

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

Renan Buque Pardini

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS DE PREPARO DE AMOSTRAS
DE ERVA-MATE PARA POSTERIOR DETERMINAÇÃO DE As, Cd E
Pb POR GF AAS E ICP-MS**

Santa Maria, RS

2016

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS DE PREPARO DE AMOSTRAS
DE ERVA-MATE PARA POSTERIOR DETERMINAÇÃO DE As, Cd E
Pb POR GF AAS E ICP-MS**

por

Renan Buque Pardino

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química,
Área de Química Analítica, da Universidade Federal de Santa Maria
(RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em
Química**

Santa Maria, RS, Brasil

2016

Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Naturais e Exatas
Departamento de Química
Programa de Pós-Graduação em Química

A Comissão Examinadora abaixo assinada, aprova a Dissertação de Mestrado

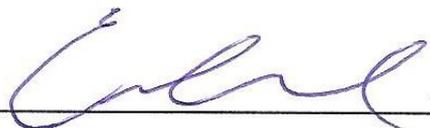
**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS DE PREPARO DE AMOSTRAS DE ERVA-
MATE PARA A POSTERIOR DETERMINAÇÃO DE As, Cd E Pb POR GF AAS E
ICP-MS**

Elaborada por

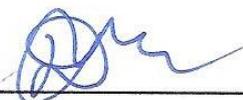
Renan Buque Pardino

Como requisito parcial para a obtenção do grau de
Mestre em Química

COMISSÃO EXAMINADORA:



Prof. Dr. Érico Marlon de Moraes Flores – Orientador (UFSM-RS)



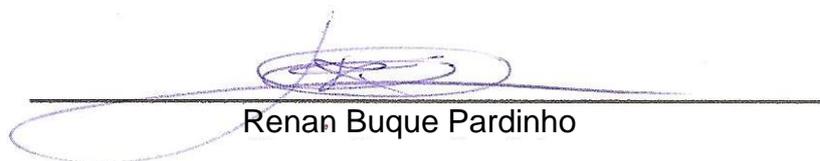
Prof. Dr. Diogo Pompéu de Moraes (UFRGS-RS)



Prof. Dr. Fábio Andrei Duarte (UFSM-RS)

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.



Renan Buque Pardini

AGRADECIMENTOS

À **Universidade Federal de Santa Maria (UFSM)**, ao **Programa de Pós-Graduação em Química (PPGQ)** e ao **Laboratório de Análises Químicas Industriais e Ambientais (LAQIA)**, pela oportunidade de execução deste trabalho.

Ao Prof. Dr. **Érico Marlon de Moraes Flores**, pela orientação neste trabalho, pelo exemplo de dedicação profissional, pelas oportunidades de crescimento profissional e pessoal, pelo convívio, amizade e incentivo.

Ao Prof. Dr. **Fábio Andrei Duarte** e a Prof. Dra. **Paola de Azevedo Mello**, por participar como membro no exame de qualificação e da banca examinadora desta dissertação, respectivamente, pelas valiosas contribuições, amizade e convívio.

Ao Prof. Dr. **Diogo Pompéu de Moraes** pela participação na banca examinadora desta dissertação e pelas valiosas sugestões que contribuíram para o aprimoramento deste trabalho.

Aos Profs. Drs, **Cezar Augusto Bizzi**, **Edson Irineu Muller**, **José Neri Gottfried Paniz**, **Juliano Smanioto Barin**, **Rodrigo Cordeiro Bolzan** e **Valderi Luiz Dressler** pelas contribuições durante o desenvolvimento deste trabalho, bem como a amizade e convívio.

Aos colegas e funcionários do **LAQIA/CEPETRO**, pelo convívio, amizade e colaboração. E a todos os colegas que contribuíram na execução prática e teórica deste trabalho.

Aos funcionários da secretaria do PPGQ, **Ademir** e **Valéria**, pelo auxílio durante a execução deste trabalho.

Em especial a **Andréa Cristina Buque Pardino**, **Gilson Pereira Pardino** e **Rayan Buque Pardino** por me apoiarem indubitavelmente em todas as minhas escolhas e decisões e por sempre acreditarem em mim, mesmo quando mais ninguém acreditava.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	<i>ix</i>
LISTA DE TABELAS	<i>xi</i>
LISTA DE ABREVIATURAS	<i>xiv</i>
RESUMO	<i>xv</i>
ABSTRACT	<i>xvi</i>
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
2.1 Erva-mate	4
2.2 Métodos de decomposição de amostras orgânicas por via úmida.....	7
2.3 Decomposição por via úmida com aquecimento convencional.....	7
2.3.1 Decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas	8
2.3.2 Decomposição assistida por radiação micro-ondas utilizando HNO ₃ diluído e oxigênio como reagente auxiliar	10
2.3.3 Extração assistida por ultrassom	11
2.4 Técnicas espectrométricas para a determinação elementar.....	12
2.4.1 Espectrometria de absorção atômica com forno de grafite.....	13
2.4.2 Espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado	14
3. MATERIAIS E MÉTODOS	15
3.1 Instrumentação	15
3.2 Reagentes, soluções de referência e gases	18
3.3 Procedimentos de descontaminação	19
3.4 Amostras e materiais de referência certificados	19
3.5 Pré-tratamento, caracterização e preparo das amostras	19
3.5.1 Teor de cinzas totais e insolúveis em ácido.....	20
3.5.2 Determinação de As, Cd e Pb por ICP-MS utilizando método da AOAC 999.10.2005.....	20
3.5.3 Decomposição por via seca para a posterior determinação de As, Cd e Pb por ICP-MS	21

