanto, as concentrações desses metais alcalinos e alcalino-terrosos estavam em quantidades que não acarretam interferências significativas sobre a intensidade dos REE. Essas concentrações estavam na faixa de $\mu\text{g L}^{-1}$, e geralmente as interferências significativas começam a ocorrer em concentrações de mg L^{-1} (DUBUISSON, 1998; AGATEMOR, 2011; DRUZIAN, 2021a). Os LOQ para Na, K, Ca e Mg estavam entre 27 e 581 $\mu\text{g L}^{-1}$ nas quatro amostras avaliadas.

4.6 AVALIAÇÃO DA EXATIDÃO

Considerando que até o momento não tem um Material de Referência Certificado (CRM) de azeite ou de uma matriz semelhante para a avaliação da exatidão do método proposto, outras duas estratégias foram utilizadas.

A avaliação da exatidão foi realizada comparando os resultados das concentrações dos REE obtidas após a decomposição de 1 g de EVOO empregando o método proposto (MAWD-SRC) com os resultados de REE determinados após o emprego do método de referência por (MAWD) para a decomposição de 0,4 g de EVOO. Ressalta-se que as determinações dos analitos após o emprego dos dois métodos mencionados, foram realizadas utilizando USN-ICP-MS. Diluições de 4 e 10 vezes foram feitas nos digeridos após MAWD-SRC e MAWD, respectivamente, para evitar interferências de DOC e RA. Os resultados das concentrações de REE estão apresentados da Tabela 12.

Vale salientar que as condições realizadas para o método de referência foram baseadas do trabalho realizado por Aceto *et al.* (2019) (ACETO *et al.*, 2019). Nesse método, foram utilizados, 0,4 g de EVOO com 7 mL de HNO_3 14,4 mol L^{-1} e a mistura foi mantida em uma chapa de aquecimento (banho-maria) a aproximadamente 100 °C

por 30 minutos. Em seguida, foi adicionado 1 mL de H₂O₂ 30% (v/v) e a mistura foi mantida nas mesmas condições de aquecimento por mais 15 minutos. A mistura foi então selada nos frascos de PTFE e colocada no rotor do sistema de micro-ondas (*Synthos*), em que foi acionado o programa de irradiação, conforme descrito no item 3.3.3. Posteriormente, os digeridos foram coletados em frascos de polipropileno e aferidos com água até 25 mL.

Outra maneira utilizada para a avaliação da exatidão foi por meio de um ensaio de recuperação. Para isso, foi adicionado 6 µL da solução multielementar (CCS-1, 60 ng L⁻¹) sobre a amostra antes da decomposição pelo método MAWD-SRC utilizando as condições otimizadas. Os valores da recuperação dos REE estão apresentados na Tabela 12. As condições do método otimizado envolvem a decomposição de 1 g de EVOO utilizando 8 mL de HNO₃ 14,4 mol L⁻¹, aplicação do programa de irradiação 7 e determinação de REE por USN-ICP-MS.

Para calcular a recuperação em escala percentual, foram considerados os valores das concentrações de REE evitando as interferências de DOC e RA, conforme abordado no item 4.5. Com esses resultados, foi possível estimar as concentrações de REE provenientes da amostra acrescidas de 60 ng L⁻¹ de REE (solução multielementar CCS-1). Esses resultados foram considerados como 100% de REE e posteriormente calculado a variação percentual das concentrações de REE contendo os 6 µL da solução multielementar CCS-1 (60 ng L⁻¹).

Tabela 12 - Resultados das concentrações dos REE (média e desvio padrão em ng g^{-1} , $n = 3$) em EVOO determinadas por USN-ICP-MS após método proposto (MAWD-SRC) e método de referência (MAWD) e ensaio de recuperação (média e desvio padrão em %, $n = 3$).

Analitos,	MAWD-SRC + USN-ICP-MS, ng g^{-1}	MAWD + USN-ICP-MS, ng g^{-1}	Ensaio de recuperação, %
Y	$3,42 \pm 0,04^a$	$3,40 \pm 0,10^a$	95 ± 6
La	$5,90 \pm 0,30^a$	$5,60 \pm 0,70^a$	100 ± 7
Ce	$9,80 \pm 0,30^a$	$9,50 \pm 1,90^a$	107 ± 8
Pr	$< 0,2$	$< 2,2$	-
Nd	$3,00 \pm 0,60^a$	$2,90 \pm 0,40^a$	105 ± 8
Sm	$0,590 \pm 0,020$	$< 1,0$	92 ± 4
Eu	$0,430 \pm 0,010$	$< 0,4$	100 ± 6
Tb	$< 0,01$	$< 0,1$	-
Gd	$0,310 \pm 0,010$	$< 0,9$	90 ± 1
Dy	$0,530 \pm 0,010$	$< 1,2$	92 ± 1
Ho	$< 0,02$	$< 0,2$	-
Er	$0,560 \pm 0,020$	$< 0,6$	105 ± 5
Tm	$< 0,02$	$< 0,2$	-
Yb	$0,410 \pm 0,030$	$< 0,7$	92 ± 4
Lu	$1,30 \pm 0,30$	$< 0,1$	104 ± 6

^{a, b} Diferença estatística realizada por *teste-t*, com nível de confiança de 95%, entre os valores dos mesmos isótopos obtidos por métodos diferentes, onde ^a \neq ^b.

Fonte: Autor (2022).

Conforme os dados apresentados na Tabela 12, e de acordo com o *teste-t*, com nível de confiança de 95%, foi possível observar que não houve diferença significativa quando comparados os resultados das concentrações de REE obtidos pelo método proposto, MAWD-SRC, e aqueles obtidos pelo método de referência, MAWD.

A segunda maneira utilizada para avaliar a exatidão do método proposto foi através de ensaio de recuperação, sendo considerados os valores acima do LOQ. Os

valores de recuperação foram entre 90% e 107%. Resultados de recuperações semelhantes foram encontrados por Druzian *et al.* (2016), que utilizaram o método MAWD-SRC e USN-ICP-MS para determinar os REE em petróleo e obtiveram recuperações na faixa de 94% a 110% (DRUZIAN *et al.*, 2016).