3.5.4	Decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas	21
3.6	Decomposição por aquecimento convencional em sistema aberto e sistema fechado.....	22
3.7	Decomposição assistida por radiação micro-ondas em sistema fechado empregando HNO ₃ diluído com reagente auxiliar	23
3.8	Avaliação da eficiência de extração assistida por ultrassom para determinação de As, Cd e Pb	23
3.9	Determinação de As, Cd e Pb por GF AAS	24
3.10	Avaliação dos resultados	25
4.	APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	27
4.1	Caracterização das amostras	27
4.1.1	Tamanho de partícula	27
4.1.2	Teor de cinzas totais e insolúveis em ácido.....	28
4.1.3	Determinação de teor de C total	29
4.1.4	Decomposição por MAWD segundo método da AOAC 999.10.2005.....	29
4.1.5	Decomposição por via seca	30
4.1.6	Decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas	31
4.1.7	Comparação e discussão dos resultados obtidos utilizando os métodos de referência	31
4.1.8	Determinação de As, Cd e Pb por ICP-MS utilizando AOAC 999.10.2005 como método de decomposição	33
4.2	Métodos propostos para decomposição e extração de As, Cd e Pb para posterior determinação por GF AAS e ICP-MS	34
4.2.1	Avaliação da eficiência de decomposição por via úmida em sistema aberto e sistema fechado utilizando aquecimento convencional.....	34
4.2.2	Determinação de As, Cd e Pb por GF AAS após decomposição por via úmida em sistema aberto por aquecimento convencional	36

4.2.3	Decomposição assistida por radiação micro-ondas empregando HNO_3 diluído e oxigênio como reagente auxiliar	38
4.2.3.1	Avaliação da massa de amostra	38
4.2.3.2	Avaliação da pressão de O_2 em decomposição MAWD.....	41
4.2.3.3	Avaliação da circulação de ar durante o processo de decomposição	43
4.2.3.4	Efeito do reagente auxiliar sobre a decomposição.....	45
4.2.3.5	Determinação de As, Cd e Pb por GF AAS e ICP-MS após a decomposição assistida por radiação micro-ondas utilizando HNO_3 diluído e O_2 como reagente auxiliar.....	47
4.2.3.6	Estudos de interferências para As, Cd e Pb por ICP-MS.....	48
4.2.3.7	Avaliação da exatidão do método MAWD utilizando HNO_3 diluído e O_2 como reagente auxiliar	51
4.2.4	Extração assistida por ultrassom	53
4.2.4.1	Mapeamento e escolha das posições para extração no banhoultrassônico	53
4.2.4.2	Avaliação de extração assistida por ultrassom para recuperação de As, Cd e Pb	54
4.2.4.3	Determinação de As, Cd e Pb por ICP-MS após extração assistida por ultrassom.....	57
4.2.5	Comparação de limites de quantificação obtidos pelos três métodos com a legislação	59
5.	CONCLUSÕES.....	61
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	63
7.	ANEXOS.....	68
7.1	Decomposição por MAWD segundo método da AOAC 999.10.2005	68
7.2	Determinação de metais e não-metais por ICP-OES após decomposição segundo método AOAC 999.10.2005	69

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Esquema simplificado dos parâmetros avaliados neste estudo.26
- Figura 2.** Perfil de distribuição do tamanho de partículas da erva-mate A, após o processo de moagem e secagem, n = 3.28
- Figura 3.** Valores de carbono em solução para decomposição por aquecimento convencional em sistema aberto (A) e sistema fechado (B); 100 mg (■), 500 mg (■) e 1000 mg (■). Todas as decomposições apresentaram resíduos de matéria orgânica não decomposta, n = 3.35
- Figura 4.** Perfil dos sinais de absorvância (—) e fundo (—) para Cd (Absorvância integrada = $0,0759 \text{ s}^{-1}$) e Pb (Absorvância integrada = $0,0493 \text{ s}^{-1}$) nos digeridos da erva-mate “A” pelo método de decomposição por via úmida em sistema aberto por aquecimento convencional.37
- Figura 5.** Resultados de RCC (■) e acidez residual (—) para avaliação da decomposição de massa de amostra para o método por MAWD empregando HNO_3 4 mol L^{-1} com frascos pressurizados com 8 bar de O_2 , n = 3.39
- Figura 6.** Valores de RCC (■) e acidez residual (—) para a decomposição de massa de amostra de 1000 a 1500 mg empregando HNO_3 7 mol L^{-1} com frascos pressurizado com 8 bar de O_2 , n = 3.40
- Figura 7.** Valores de RCC (barras) e acidez residual (linhas) para a decomposição por MAWD empregando HNO_3 7 mol L^{-1} variando da pressão de O_2 nos frascos com 8 bar (verde) e 15 bar (vermelho), n = 3.42
- Figura 8.** Gráficos de potência de irradiação (A) e pressão interna dos frascos (B) para as vazões de ar avaliadas, 60 (—), 125 (—) e 190 (—) $\text{m}^3 \text{ h}^{-1}$ durante o aquecimento micro-

	ondas para a decomposição de 1500 mg de erva-mate empregando HNO_3 7 mol L^{-1} com frascos pressurizados com 8 bar de O_2	44
Figura 9.	Gráficos de potência de irradiação (A) e pressão interna dos frascos (B) para os métodos de decomposição empregando HNO_3 7 mol L^{-1} com 8 bar de O_2 (—) e HNO_3 14,4 mol L^{-1} sem pressão de O_2 (—).....	46
Figura 10.	Testes de interferência para ^{75}As (■), ^{111}Cd (■) e ^{206}Pb (■) em ICP-MS na solução decomposta pelo método por MAWD empregando HNO_3 7 mol L^{-1} e 8 bar de O_2 no sistema. A) Teste de diluição da amostra; B) Teste de interferência de Cl; C) Teste de interferência de C; e D) Teste de interferência para K; n = 3.....	49
Figura 11.	Imagem da folha de papel alumínio (A) depois de submetida a ondas ultrassônicas e o banho ultrassônico com duas extrações (B).	54
Figura 12.	Recuperação de As, Cd e Pb por ICP-MS para UAE com H_2O (■) e HNO_3 3 mol L^{-1} (■) como soluções extratoras nas condições de 2000 mg, 10 min e 65 °C. A linha tracejada representa os valores obtidos pelo método de referência, n = 4.....	54
Figura 13.	Gráfico de recuperação de As, Cd e Pb para diferentes tempos de extração 10 min (■), 20 min (■) e 30 min (■) nas condições de 2000 mg, HNO_3 3 mol L^{-1} , temperatura de 65 °C e frascos de vidro em banho ultrassônico. A linha tracejada representa os valores obtidos pelo método de referência, n = 3.....	55
Figura 14.	Gráfico de recuperação de As, Cd e Pb para diferentes massas avaliadas 500 mg (■), 1000 mg (■) e 1500 mg (■) nas condições HNO_3 3 mol L^{-1} , 30 min, temperatura de 65 °C e frascos de vidro em banho ultrassônico. A linha tracejada representa os valores obtidos pelo método de referência, n = 3.....	56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Condições operacionais para a determinação elementar por ICP-OES e ICP-MS.....	17
Tabela 2.	Parâmetros instrumentais para determinação de As, Cd e Pb por GF AAS.	17
Tabela 3.	Programa de irradiação micro-ondas para o método da AOAC 999.10.2005.	21
Tabela 4.	Programa de irradiação micro-ondas para decomposição de erva-mate por MAWD.	22
Tabela 5.	Programa de aquecimento de bloco digestor em sistema aberto e fechado para decomposição de erva-mate para determinação de As, Cd e Pb.	22
Tabela 6.	Programa de irradiação micro-ondas para decomposição de erva-mate por MAWD utilizando oxigênio como reagente auxiliar.	23
Tabela 7.	Programas de aquecimento utilizados na determinação de As, Cd e Pb em erva-mate por GF AAS.....	25
Tabela 8.	Teor de cinzas totais e insolúveis em ácido para cinco amostras de erva-mate conforme normas 018/IV e 024/IV do Instituto Adolfo Lutz. Os valores descritos representam a média \pm desvio padrão, $n = 3$, unidade em %.	28
Tabela 9.	Resultados para As, Cd e Pb em erva-mate “A” por ICP-MS pelos métodos de comparação propostos neste trabalho. Os valores descritos representam a média \pm desvio padrão, $n = 3$, $\mu\text{g g}^{-1}$. Valores entre parênteses representam o LOQ, ng g^{-1}	31
Tabela 10.	Resultados para a determinação de As, Cd e Pb por ICP-MS nos CRMs NIST 1547 e NIST 1575a empregando o	

	método AOAC 999.10.2005. Os valores descritos representam a média \pm desvio padrão, $\mu\text{g g}^{-1}$, $n = 3$	32
Tabela 11.	Resultados obtidos de As, Cd e Pb pelo método da AOAC 999.10.2005 por ICP-MS para as amostras de erva-mate. Os valores descritos representam a média \pm desvio padrão, $\mu\text{g g}^{-1}$, $n = 3$	33
Tabela 12.	Resultados para As, Cd e Pb por GF AAS em erva-mate pelo método de decomposição por via úmida em sistema aberto com aquecimento convencional. Os valores descritos representam a média \pm desvio padrão, $n = 3$, $\mu\text{g g}^{-1}$	37
Tabela 13.	Resultados para As, Cd e Pb por GF AAS e ICP-MS pelo método por MAWD empregando HNO_3 7 mol L^{-1} com frascos pressurizados a 8 bar de O_2 . Os valores descritos representam a média \pm desvio padrão, $n = 3$ e $\mu\text{g g}^{-1}$	48
Tabela 14.	Resultados obtidos para os CRMs NIST 1575a e NIST 1547 após decomposição de 500 mg por MAWD usando HNO_3 diluído com O_2 . Os valores representam a média \pm desvio padrão, $n = 3$, $\mu\text{g g}^{-1}$	52
Tabela 15.	Resultados comparados para As, Cd e Pb pelos método de referência e método de extração assistida por ultrassom por ICP-MS. Os valores descritos representam a média \pm desvio padrão, $n = 3$, $\mu\text{g g}^{-1}$. Os valores entre parênteses representa a recuperação em %.	57
Tabela 16.	Resultados obtidos para os CRMs NIST 1575a e NIST 1547 por extração assistida por ultrassom. Os valores descritos representam a média \pm desvio padrão, $n = 3$, $\mu\text{g g}^{-1}$	58
Tabela 17.	Limites de quantificação para os As, Cd e Pb para os métodos que utilizaram a técnica de ICP-MS para a etapa de quantificação. Os valores descritos estão na unidade em ng g^{-1}	59
Tabela 18.	Condições operacionais para determinação elementar por ICP-OES.	68

Tabela 19.	Resultados da caracterização elementar nas 5 amostras de erva-mate pelo método da AOAC 999.10.2005 por ICP-OES. Os valores descritos representam a média \pm desvio padrão, $n = 3$, $\mu\text{g g}^{-1}$	70
-------------------	--	----