Foi obtida uma faixa de recuperação de REE melhor, conforme apresentado na Tabela 12, em comparação com os resultados de recuperação apresentadas por Sayago *et al.* (2018) com faixa de 82% a 110%, e por Camin *et al.* (2010) com faixa de 82% a 101%. Assim, o uso da MAWD-SRC para decomposição de EVOO pode ser considerado uma forma viável de preparo de amostra para posterior determinação de REE por USN-ICP-MS. Recuperações semelhantes foram determinadas por Benincasa *et al.* (2012) com faixa de 100% a 104% para determinação de REE em EVOO (CAMIN *et al.*, 2010; BENINCASA *et al.*, 2012; SAYAGO *et al.*, 2018).

O branco da decomposição de 1 g de EVOO utilizando 8 mL de HNO_3 14,4 mol L⁻¹ e o programa de irradiação otimizado (programa de irradiação 7), foi determinado levando em consideração a diluição de 4 vezes para o cálculo do LOQ do método proposto, em que os valores estão apresentados na Tabela 14.

Vale ressaltar que a massa utilizada no método de referência foi de 0,4 g com 7 mL de HNO_3 mais 1 mL de H_2O_2 30% e os valores de DOC e RA foram 384 ± 27 mg L⁻¹ e 41% (v/v), respectivamente. Com isso, sendo necessário maior fator de diluição (10 vezes) se comparada com a diluição dos digeridos após MAWD-SRC (4 vezes) para evitar interferências provenientes da RA.

Tabela 13 – Resultados dos LOQ do método proposto MAWD-SRC e do método de referência MAWD para a determinação dos REE por USN-ICP-MS.

Analtios, ng g⁻¹	MAWD-SRC* LOQ	MAWD** LOQ
Y	0,4	3,3
La	0,5	4,3
Ce	0,7	6,8
Pr	0,2	2,2
Nd	0,07	2,5
Sm	0,08	1,0
Eu	0,03	0,4
Tb	0,01	0,1
Gd	0,09	0,9
Dy	0,1	1,2
Ho	0,02	0,2
Er	0,06	0,6
Tm	0,02	0,2
Yb	0,06	0,7
Lu	0,01	0,1

* MAWD-SRC: 1 g de EVOO; 8 mL de HNO₃ 14,4 mol L⁻¹; sistema micro-ondas UltraWAVE; potência de 1500 W ; temperatura máxima de 270 °C; pressão máxima de 80 bar.

** MAWD: 0,4 g de EVOO; 7 mL de HNO₃ 14,4 mol L⁻¹ e 1 mL de H₂O₂ 30% (v/v); sistema micro-ondas *Synthos*; potência de 600 W; temperatura máxima de 200 °C; pressão máxima não apresentada pelo sistema.

Fonte: Autor (2022)

Foi possível obter valores menores de LOQ com o método proposto (MAWD-SRC), na faixa de 0,01 a 0,7 ng g⁻¹, em comparação com os LOQ do método de referência (MAWD), que variaram na faixa de 0,1 a 6,8 ng g⁻¹. Os LOQ obtidos após MAWD-SRC foram entre 8,3 a 36 vezes menores que os valores obtidos no método MAWD.

Um fator importante na obtenção desses valores menores de LOQ para os REE por MAWD-SRC foi decomposição eficiente de 1,0 g EVOO quando comparada com a massa de EVOO utilizada na decomposição pelo método MAWD (0,4 g).

Além disso, os valores mais baixos de LOQ para o método MAWD-SRC foram obtidos devido à possibilidade de utilizar um menor fator de diluição (4 vezes) quando comparado ao fator utilizado no método MAWD (mínimo de 10 vezes) para adequar o teor de acidez residual próximo de 5%.

A partir da Tabela 13, observa-se que os LOQ foram significativamente mais baixos para o método proposto, variando de 3 a 13 vezes menores em comparação aos LOQ do método de referência. Esses melhores resultados do método de referência foram obtidos devido à decomposição eficiente de maior massa de EVOO. Além disso, o menor fator de diluição durante a etapa de determinação dos digeridos do método proposto favoreceu para obter LOQ significativamente menores em relação aos do método de referência.

4.7 DETERMINAÇÃO DE REE EM EVOO POR MAWD-SRC

O método proposto foi aplicado para a determinação dos REE em outras amostras de EVOO de nacionalidades distintas, utilizando as melhores condições estabelecidas, que consistem em 1 g de EVOO e 8 mL de HNO_3 14,4 mol L^{-1} , aplicando o programa de irradiação 7 e considerando o fator de diluição de 4 vezes, Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 15.

Tabela 14 – Concentrações dos REE em amostras de EVOO por USN-ICP-MS após MAWD-SRC.
Média \pm desvio padrão (ng g⁻¹), n = 3.

Analitos, ng g ⁻¹	Amostras de EVOO			
	Amostra-A	Amostra-B	Amostra-C	Amostra-D
Y	3,42 \pm 0,04	0,700 \pm 0,030	1,23 \pm 0,05	2,50 \pm 0,20
La	5,90 \pm 0,30	1,18 \pm 0,04	4,00 \pm 0,04	3,10 \pm 0,70
Ce	9,81 \pm 0,34	2,00 \pm 0,10	6,57 \pm 0,12	5,90 \pm 1,10
Pr	< 0,2	0,420 \pm 0,010	0,840 \pm 0,020	0,330 \pm 0,010
Nd	2,96 \pm 0,06	0,720 \pm 0,010	2,05 \pm 0,05	1,60 \pm 0,30
Sm	0,590 \pm 0,020	0,210 \pm 0,010	0,420 \pm 0,050	0,300 \pm 0,030
Eu	0,430 \pm 0,010	0,190 \pm 0,010	0,220 \pm 0,002	0,100 \pm 0,010
Tb	< 0,01	< 0,01	< 0,02	0,070 \pm 0,010
Gd	0,310 \pm 0,010	< 0,09	< 0,09	0,200 \pm 0,030
Dy	0,530 \pm 0,010	< 0,1	< 0,1	0,300 \pm 0,030
Ho	0,200 \pm 0,100	< 0,02	< 0,02	0,100 \pm 0,010
Er	0,560 \pm 0,020	0,145 \pm 0,002	0,210 \pm 0,010	0,100 \pm 0,010
Tm	< 0,02	< 0,02	0,050 \pm 0,003	< 0,02
Yb	0,410 \pm 0,030	0,150 \pm 0,010	0,220 \pm 0,004	0,200 \pm 0,010
Lu	1,30 \pm 0,30	0,210 \pm 0,020	0,210 \pm 0,003	0,040 \pm 0,010

Fonte: Autor (2022)

Com base nos valores de LOQ obtidos para os REE em EVOO após MAWD, seria possível determinar Y, La, Ce e Nd na Amostra-A, enquanto que para as amostras B e C seria possível a determinação apenas do Lu. Além disso, não seria possível determinar os REE da Amostra-D empregando a MAWD, uma vez que os valores dos REE estão abaixo dos LOQ desse método de referência.