LISTA DE ABREVIATURAS

ANOVA, análise da variância, do inglês *analysis of variance*

AOAC, do inglês *Association of Official Analytical Chemists*

CRM, material de referência certificado, do inglês *certified reference material*

ETFE, etileno tetrafluoroetileno

F AAS, espectrometria de absorção atômica com chama, do inglês *flame atomic absorption spectrometry*

GF AAS, espectrometria de absorção atômica com forno de grafite, do inglês *graphite furnace atomic absorption spectrometry*

ICP-MS, espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado, do inglês *inductively coupled plasma mass spectrometry*

ICP-OES, espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado, do inglês *inductively coupled plasma optical emission spectrometry*

LCO, lâmpada de cátodo oco

LOD, limite de detecção, do inglês *limit of detection*

LOQ, limite de quantificação, do inglês *limit of quantification*

MAWD, decomposição assistida por radiação micro-ondas, do inglês *microwave-assisted wet digestion*

MERCOSUL, Mercado Comum do Sul

m/z, razão massa carga

NIST, do inglês *National Institute of Standards and Technology*

PP, polipropileno

PTFE, politetrafluoretileno

RCC, carbono residual, do inglês *Residual Carbon Content*

US, ondas ultrassônicas, do inglês *Ultrasound*

UAE, extração assistida por ultrassom, do inglês *ultrasound-assisted extraction*

RESUMO

No presente trabalho foram avaliados os seguintes métodos de decomposição/extração de erva-mate: *i*) decomposição por via úmida em sistema aberto *ii*) decomposição por via úmida em sistema fechado, *iii*) decomposição assistida por radiação micro-ondas (MAWD) empregando HNO₃ diluído e O₂ como reagente auxiliar e *iv*) extração assistida por ultrassom para a posterior determinação de As, Cd e Pb por espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS) e/ou espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS). No primeiro e segundo método foi avaliada a eficiência de decomposição para massas de amostra até 1000 mg e volumes de HNO₃ em ambos os métodos. Os digeridos obtidos após esses estudos apresentaram baixa eficiência de decomposição e valores semelhantes entre os métodos. Assim, foi utilizado o sistema aberto, pela possibilidade de obter uma elevada frequência analítica e não apresentar uma etapa de pré-digestão. Devido a essa má eficiência de decomposição e com o intuito de evitar possíveis interferências na etapa de determinação, para este método foi utilizado a técnica de GF AAS para a determinação de As, Cd e Pb. Para o método de MAWD empregando HNO₃ diluído com O₂ como reagente auxiliar, foi avaliada a decomposição de diferentes massas de amostras, quantidades de O₂ na fase gasosa e a influência da circulação de ar em diferentes vazões externamente aos frascos durante o processo de decomposição. Após as avaliações, foi possível utilizar HNO₃ diluído com O₂ como reagente auxiliar para a decomposição de massas mais elevadas de erva-mate (até 1500 mg). Foi observado que a quantidade de O₂ não influenciou a eficiência de decomposição de 1500 mg de amostra. Por outro lado, a utilização da vazão de ar máxima permitida pelo equipamento, melhorou a eficiência de decomposição. Entretanto, esta condição poderia causar problemas ao equipamento optando-se, assim, pela utilização de condições mais brandas de circulação de ar. Devido à massa de amostra relativamente elevada, houve a necessidade de um estudo de interferências dos elementos C, Cl e K na etapa de determinação por ICP-MS. No método de extração assistida por ultrassom foram avaliadas a solução extratora, o tempo de extração, temperatura e a massa de amostra. A melhor solução extratora foi o HNO₃, utilizando 30 min de extração. Também foi possível observar um efeito antagônico da massa de amostra com a recuperação de As, Cd e Pb. Os limites de quantificação obtidos para os métodos propostos foram da ordem de ng g⁻¹ e menores que os valores permitidos pela legislação. Portanto, os resultados obtidos nas avaliações no presente trabalho, mostraram-se que a utilização dos métodos propostos são viáveis para a decomposição/extração de erva-mate para a posterior determinação de As, Cd e Pb por GF AAS e/ou ICP-MS.

ABSTRACT

In this work, the following methods for yerba mate digestion/extraction for further determination of As, Cd and Pb by graphite furnace atomic absorption spectrometry (GF AAS) and/or inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) were evaluated: *i*) wet digestion in open systems *ii*) wet digestion in closed systems *iii*) microwave-assisted wet digestion (MAWD) using diluted HNO₃ and O₂ as auxiliary reagent and *iv*) ultrasound-assisted extraction (UAE). For the wet digestion method using open and closed systems by conventional heating, the digestion efficiency for several sample masses and HNO₃ volume were evaluated in the both systems. For methods “*i*” and “*ii*” a low digestion efficiency was observed than the open system was used allowing a high throughput and not necessary predigestion step. The GF AAS technique was used for As, Cd and Pb determination due to the low digestion efficiency of open system method and to avoid possible interferences in the determination step. For MAWD using diluted HNO₃ with O₂ as auxiliary reagent, several sample masses, variable amount of O₂ in gaseous phase and different flow-rates during digestion process were evaluated. After the MAWD evaluation using diluted HNO₃ with O₂ as auxiliary reagent it was possible to use a relatively high yerba mate mass (1500 mg). For high of sample mass the digestion was not observed influences in the efficiency digestion for different amount of O₂ in gaseous phase. On the other hand, it was observed an improvement in the digestion efficiency when the maximum flow-rate allowed by equipment was used. However this condition could cause problems in equipment. For the determination step by ICP-MS it was necessary an interference study due to the high carbon content in solution. For the UAE, extractant solution, sonication time, temperature and sample mass were evaluated. Regarding the recovery of As, Cd and Pb, antagonist effects were observed when sample masses higher the 1000 mg were used. The limit of quantification obtained for three methods evaluated were lower than those established in legislation. Therefore, the proposed methods were considered as feasible for yerba mate digestion/extraction for further determination of As, Cd and Pb by GF AAS and/or ICP-MS.