Com isso, considerando os resultados dos LOQ obtidos pelo método de referência, bem como as concentrações dos REE das quatro amostras, conclui-se que não seria possível utilizar a MAWD para preparar amostras de EVOO e posteriormente determinar os REE por USN-ICP-MS. Portanto, fica evidenciada a eficácia do método MAWD-SRC proposto para decomposição de EVOO e posterior determinação dos REE por USN-ICP-MS.

Benincasa *et al.* (2007) obtiveram resultados Y, Sm, Eu e Gd variando de 0,004 a 0,4 ng g⁻¹ em 8 amostras azeite provenientes de regiões distintas da Itália. Apesar das concentrações de REE obtidas por Benincasa *et al.* (2007) serem menores quando comparadas com os resultados de REE determinados neste presente trabalho, apresentaram uma faixa de RSD significativamente alta, variando de 0,9% a 82,0% (BENINCASA *et al.*, 2007). Por outro lado, o método proposto do presente trabalho apresentou uma faixa de RSD entre 1,1% e 6,5%.

As concentrações de REE determinadas por Damak *et al.* (2021) foram La (2,6 a 3,2 ng g⁻¹), Ce (1,4 a 3,3 ng g⁻¹), Pr (2,6 a 3,0 ng g⁻¹), Eu (3,9 a 4,1 ng g⁻¹), Dy (0,1 a 0,3 ng g⁻¹), Ho (0,3 ng g⁻¹) e Lu (3,0 a 3,1 ng g⁻¹) (DAMAK *et al.*, 2021). Ao avaliar os resultados das concentrações dos REE nas amostras A, B, C e D com os resultados dos mesmos analitos apresentados por Damak *et al.* (2021), verificou-se que as concentrações de La da Amostra-B e Amostra-D, a concentração de Ce na Amostra-B, as concentrações de Dy na Amostra-A, B e D e as concentrações de Ho na Amostra-A e Amostra-D apresentaram resultados semelhantes. No entanto, os valores mais baixos das concentrações de Pr, Eu e Lu foram determinados nas amostras A, B, C e D. Portanto, isso mostra a importância e viabilidade do método MAWD-SRC desenvolvido neste trabalho para aplicar em outras amostras e possibilitar a quantificação dos REE mesmo em baixas concentrações, como o caso das amostras avaliadas por Damak *et al.* (2021).

O método proposto apresentou LOQs menores em comparação ao método de referência, uma vez que o método MAWD-SRC envolve a decomposição de uma massa relativamente elevada de amostra (1 g). Além disso, foi necessário um fator de diluição de apenas quatro vezes antes da introdução da amostra no ICP-MS. Assim, foi possível empregá-lo como método de decomposição para diversas amostras de EVOO possibilitando a determinação dos REE na faixa de ng g⁻¹. Com base na eficiência de decomposição aplicado para 1 g de EVOO, destaca-se a significativa

eficiência do método MAWD-SRC proposto aplicado para a decomposição de EVOO e determinação de REE por USN-ICP-MS.

5 CONCLUSÃO

Usando o método proposto MAWD-SRC foi possível combinar um bom desempenho na decomposição de uma matriz orgânica de elevada complexidade, como o EVOO, e massa significativamente elevada (1 g).

O método proposto possibilitou uma decomposição mais eficiente de uma maior massa de EVOO (1 g) em comparação com o método de referência (MAWD), que utiliza uma massa menor de EVOO (0,4 g). Para isso, foram utilizados 8 mL de HNO_3 14,4 mol L^{-1} na MAWD-SRC, enquanto na MAWD foram empregados 7 mL de HNO_3 14,4 mol L^{-1} e 1 mL de H_2O_2 para a decomposição de EVOO e posterior determinação de Ce, Dy, Er, Eu, Gd, Ho, La, Lu, Nd, Pr, Sm, Tb, Tm, Y e Yb por USN-ICP-MS. Após o emprego do método MAWD-SRC, não houve interferência de DOC e RA nos digeridos diluídos quatro vezes. Além disso, o método proposto permitiu reduzir o fator de diluição para quatro vezes, enquanto que utilizando o método de referência (MAWD) foi necessário diluir no mínimo dez vezes para evitar interferências na determinação dos REE por USN-ICP-MS.

Com o método proposto, foi possível obter menores valores de LOQs (0,01 a 0,7 ng g^{-1}) em comparação com o método MAWD (0,1 a 6,8 ng g^{-1}), possibilitando a quantificação de um número maior de REE em concentrações baixíssimas.

Importante destacar que o método proposto permitiu, pela primeira vez, decompor de maneira eficiente uma massa significativamente elevada de EVOO (1 g) em um sistema fechado, com baixos teores de DOC e RA, apresentando valores de 129 mg L^{-1} e 7%, respectivamente. Por fim, o método MAWD-SRC assegurou resultados precisos (entre 1,1% e 6,5%), com bons resultados de recuperação (90% a 107%) para as concentrações dos REE em concentrações baixas, com LOQ entre 0,01 e 0,7 ng g^{-1} , o que pode contribuir para os estudos de autenticidade do EVOO.