1. INTRODUÇÃO

A erva-mate (*Ilex paraguariensis*) possui grande importância comercial devido ao seu alto consumo nos países da América Latina, principalmente no Brasil, Uruguai, Argentina e Paraguai. O Brasil é o maior exportador de erva-mate, enquanto a Argentina e Uruguai são os maiores consumidores per capita na América Latina.

A erva-mate possui muitas características benéficas, como efeitos diuréticos e antioxidantes sendo, normalmente, preparada como infusão.^{1,2,3} Em sua composição, a erva-mate apresenta macronutrientes (Ca, K, Mg e P) e micronutrientes (Cu, Fe, Mn, Mo, Ni e Zn), além de elementos tóxicos como As, Cd e Pb. A presença desses elementos depende da forma de cultura, tipo de solo e da região. No caso do Pb, a principal fonte de contaminação é o material particulado atmosférico, que representa de 73 a 95% da contaminação total da planta.^{4,5} A contaminação de Cd provém, majoritariamente, de herbicidas, pesticidas e fungicidas aplicados durante o cultivo.^{4,5} O As está presente na água (geralmente abaixo de $10 \mu\text{g L}^{-1}$) e, desta forma, torna-se a principal fonte de exposição para a planta.^{4,5} Neste sentido, devido aos efeitos nocivos que estes elementos causam ao ser humano, a determinação de As, Cd e Pb é de extrema importância para o controle de qualidade da erva-mate. O Mercado Comum do Sul (MERCOSUL) exige que a concentração de As, Cd e Pb não seja superior a 0,60, 0,40 e 0,60 $\mu\text{g g}^{-1}$ respectivamente (em base seca).⁶

¹ Heck, C. I. *et al. Journal of Food Science* 72 (2007) R138-R151.

² Lopez-Cordoba, A. *et al. Journal of Food Engineering* 124 (2014) 158-165.

³ Marcelo, M. C. A. *et al. Microchemical Journal* 117 (2014) 164-171.

⁴ Oga, S. Fundamentos de toxicologia, 2ª ed., Atheneu, São Paulo, 2003, 474 p.

⁵ Damodaran, S. *et al. Química de Alimentos de Fennema*, 4ª ed., Artmed, Porto Alegre, 2010, 900 p.

⁶ MERCOSUL, Regulamento técnico mercosul sobre limites máximos de contaminantes inorgânicos em alimentos (REVOGAÇÃO DAS RES. GMC Nº 102/94 e Nº 35/96), MERCOSUL (Ed.) Nº 12/11, 2013, pp. 1-18.

Geralmente, a concentração de As, Cd e Pb é relativamente baixa, o que requer a utilização de técnicas de alta sensibilidade para a sua determinação. Entre as técnicas mais utilizadas para a determinação multielementar simultânea em plantas, pode-se citar a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES) e a espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS). Entretanto, essas técnicas requerem uma etapa de preparação da amostra, normalmente com base na decomposição completa da matriz, uma vez que o sistema de introdução mais comum requer que a amostra esteja na forma líquida ou dissolvida em solvente apropriado.^{7,8}

A oxidação da matriz orgânica é convencionalmente executada por meio de decomposição por via úmida, na qual é utilizada uma grande quantidade de ácido, normalmente concentrado, combinado com o emprego de altas temperaturas. Apesar da eficiência relativamente elevada da decomposição, o uso de grandes quantidades de ácidos concentrados afeta negativamente o limite de quantificação (LOQ). Como alternativa, pode-se utilizar a decomposição assistida por micro-ondas (MAWD) empregando-se HNO₃ diluído e frascos pressurizados com O₂ em sistema fechado. Na presença de uma quantidade suficiente de oxigênio no frasco de reação, a matriz orgânica pode ser oxidada de forma eficiente mesmo utilizando soluções diluídas de HNO₃. Tal eficiência de decomposição está relacionada com a regeneração do HNO₃ *in situ*.^{9,10,11,12}

⁷ Arruda, M. A. Z. Trends in Sample Preparation, Nova Science Publishers, 2007, 304 p.

⁸ Flores, E. M. M. Microwave-Assisted Sample Preparation for Trace Element Determination, Elsevier, Oxford, 2014, 400 p.

⁹ Krug, F. J. Métodos de preparo de amostras: fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar, Seção Técnica de Biblioteca - CENA/USP, Piracicaba, 2010, 340 p.

¹⁰ Castro, J. T. *et al.* *Talanta* 78 (2009) 1378-1382.

¹¹ Bizzi, C. A. *et al.* *Microchemical Journal* 99 (2011) 193-196.

¹² Bizzi, C. A. *et al.* *Talanta* 83 (2011) 1324-1328.