REFERÊNCIAS

- ACETO, M.; CALÀ, E.; MUSSO, D.; REGALLI, N.; ODDONE, M. A. preliminary study on the authentication and traceability of extra virgin olive oil made from Taggiasca olives by means of trace and ultra-trace elements distribution. **Food Chemistry**, 2019, 298, 125047.
- AGATEMOR, C.; BEAUCHEMIN, D. Matrix effects in inductively coupled plasma mass spectrometry: A review. **Analytica Chimica Acta**, 2011, 706, 66–83.
- ALLALOUT, A.; KRICHÈNE, D.; METHENNI, K.; TAAMALLI, A.; OUESLATI, I.; DAOUD, D.; ZARROUK, M. Characterization of virgin olive oil from super intensive spanish and greek varieties grown in northern Tunisia. **Scientia Horticulturae**, 2009, 120.
- ANDRADE, D.; DIAS, C. S.; PEREIRA, M. S.; SALIM, C. D.; CREXI, V. T. Azeite de oliva da região da campanha: padrões de identidade e qualidade **Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão**, 2017.
- ANSCHAU, K. F.; ENDERS, M. S. P.; SENGER, C. M.; DUARTE, F. A.; DRESSLER, V. L. A novel strategy for medical foods digestion and subsequent elemental determination using inductively coupled plasma optical emission spectrometry. **Microchemical Journal**, 2019, 147, 1055-1060.
- ANTON PAAR, Áustria, **Multiwave 7000®**, **Microwave Sample Preparation**. Disponível em: anton-paar.com/br-pt/, 2022.
- BARIN, J. S.; TISCHER, B.; PICOLOTO, R. S.; ANTES, F. G.; DA SILVA, F. E. B.; PAULA, F. R.; FLORES, E. M. M. Determination of toxic elements in tricyclic active pharmaceutical ingredients by ICP-MS: a critical study of digestion methods. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 2014, 29, 352.
- BENINCASA, C.; LEWIS, J.; PERRI, E.; SINDONA, G.; TAGARELLI, A. Determination of trace element in Italian virgin olive oils and their characterization according to geographical origin by statistical analysis. **Analytica Chimica Acta**, 2007, 585, 366-370.
- BENINCASA, C.; GHARSALLAOUI, M.; PERRI, E.; BRICCOLI BATI, C.; AYADI, M.; KHLIF, M.; GABSI, S. Quality and Trace Element Profile of Tunisian Olive Oils Obtained from Plants Irrigated with Treated Wastewater. **Scientific World Journal**, 2012, 2012, 1-11.
- BIZZI, C. A.; PEDROTTI, M. F.; BETIOLO, D. M.; NASCIMENTO, M. S.; MULLER, E. I.; CRAVOTTO, G.; FLORES, E. M. M. Development of an eco-friendly sample preparation protocol for metal determination in food samples: an oxygen pressurized single reaction chamber using diluted nitric acid. **Analytical Methods**, 2021, 13, 5555–5563.
- BOSKOU, D. **Olive Oil: Chemistry and Technology**. 2 ed, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 270, de Setembro de 2005**, 2005.

BRENNER, I. B.; MERMET, J. M.; SEGAL, I.; LONG, G. L. Effect of nitric and hydrochloric acids on rare earth element (REE) intensities in inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, 1995, 50, 323-331.

BRUSCATTO, M. H.; ZAMBIAZI, R. C.; CRIZEL-CARDOSO, M.; PIATNICKI, C. M. S.; MENDONÇA, C. R. B.; DUTRA, F. L. G.; COUTINHO, E. F. Chemical characterization and oxidative stability of olive oils extracted from olive trees of Southern Brazil. **Food Technology**, 2017, 52, 1231-1240.

BULSKA, E.; DANKO, B.; DYBCZYŃSKI, R. S.; KRATA, A.; KULISA, K.; SAMCZYŃSKI, Z.; WOJCIECHOWSKI, M. Inductively coupled plasma mass spectrometry in comparison with neutron activation and ion chromatography with UV/VIS detection for the determination of lanthanides in plant materials. **Talanta**, 2012, 97, 303–311.

CAMIN, F.; LARCHER, R.; PERINI, M.; BONTEMPO, L.; BERTOLDI, D.; GAGLIANO, G.; NICOLINI, G.; VERSINI, G. Characterisation of Authentic Italian Extra-Virgin Olive Oils by Stable Isotope Ratios of C, O and H and Mineral Composition. **Food Chemistry**, 2010, 118, 901–909.

CANALS, A.; GRAS, L.; CONTRERAS, H. Elimination of nitric acid interference in ICP-AES by using a cyclonic spray chamber/Nafion membrane-based desolvation system. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 2002, 17, 219–226.

CECCHI, L.; MIGLIORINI, M.; MULINACCI, N. Virgin Olive Oil Volatile Compounds: Composition, Sensory Characteristics, Analytical Approaches, Quality Control, and Authentication. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2021, 69, 2013-2040.

CODEX ALIMENTARIUS, Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Food and Agriculture Organization**, 2022.

CONTE, L.; BENDINI, A.; VALLI, E.; LUCCI, P.; MORET, S.; MAQUET, A.; LACOSTE, F.; BRERETON, P.; GARCÍA-GONZÁLEZ, D. L.; MOREDA, W.; TOSCHI, T. G. Olive oil quality and authenticity: A review of current EU legislation, standards, relevant methods of analyses, their drawbacks and recommendations for the future. **Trends in Food Science & Technology**, 2020, 105, 483-493.

CURRIE, L. A. Nomenclature in evaluation of analytical methods including detection and quantification capabilities (IUPAC) Recommendations 1995). **Pure and Applied Chemistry**, 1995, 67, 1699–1723.

DALLA NORA, F. M.; CRUZ, S. M.; GIESBRECHT, C. K.; KNAPP, G.; WILTSCHE, H.; BIZZI, C. A.; BARIN, J. S.; FLORES, E. M. M. A new approach for the digestion of diesel oil by microwave-induced combustion and determination of inorganic

impurities by ICP-MS. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 2017, 32, 408-414.

DAMAK, F.; BOUGI, M. S. M.; ARAOKA, D.; BABA, K.; FURUYA, M.; KSIBI, M.; TAMURA, K. Soil geochemistry, edaphic and climatic characteristics as components of Tunisian olive terroirs: Relationship with the ultielemental composition of olive oils for their geographical traceability. **Euro-Mediterranean Journal for Environmental Integration**, 2021, 6.

DRUZIAN, G. T.; PEREIRA, L. S. F.; MELLO, P. A.; MESKO, M. F.; DUARTE, F. A.; FLORES, E. M. M. Rare earth element determination in heavy crude oil by USN-ICP-MS after digestion using a microwave-assisted single reaction chamber. **Royal Society of Chemistry**, 2016, 31.

DRUZIAN, G. T. **Desenvolvimento de métodos analíticos e estudo de interferências para a determinação de elementos de terras raras no sangue pelo ICP-MS**. Tese de Doutorado, Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria-RS, 2021. 238 p.

DUBUISSON, C.; POUSSSEL, E.; TODOLI, J. L.; MERMET, J. M. Effect of sodium during the aerosol transport and filtering in inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, 1998, 53, 593–600.

DULSKI, P. Interferences of oxide, hydroxide and chloride analyte species in the determination of rare earth elements in geological samples by inductively coupled plasmamass spectrometry. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**, 1994, 350, 194-203.

EL-TAHER, A. Elemental analysis of granite by instrumental neutron activation analysis (INAA) and X-ray fluorescence analysis (XRF). **Applied Radiation and Isotopes**, 2012, 70, 350–354.

EL-TAHER, A.; ABDELHALIM, M. A. K. Elemental analysis of limestone by instrumental neutron activation analysis. **Journal Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, 2014, 299, 1949–1953.

ENDERS, M. S. P.; ANSCHAU, K. F.; DONEDA, M.; DRUZIAN, G. T.; GOMES, A. D. O.; GUMARAES, R. C. L.; FLORES, E. M. M.; MÜLLER, E. I. Characterization of Inorganic Solids Present in Brazilian Crude Oil Emulsions using Scanning Electron Microscopy (SEM) with Energy-Dispersive X-ray Spectrometry (EDS): Evaluation of the Effect of Solvents. **Energy & Fuels**, 2020.

EUROPEAN UNION. Commission Regulation (EC) 702/2007 of 21 June 2007, amending Commission Regulation (EEC) No 2568/91 on the characteristics of olive oil and oliveresidue oil and on the relevant methods of analysis. **Official Journal of the European Union**, 2007.

EUROPEAN UNION. **2020 Annual Report, The EU Food Fraud Network and the Administrative Assistance and Cooperation System**, 2021.

FARMAKI, E. G.; THOMAIDIS, N. S.; MINIOTI, K. S.; IOANNOU, E.; GEORGIU, C. A.; EFSTATHIOU, C. E. Geographical characterization of Greek olive oils using rare earth elements content and supervised chemometric techniques. **Analytical Letters**, 2012, 45, 920-932.

FERNÁNDEZ, A.; MURILLO, M.; CARRIÓN, N.; MERMET, J. M. Influence of operating conditions on the effects of acids in inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 1994, 9, 217–221.

FLORES, E. M. M. **Microwave-assisted sample preparation for trace element determination**, 2014.

FLORI, L.; DONNINI, S.; CALDERONE, V.; ZINNAI, A.; TAGLIERI, I.; VENTURI, F.; TESTAI, L. The Nutraceutical Value of Olive Oil and Its Bioactive Constituents on the Cardiovascular System. Focusing on Main Strategies to Slow Down Its Quality Decay during Production and Storage. **Nutrients**, 2019, 11(9), 1962.

U.S. FOOD & DRUG ADMINISTRATION. **FDA allows qualified health claim to decrease risk of coronary heart disease**. 2018. Acessado em 01 Dez 2022.

FREGAPANE, G.; SALVADOR, M. D. Production of superior quality extra virgin olive oil modulating the content and profile of its minor components. **Food Research International**, 2013, 54, 1907-1914.

GRINDLAY, G.; GRAS, L.; MORA, J.; DE LOOS-VOLLEBREGT, M. T. C. Carbon-related matrix effects in inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, 2008, 63, 234–243.

GRINDLAY, G.; MORA, J.; DE LOOS-VOLLEBREGT, M.; VANHAECKE, F. A systematic study on the influence of carbon on the behavior of hard-to-ionize elements in inductively coupled plasma–mass spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, 2013, 86, 42–49.

INTERNATIONAL OLIVE COUNCIL. **Trade standard applying to olive oils and olive pomace oils**. COI/T.15/NC n° 3/Rev. 6, 2011. Acessado em 10 Dez 2022.

KARADAŞ, C.; KARA, D. Determination of rare earth elements in waters by inductively coupled plasma optical emission spectrometry after preconcentration with 6-(2-thienyl)-2-pyridinecarboxaldehyde functionalized Amberlite XAD-4 resin. **Water Science and Technology**, 2013, 69, 312–319.

KAYASTH, A.; SWAIN, K. Determination of rare-earth elements in Periyar River water (Kerala, India) and seawater (Mumbai, India) using neutron activation analysis. **Journal Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, 2004, 262, 191-194.

KORN, M. G. A.; SANTOS, D. C. M. B.; GUIDA, M. A. B.; BARBOSA, I. S.; PASSOS, M. L. C.; SARAIVA, M. L. M. F. S.; LIMA, J. L. F. C. Evaluation of digestion procedures for simultaneous determination of Ca, P, Mg, K and Na in biodiesel by

inductively coupled plasma optical emission spectrometry. **Journal of Brazilian Chemical Society**, 2010, 21, 2278–2284.

KRICHENE, D.; ALLALOUT, A.; MANCEBO-CAMPOS, V.; SALVADOR, M. D.; ZARROUK, M. Fregapane, G. Stability of virgin olive oil and behaviour of its natural antioxidants under medium temperature accelerated storage conditions. **Food Chemistry**, 2010, 121, 171–177.

KRISHNAKUMAR, M.; CHAKRAPANI, G.; SATYANARAYANA, K.; MUKKANTI, K. Selective matrix removal and ICP-OES determination of trace uranium, rare earth elements and yttrium in zircon minerals. **Journal Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, 2015, 307, 497–505.

KRUG, F. J.; ROCHA, F. R. P. **Métodos de preparo de amostras para análise elementar**. SBQ, 2 ed., 2019.

LAUTENSCHLÄGER, W.; NÓBREGA, J. A.; BIZZI, C.; CARNAROGLIO, D.; COLNAGHI, G. **Sample preparation for elemental analysis: from evolution to revolution**. 1 ed., 2020.

LECLERCQ, A.; NONELL, A.; TODOLÍ TORRÓ, J. L.; BRESSON, C.; VIO, L.; VERCOUTER, T. Chartier, F. Introduction of organic/hydro-organic matrices in inductively coupled plasma optical emission spectrometry and mass spectrometry: A tutorial review. Part I. Theoretical considerations. **Analytica Chimica Acta**, 2015, 885, 33–56.

LIDE, D. R. **CRC Handbook of Chemistry and Physics**. CRC Press, 2005.

MAGNUSSON, B.; ÖRNEMARK, U. **Eurachem Guide: The fitness for purpose of analytical methods - A laboratory guide to method validation and related topics**, 2014.

MATTHÄUS, B.; WILLENBERG, I.; ENGERT, S.; STEINBERG, P. The German National Reference Centre for Authentic Food (NRZ-Authent). **OCL-Oilseeds Fats Crops Lipids**, 2019, 26.

MAY, T. W.; WIEDMEYER, R. H. A table of polyatomic interferences in ICP-MS. **Atomic Spectroscopy**, 1998, 19, 150-155.