Alternativamente, extração assistida por ultrassom pode ser uma alternativa viável para o preparo da amostra, podendo-se utilizar as técnicas de espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS) e espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) para a posterior determinação de As, Cd e Pb, além de ter a vantagem da utilização de menor concentração de reagentes. Ademais, pode-se utilizar massas de amostra relativamente elevadas com maior frequência analítica.⁹

A possibilidade de decomposição de massas de erva-mate mais elevadas é atraente, principalmente, considerando a adequabilidade do limite de detecção (LOD) para As, Cd e Pb pelas técnicas de GF AAS e ICP-MS. Neste sentido, o presente trabalho visa avaliar três métodos de preparo de amostra, utilizando menor quantidade de reagentes, elevada massa de amostra e redução no tempo de preparo, sendo propostos a decomposição por via úmida em sistema aberto e fechado por aquecimento convencional, decomposição assistida por radiação micro-ondas empregando HNO₃ diluído combinado com frascos pressurizados com O₂ e extração assistida por ultrassom, utilizando as técnicas de GF AAS e/ou ICP-MS para a posterior determinação de As, Cd e Pb.

⁹ Krug, F. J. Métodos de preparo de amostras: fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar, Seção Técnica de Biblioteca - CENA/USP, Piracicaba, 2010, 340 p.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Erva-mate

A erva-mate, de nome científico *Ilex paraguariensis*, pertence à família das aquifoliáceas, de ocorrência natural em regiões subtropicais e temperadas na América do Sul (Brasil, Argentina, Uruguai, Paraguai, Colômbia, Bolívia, Peru e Equador), sendo que no Brasil encontra-se apenas nos estados do Mato Grosso do Sul, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul.¹³

As árvores de erva-mate possuem tronco reto podendo atingir em sua fase adulta, em média, 10 a 15 metros de altura. Existem algumas variações na erva-mate que são relacionadas, principalmente, ao tamanho e consistência do limbo das folhas, juntamente com a cor do pecíolo e nervura principal. Deste modo, podem-se distinguir quatro tipos de erva-mate, sendo a primeira com folhas pequenas, coriáceas e talo branco; a segunda com folhas pequenas, coriáceas e talo roxo; a terceira com folhas grandes, membranáceas e talo branco e a quarta com folhas grandes, membranáceas e talo roxo.¹³

Escavações realizadas em túmulos pré-colombianos no Peru encontraram folhas de erva-mate, comprovando assim o uso da mesma pelos povos incas. A palavra “mate” vem da palavra da língua quíchua “*mati*” que significa cuia (cabaça). O consumo da erva-mate ocorre, normalmente, pelo processo de infusão utilizando-se uma cuia e bomba, sendo popularmente chamado de chimarrão. No Brasil os indígenas chamavam a erva-mate de “*caá*”, sendo o consumo focado na prevenção de doenças e fadiga. Os jesuítas espanhóis foram os responsáveis pela disseminação do consumo desta planta pelas pessoas que habitavam as cidades e vilas. Conseqüentemente, a sua comercialização e posterior industrialização fizeram-se necessárias pela demanda exercida pela população.¹³

¹³ Reitz, R. *et al.* Projeto Madeira de Santa Catarina, HBR, Itajaí - Santa Catarina, 1978, 320 p.

Em 2014, os maiores produtores de erva-mate foram o Brasil, com 860 mil toneladas, Argentina, com 690 mil toneladas e Paraguai, com 85 mil toneladas. No Brasil, os três estados de maior produção de erva-mate verde são o Rio Grande do Sul (52%), Paraná (38%) e Santa Catarina (10%), sendo que em 2014, o valor da produção de erva-mate no Brasil foi de, aproximadamente, R\$ 400 mil.^{14,15}

Existem duas classes de erva-mate para consumo: cancheada e beneficiada. O processo de cancheamento da erva-mate consiste em três etapas: sapeco, secagem e o cancheamento. O sapeco consiste em expor rapidamente os ramos enfolhados às chamas com lenhas que contenham grande quantidade de matéria oleosa. Esse procedimento ocasiona perda de água pela ação das chamas nos tecidos das folhas, evitando que a mesma se torne escura e tenha um sabor desagradável. Após este processo a erva-mate é, então, seca a temperaturas entre 80 e 110 °C.^{16,17} O cancheamento é a última etapa e consiste na moagem da erva-mate. Este processo ocorre em um local chamado de cancha, sendo realizado por um triturador ou malhador mecânico. Após esse procedimento ela é peneirada e ensacada.^{16,17} O ciclo de beneficiamento envolve os processos de secagem, limpeza e trituração da cancheada. Deste modo, a erva-mate é submetida ao processo de peneiramento, a fim de separá-la em várias granulometrias, formando diversos tipos de ervas beneficiadas. Normalmente, este procedimento é realizado nos engenhos atendendo, assim, à preferência dos mercados consumidores.¹⁷

¹⁴ SEAB - Produtos Florestais - Erva-mate. Disponível em: http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/erva_mate_2014_2015.pdf

¹⁵ Tabela 290 - Valor da produção - Erva-Mate. disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/pesquisas/pevs/>; acessado em 08-julho-2016.

¹⁶ Filho, J. C. F. Cultura e preparo da erva-mate, Serviço de Informação Agrícola, Ministério da Agricultura, 1948, 53 p.

¹⁷ Florestal, I. B. D. Erva-mate: Origem-cultura-industrialização, Porto Alegre, 1976, 31 p.