MESKO, M. F.; DE MORAES, D. P.; BARIN, J. S.; DRESSLER, V. L.; KNAPP, G.; FLORES, E. M. M. Digestion of biological materials using the microwave-assisted sample combustion technique. **Microchemical Journal**, 2006, 82, 183–188.

MITRA, S. E.; SONS, J. W. **Sample Preparation Techniques in Analytical Chemistry**, 2003.

MONTASER, A.; MINNICH, M. G.; MCLEAN, J. A.; LIU, H. **Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS)**, 1998.

MORAIS, L. G. **Olivicultura do Rio Grande do Sul registra nova safra recorde e azeites gaúchos são qualificados com o Selo Premium**, Ibraoliva, 2022.

MULLER, A. L. H.; OLIVEIRA, J. S. S.; MELLO, P. A.; MULLER, E. I.; FLORES, E. M. M. Study and determination of elemental impurities by ICP-MS in active pharmaceutical ingredients using single reaction chamber digestion in compliance with USP requirements. **Talanta**, 2015, 136, 161–169.

NASR, E. G.; EPOVA, M. S.; SEBILO, M.; LARIVIÈRE, D.; HAMMAMI, M.; SOUISSI, R.; ABDERRAZAK, H.; DONARD, O. F. X. Olive Oil Traceability Studies Using Inorganic and Isotopic Signatures: A Review. **Molecules**, 2022, 27.

SrL, M. **UltraWAVE**, operator manual, 2013.

PANEL ON DIETETIC PRODUCTS. Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to olive oil and maintenance of normal blood LDL-cholesterol concentrations (ID 1316, 1332), (ID 1316, 1332), (ID 1316, 1332) and (ID 4244), Regulation (EC) n° 1924/2006. **European Food Safety Authority Journal**, 2011, 9, 2044.

PEREIRA, J. S. F. **Desenvolvimento de métodos de preparo de amostras de petróleo e posterior determinação de elementos terras raras por ICP-MS**, Tese de Doutorado, Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria-RS, 2011, 196 p.

PEREIRA, J. S. F.; PEREIRA, L. S. F.; MELLO, P. A.; GUIMARÃES, R. C. L.; GUARNIERI, R. A.; FONSECA, T. C. O.; FLORES, E. M. M. Microwave-induced combustion of crude oil for further rare earth elements determination by USN-ICP-MS. **Analytica Chimica Acta**, 2014, 844, 8-14.

PEREIRA, J. S. F.; MELLO, P. A.; MORAES, D. P.; DUARTE, F. A.; DRESSLER, V. L.; KNAPP, G.; FLORES, E. M. M. Chlorine and sulfur determination in extra-heavy crude oil by inductively coupled plasma optical emission spectrometry after microwave-induced combustion. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, 2009, 64, 554-558.

PERKINELMER SCIEX. INTERFERENCES AND DRC INFORMATION. **Isotope abundances, interferences and DRC information**, 2008.

PINTO, F. G.; TRONTO, J.; LEPRI, F. G.; TORMEN, L.; PIERRE, T. D. S.; COSTA, L. M.; BEINNER, M. A.; SILVA, J. B. B. Study of Ultrasonic and Pneumatic Nebulizers for ICP-MS Determination of Rare Earth Elements in Geological Samples. **Atomic Spectroscopy**, 2015, 36.

POŠĆIĆ, F.; FURDEK TURK, M.; BAĆIĆ, N.; MIKAC, N.; BERTOLDI, D.; CAMIN, F.; JUKIĆ ŠPIKA, M.; ŽANETIĆ, M.; RENGEL, Z.; PERICA, S. Removal of Pomace Residues Is Critical in Quantification of Element Concentrations in Extra Virgin Olive Oil. **Journal Food Composition Analysis**, 2019, 77, 39-46.

POŠČIĆ, F.; ŽANETIĆ, M.; FIKET, Ž.; TURK, M. F.; MIKAC, N.; BAČIĆ, N.; LUČIĆ, M.; ROMIĆ, M.; BAKIĆ, H.; ŠPIKA, M. J.; URLIĆ, B.; RUNJIĆ, M.; SELAK, G. V.; VITANOVIĆ, E. Klepo, T., Rošin, J., Rengel, Z., & Perica, S. Accumulation and partitioning of rare earth elements in olive trees and extra virgin olive oil from Adriatic coastal region. **Plant and Soil**, 2020, 448, 133-151.

QUINTANILLA-CASAS, B.; TORRES-COBOS, B.; GUARDIOLA, F.; SERVILI, M.; ALONSO-SALCES, R. M.; VALLI, V.; BENDINI, B.; TOSCHI, T. G.; VICHI, S.; TRES, A. Geographical authentication of virgin olive oil by GC–MS sesquiterpene hydrocarbon fingerprint: Verifying EU and single country label-declaration. **Food Chemistry**, 2022, 378.

REINERS, J.; GROSCHE, W. Odorants of virgin olive oils with different flavor profiles. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 1998, 46, 2754–2763.

SAVIO, M.; ORTIZ, M. S.; ALMEIDA, C. A.; OLSINA, R. A.; MARTINEZ, L. D.; GIL, R. A. Multielemental analysis in vegetable edible oils by inductively coupled plasma mass spectrometry after solubilisation with tetramethylammonium hydroxide. **Food Chemistry**, 2014, 159, 433–438.

SAYAGO, A.; GONZÁLEZ-DOMÍNGUEZ, R.; BELTRÁN, R.; FERNÁNDEZ-RECAMALES, Á. Combination of Complementary Data Mining Methods for Geographical Characterization of Extra Virgin Olive Oils Based on Mineral Composition. **Food Chemistry**, 2018, 261, 42–50.

SILVA, J. S.; HENN, A. S.; DRESSLER, V. L.; MELLO, P. A.; FLORES, E. M. M. Feasibility of Rare Earth Element Determination in Low Concentration in Crude Oil: Direct Sampling Electrothermal Vaporization-Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. **Analytical Chemistry**, 2018, 90, 7064-7071.

TODOLÍ, J. L.; MERMET, J. M. Acid interferences in atomic spectrometry: analyte signal effects and subsequent reduction. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, 1999, 54, 895–929.

VAN DURME, J.; VANDAMME, J. Non-thermal plasma as preparative technique to evaluate olive oil adulteration. **Food Chemistry**, 2016, 208, 185-191.

WASILEWSKA, M.; GOESSLER, W.; ZISCHKA, M.; MAICHIN, B.; KNAPP, G. Efficiency of oxidation in wet digestion procedures and influence from the residual organic carbon content on selected techniques for determination of trace elements. **Journal Analytical Atomic Spectrometry**, 2002, 17, 1121–1125.

YAN, J.; ERASMUS, S. W.; AGUILERA TORO, M.; HUANG, H.; VAN RUTH, S. M. Food Fraud: Assessing Fraud Vulnerability in the Extra Virgin Olive Oil Supply Chain. **Food Control**, 2020, 111.

ANEXO A

Interferências poliatômicas observadas sobre a determinação de elementos terras raras por ICP-MS, adaptado das referências de Dulski (1994), May (1998), Perkinelmer (2008) (DULSKI, 1994; MAY, 1998; PERKINELMER SCIEEX, I. A., INTERFERENCES AND DRC INFORMATION, REVISADO POR R., 2008).

Os valores em verde correspondem ao isótopo de maior abundância e em vermelho estão mostradas as interferências poliatômicas mais críticas.

Isótopo (m/z)	Elemento (abundância, %)	Interferência
89	Y (100)	
136	Ce (0,19)	
138	La (0,0902), Ba (71,70), Ce (0,25)	
139	La (99,9098)	
140	Ce (88,48)	
141	Pr (100)	
142	Nd (27,13), Ce (11,08)	
143	Nd (12,18)	
144	Nd (23,80), Sm (3,1)	$^{96}\text{Ru}^{16}\text{O}_3^+$
145	Nd (8,30)	
146	Nd (17,19)	$^{98}\text{Ru}^{16}\text{O}_3^+$, $^{130}\text{Ba}^{16}\text{O}^+$
147	Sm (15,0)	$^{99}\text{Ru}^{16}\text{O}_3^+$, $^{130}\text{Ba}^{17}\text{O}^+$, $^{130}\text{Ba}^{17}\text{OH}$
148	Sm (11,3), Nd (5,76)	$^{100}\text{Ru}^{16}\text{O}_3^+$, $^{130}\text{Ba}^{18}\text{O}^+$, $^{132}\text{Ba}^{16}\text{O}^+$
149	Sm (13,8)	$^{101}\text{Ru}^{16}\text{O}_3^+$, $^{132}\text{Ba}^{17}\text{O}^+$, $^{32}\text{Ba}^{17}\text{OH}$
150	Sm (7,4), Nd (5,64)	$^{102}\text{Ru}^{16}\text{O}_3^+$, $^{132}\text{Ba}^{18}\text{O}^+$, $^{134}\text{Ba}^{16}\text{O}^+$
151	Eu (47,8)	$^{135}\text{Ba}^{16}\text{O}^+$, $^{134}\text{Ba}^{17}\text{O}^+$, $^{135}\text{Ba}^{16}\text{O}^+$, $^{134}\text{Ba}^{17}\text{OH}$
152	Sm (26,7), Gd (0,20)	$^{104}\text{Ru}^{16}\text{O}_3^+$, $^{136}\text{Ce}^{16}\text{O}^+$, $^{134}\text{Ba}^{18}\text{O}^+$, $^{135}\text{Ba}^{17}\text{O}^+$, $^{136}\text{Ba}^{16}\text{O}^+$, $^{135}\text{Ba}^{17}\text{OH}$
153	Eu (52,2)	$^{137}\text{Ba}^{16}\text{O}^+$, $^{136}\text{Ce}^{17}\text{O}^+$, $^{135}\text{Ba}^{18}\text{O}^+$, $^{136}\text{Ba}^{17}\text{O}^+$, $^{137}\text{Ba}^{16}\text{O}^+$, $^{136}\text{Ba}^{17}\text{OH}$
154	Sm (22,8), Gd (2,18)	$^{138}\text{Ba}^{16}\text{O}^+$, $^{138}\text{La}^{16}\text{O}^+$, $^{138}\text{Ce}^{16}\text{O}^+$, $^{136}\text{Ce}^{18}\text{O}^+$, $^{136}\text{Ba}^{18}\text{O}^+$, $^{137}\text{Ba}^{17}\text{O}^+$, $^{137}\text{Ba}^{17}\text{OH}$