Existem duas formas tradicionais para o consumo de erva-mate, sendo uma delas por infusão à quente, denominado “chimarrão” e a outra por infusão a frio, popularmente chamado de “tererê”.¹⁷ O extrato de erva-mate é considerado um antioxidante natural², devido aos vários componentes bioativos e minerais presentes¹⁸. Quando consumida na forma de infusão à quente, apresenta alguns benefícios, como estimulante para nervos e músculos, favorece a diurese, além de facilitar a digestão.^{2,3,13}

Em sua constituição estão presentes macronutrientes (Ca, K, Mg e P), micronutrientes (Cu, Fe, Mn, Ni e Zn), assim como elementos tóxicos (As, Cd e Pb).¹ A presença destes elementos é devido à forma com que eles estão disponíveis no ambiente. O As, normalmente encontra-se presente em água, possivelmente a maior fonte de contaminação para este elemento.⁴ Cádmio, por sua vez, encontra-se, normalmente, nos solos, facilitando a captação pelas raízes das plantas.^{4,5} Por outro lado, o Pb apresenta níveis de concentração mais elevados em regiões próximas a grandes centros industriais. Estudos relatam que a deposição de Pb pela atmosfera em plantas representa entre 73 e 95% da concentração na planta.^{4,5,19}

Devido à presença desses elementos tóxicos (As, Cd e Pb) na erva-mate, aliado ao grande consumo desta, o MERCOSUL estabeleceu limites máximos para As, Cd e Pb, sendo $0,60 \mu\text{g g}^{-1}$, $0,40 \mu\text{g g}^{-1}$ e $0,60 \mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente.⁶ Devido a esses limites serem considerados relativamente baixos, há necessidade do aprimoramento dos métodos de preparo de amostra, visando atingir limites de quantificação (LOQ) que atendam a esta legislação.

¹⁷ Florestal, I. B. D. Erva-mate: Origem-cultura-industrialização, Porto Alegre, 1976, 31 p.

² Lopez-Cordoba, A. *et al.* *Journal of Food Engineering* 124 (2014) 158-165.

¹⁸ Bracesco, N. *et al.* *Journal of Ethnopharmacology* 136 (2011) 378-384.

³ Marcelo, M. C. A. *et al.* *Microchemical Journal* 117 (2014) 164-171.

¹³ Reitz, R. *et al.* Projeto Madeira de Santa Catarina, HBR, Itajaí - Santa Catarina, 1978, 320 p.

¹ Heck, C. I. *et al.* *Journal of Food Science* 72 (2007) R138-R151.

⁴ Oga, S. Fundamentos de toxicologia, 2ª ed., Atheneu, São Paulo, 2003, 474 p.

⁵ Damodaran, S. *et al.* Química de Alimentos de Fennema, 4ª ed., Artmed, Porto Alegre, 2010, 900 p.

¹⁹ Stoeppler, M. Sampling and sample preparation: practical guide for analytical chemists, Springer, Berlin, Germany, 1997, 201 p.

⁶ MERCOSUL, Regulamento técnico mercosul sobre limites máximos de contaminantes inorgânicos em alimentos (REVOGAÇÃO DAS RES. GMC Nº 102/94 e Nº 35/96), MERCOSUL (Ed.) Nº 12/11, 2013, pp. 1-18.

2.2 Métodos de decomposição de amostras orgânicas por via úmida

A decomposição de amostras é o método de pré-tratamento mais comum previamente à etapa de determinação. Contudo, devido à grande necessidade de investimento em instrumentação analítica, é de extrema importância que os métodos de preparo de amostra sejam mais eficientes e reprodutíveis.²⁰ Esta etapa é considerada a etapa mais crítica e, normalmente, a que se consome mais tempo.⁸ Neste sentido, a frequência analítica e a diminuição dos possíveis erros nesta etapa, são parâmetros de extrema importância para avaliação desses métodos.⁹ Dentre os métodos de decomposição de amostras, os mais comuns envolvem o uso de ácidos concentrados (como por exemplo, HNO₃). Este processo é, normalmente, conduzido por aquecimento convencional, assistido por radiação micro-ondas ou ultravioleta, podendo ser realizado em sistemas abertos ou fechados.^{8,9,20} A forma de aquecimento mais comum consiste em um sistema equipado com uma fonte de aquecimento convencional (por exemplo, chapa de aquecimento). Por outro lado, o aquecimento por radiação micro-ondas, tem sido considerado como o estado da arte dos métodos de decomposição de amostras devido a sua melhor eficiência de aquecimento.^{8,9,20}

2.3 Decomposição por via úmida com aquecimento convencional

Para a decomposição por via úmida em sistemas abertos ou fechados, pode-se utilizar frascos de vidro, quartzo ou politetrafluoretileno (PTFE). O sistema aberto mais comum é o bloco digestor, sendo esse o mais utilizado para decomposição de amostras orgânicas.²⁰

²⁰ Mester, Z. *et al.* *Sample Preparation for Trace Element Analysis*, Elsevier, Amsterdam, Netherlands, 2003, 1286 p.

⁸ Flores, E. M. M. *Microwave-Assisted Sample Preparation for Trace Element Determination*, Elsevier, Oxford, 2014, 400 p.

⁹ Krug, F. J. *Métodos de preparo de amostras: fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar*, Seção Técnica de Biblioteca - CENA/USP, Piracicaba, 2010, 340 p.