155	Gd (14,80)	$^{138}\text{Ba}^{17}\text{OH}$, $^{139}\text{La}^{16}\text{O}^+$, $^{138}\text{Ba}^{17}\text{O}^+$, $^{137}\text{Ba}^{18}\text{O}^+$, $^{138}\text{La}^{17}\text{O}^+$, $^{138}\text{La}^{17}\text{OH}$, $^{138}\text{Ce}^{17}\text{O}^+$, $^{138}\text{Ce}^{17}\text{OH}$
156	Gd (20,47), Dy (0,06)	$^{140}\text{Ce}^{16}\text{O}^+$, $^{138}\text{Ba}^{18}\text{O}^+$, $^{139}\text{La}^{17}\text{O}^+$, $^{139}\text{La}^{17}\text{OH}$, $^{138}\text{La}^{18}\text{O}^+$, $^{138}\text{Ce}^{18}\text{O}^+$,
157	Gd (15,65)	$^{141}\text{Pr}^{16}\text{O}^+$, $^{139}\text{La}^{18}\text{O}^+$, $^{140}\text{Ce}^{17}\text{O}^+$, $^{140}\text{Ce}^{17}\text{OH}$
158	Gd (24,84), Dy (0,10)	$^{142}\text{Nd}^{16}\text{O}^+$, $^{140}\text{Ce}^{18}\text{O}^+$, $^{142}\text{Ce}^{16}\text{O}^+$, $^{141}\text{Pr}^{17}\text{O}^+$, $^{141}\text{Pr}^{17}\text{OH}$
159	Tb (100)	$^{143}\text{Nd}^{16}\text{O}^+$, $^{142}\text{Nd}^{17}\text{O}^+$, $^{142}\text{Nd}^{17}\text{OH}$, $^{142}\text{Ce}^{17}\text{O}^+$, $^{142}\text{Ce}^{17}\text{OH}$, $^{141}\text{Pr}^{18}\text{O}^+$
160	Gd (21,86), Dy (2,34)	$^{144}\text{Nd}^{16}\text{O}^+$, $^{142}\text{Nd}^{18}\text{O}^+$, $^{143}\text{Nd}^{17}\text{O}^+$, $^{143}\text{Nd}^{17}\text{OH}$, $^{144}\text{Sm}^{16}\text{O}^+$, $^{142}\text{Ce}^{18}\text{OH}$, $^{142}\text{Ce}^{18}\text{O}^+$, $^{141}\text{Pr}^{19}\text{OH}$
161	Dy (18,9)	$^{145}\text{Nd}^{16}\text{O}^+$, $^{143}\text{Nd}^{18}\text{O}^+$, $^{144}\text{Nd}^{17}\text{O}^+$, $^{144}\text{Sm}^{17}\text{O}^+$, $^{144}\text{Sm}^{17}\text{OH}$
162	Dy (25,5), Er (0,14)	$^{146}\text{Nd}^{16}\text{O}^+$, $^{144}\text{Nd}^{18}\text{O}^+$, $^{145}\text{Nd}^{17}\text{O}^+$, $^{145}\text{Nd}^{17}\text{OH}$, $^{144}\text{Sm}^{18}\text{O}^+$
163	Dy (24,9)	$^{145}\text{Nd}^{18}\text{O}^+$, $^{146}\text{Nd}^{17}\text{O}^+$, $^{146}\text{Nd}^{17}\text{OH}$, $^{147}\text{Sm}^{16}\text{O}^+$
164	Dy (28,2), Er (1,61)	$^{148}\text{Nd}^{16}\text{O}^+$, $^{146}\text{Nd}^{18}\text{O}^+$, $^{147}\text{Sm}^{17}\text{O}^+$, $^{147}\text{Sm}^{17}\text{OH}$, $^{148}\text{Sm}^{16}\text{O}^+$
165	Ho (100)	$^{148}\text{Nd}^{17}\text{O}$, $^{148}\text{Nd}^{17}\text{OH}$, $^{147}\text{Sm}^{18}\text{O}$, $^{148}\text{Sm}^{17}\text{O}$, $^{148}\text{Sm}^{17}\text{OH}$, $^{149}\text{Sm}^{16}\text{O}$, $^{130}\text{Ba}^{35}\text{Cl}$
166	Er (33,6)	$^{150}\text{Nd}^{16}\text{O}$, $^{148}\text{Nd}^{18}\text{O}$, $^{150}\text{Sm}^{16}\text{O}$, $^{148}\text{Sm}^{18}\text{O}$, $^{149}\text{Sm}^{17}\text{OH}$, $^{149}\text{Sm}^{17}\text{O}$
167	Er (22,95)	$^{151}\text{Eu}^{16}\text{O}$, $^{150}\text{Nd}^{17}\text{O}$, $^{150}\text{Nd}^{17}\text{OH}$, $^{149}\text{Sm}^{18}\text{O}$, $^{150}\text{Sm}^{17}\text{O}$, $^{150}\text{Sm}^{17}\text{OH}$, $^{132}\text{Ba}^{35}\text{Cl}$
168	Er (26,8), Yb (0,13)	$^{152}\text{Sm}^{16}\text{O}$, $^{151}\text{Eu}^{17}\text{O}$, $^{151}\text{Eu}^{17}\text{OH}$, $^{150}\text{Sm}^{18}\text{O}$, $^{150}\text{Nd}^{18}\text{O}$, $^{152}\text{Gd}^{16}\text{O}$
169	Tm (100)	$^{153}\text{Eu}^{16}\text{O}$, $^{151}\text{Eu}^{18}\text{O}$, $^{152}\text{Sm}^{17}\text{O}$, $^{152}\text{Sm}^{17}\text{OH}$, $^{152}\text{Gd}^{17}\text{O}$, $^{152}\text{Gd}^{17}\text{OH}$, $^{134}\text{Ba}^{35}\text{Cl}$, $^{132}\text{Ba}^{37}\text{Cl}$
170	Er (14,9), Yb (3,05)	$^{154}\text{Sm}^{16}\text{O}$, $^{152}\text{Sm}^{18}\text{O}$, $^{153}\text{Eu}^{17}\text{O}$, $^{153}\text{Eu}^{17}\text{OH}$, $^{154}\text{Gd}^{16}\text{O}$, $^{152}\text{Gd}^{18}\text{O}$, $^{135}\text{Ba}^{35}\text{Cl}$
171	Yb (14,3)	$^{154}\text{Sm}^{17}\text{O}$, $^{154}\text{Sm}^{17}\text{OH}$, $^{153}\text{Eu}^{18}\text{O}$, $^{155}\text{Gd}^{16}\text{O}$, $^{154}\text{Gd}^{17}\text{O}$, $^{154}\text{Gd}^{17}\text{OH}$, $^{136}\text{Ba}^{35}\text{Cl}$, $^{134}\text{Ba}^{37}\text{Cl}$
172	Yb (21,9)	$^{156}\text{Gd}^{16}\text{O}$, $^{154}\text{Gd}^{18}\text{O}$, $^{155}\text{Gd}^{17}\text{O}$, $^{155}\text{Gd}^{17}\text{OH}$, $^{156}\text{Dy}^{16}\text{O}$, $^{154}\text{Sm}^{18}\text{O}$, $^{137}\text{Ba}^{35}\text{Cl}$, $^{135}\text{Ba}^{37}\text{Cl}$

173	Yb (16,12)	$^{157}\text{Gd}^{16}\text{O}$, $^{156}\text{Gd}^{17}\text{O}$, $^{156}\text{Gd}^{17}\text{OH}$, $^{155}\text{Gd}^{18}\text{O}$, $^{138}\text{Ba}^{35}\text{Cl}$, $^{136}\text{Ba}^{37}\text{Cl}$
174	Yb (31,8)	$^{158}\text{Gd}^{16}\text{O}$, $^{156}\text{Gd}^{18}\text{O}$, $^{157}\text{Gd}^{17}\text{O}$, $^{157}\text{Gd}^{17}\text{OH}$, $^{158}\text{Dy}^{16}\text{O}$, $^{137}\text{Ba}^{37}\text{Cl}$
175	Lu (97,41)	$^{159}\text{Tb}^{16}\text{O}$, $^{158}\text{Gd}^{17}\text{O}$, $^{158}\text{Gd}^{17}\text{OH}$, $^{157}\text{Gd}^{18}\text{O}$, $^{138}\text{Ba}^{37}\text{Cl}$
176	Yb (12,7), Lu (2,59)	$^{160}\text{Gd}^{16}\text{O}$, $^{158}\text{Gd}^{18}\text{O}$, $^{159}\text{Tb}^{17}\text{O}$, $^{159}\text{Tb}^{17}\text{OH}$, $^{160}\text{Dy}^{16}\text{O}$

Fonte: Dulski (1994), May (1998), Perkinelmer (2008).