A grande vantagem do uso de sistemas abertos para a decomposição por aquecimento convencional é a possibilidade de usar maior massa de amostra, além de um risco menor de explosões. Entretanto, nos sistemas abertos é possível ocorrer a perda de analitos por volatilização, além do maior risco de contaminação e necessidade de maior quantidade de reagentes.^{9,20}

O ácido mais utilizado é o HNO₃, porém a temperatura de ebulição do azeótropo com água (121 °C) é relativamente baixa. Em sistemas abertos a temperatura de decomposição é limitada pela temperatura de volatilização da solução. Normalmente, há a necessidade do HNO₃ ser empregado em conjunto com outros ácidos que tenham uma temperatura de ebulição maior.⁹ Esse aumento de temperatura é essencial para que ocorra maior eficiência de decomposição.^{9,20}

As decomposições de amostras orgânicas utilizando sistemas fechados possuem algumas vantagens como, a redução de perdas de analitos por volatilização, decomposições que atingem temperaturas acima do ponto de ebulição do ácido utilizado e menor risco de contaminação de fontes externas. Entretanto, por utilizar um sistema fechado o uso de massas elevadas apresentam risco devem ser evitadas, devido a pressões elevadas que este método pode gerar. Da mesma forma que o sistema aberto, o ácido mais utilizado para este tipo de amostra é o HNO₃ concentrado.^{9,20}

2.3.1 Decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas

O uso da radiação micro-ondas como fonte de energia para processos de decomposição de amostras, é considerado o estado da arte para o preparo de amostra.^{8,9,20} O número de trabalhos publicados com esse tipo de instrumentação teve um aumento substancial a partir da década de 1990 o qual, até hoje, é um dos métodos mais utilizados na etapa de preparo de amostras.⁹

²⁰ Mester, Z. *et al.* Sample Preparation for Trace Element Analysis, Elsevier, Amsterdam, Netherlands, 2003, 1286 p.

⁹ Krug, F. J. Métodos de preparo de amostras: fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar, Seção Técnica de Biblioteca - CENA/USP, Piracicaba, 2010, 340 p.

⁸ Flores, E. M. M. Microwave-Assisted Sample Preparation for Trace Element Determination, Elsevier, Oxford, 2014, 400 p.

A radiação micro-ondas compreende uma faixa de frequência do espectro eletromagnético, entre 300 e 300000 MHz, sendo que os fornos utilizados no preparo de amostras irradiam micro-ondas na frequência de 2450 MHz.^{8,9,20} A interação da radiação micro-ondas com meios líquidos ocorre através dos fenômenos de migração iônica e rotação de dipolo. A migração iônica ocorre quando a radiação micro-ondas é incidida em uma solução contendo íons dissolvidos. O campo elétrico oscilante da onda eletromagnética, interage com os íons, provocando a movimentação destes. Devido a esse movimento forçado, os íons sofrem uma resistência causada por outras espécies presentes na solução, produzindo calor e elevando a temperatura.^{8,9,20}

Outro fenômeno é o de rotação de dipolos, que ocasiona um alinhamento forçado nas moléculas que possuem momento dipolar. Quando o campo elétrico se torna nulo, a desordem no sistema aumenta, ocorrendo a liberação de energia na forma de calor.^{8,9,20} A decomposição assistida por radiação micro-ondas pode ser executada em sistemas abertos ou fechados, e os materiais utilizados não devem absorver ou refletir essa radiação.^{8,9,20}

A decomposição assistida por radiação micro-ondas vem sendo empregada, também, como método de referência para a decomposição de diversas amostras, como é o caso do método da AOAC 999.10.2005, que é recomendado para a decomposição de alimentos para a posterior determinação de Cd, Cu, Fe, Pb e Zn.²¹

²⁰ Mester, Z. *et al.* *Sample Preparation for Trace Element Analysis*, Elsevier, Amsterdam, Netherlands, 2003, 1286 p.

⁸ Flores, E. M. M. *Microwave-Assisted Sample Preparation for Trace Element Determination*, Elsevier, Oxford, 2014, 400 p.

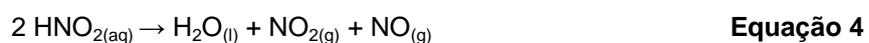
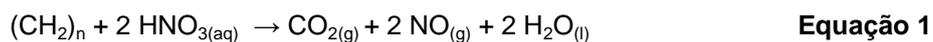
⁹ Krug, F. J. *Métodos de preparo de amostras: fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar*, Seção Técnica de Biblioteca - CENA/USP, Piracicaba, 2010, 340 p.

²¹ Association of Official Analytical Chemists, *Lead, Cadmium, Zinc, Copper and iron in foods. Atomic absorption spectrophotometry after microwave digestion*, 2002.

2.3.2 Decomposição assistida por radiação micro-ondas utilizando HNO₃ diluído e oxigênio como reagente auxiliar

O uso de HNO₃ diluído para decomposição em sistemas fechados pressurizados com O₂ tem sido uma alternativa eficiente para a decomposição de amostras para a posterior determinação de elementos em baixa concentração. Este método apresenta como vantagem a redução da concentração de reagentes associado a elevada eficiência de decomposição. Tem sido uma alternativa viável para a decomposição de amostras como café¹⁰, fígado bovino²², soja²³ e folhas de orégano.¹²

Entretanto, o uso de HNO₃ diluído depende de dois fatores para que a eficiência de decomposição seja adequada. O primeiro é a presença de O₂ em excesso na fase gasosa no interior do frasco. O oxigênio é o reagente responsável pela oxidação do NO gerado da oxidação da matéria orgânica pelo HNO₃. Após a oxidação do NO pelo O₂, o produto gerado é absorvido pela solução devido ao gradiente de temperatura existente entre as fases no frasco, sendo essa diferença de temperatura o segundo fator para o uso de HNO₃ diluído.^{8,24} Todo esse processo gera um ciclo reacional, no qual a regeneração de HNO₃ ocorre depois de quatro etapas que são descritas pelas equações 1, 2, 3 e 4.^{8,25,26}



¹⁰ Castro, J. T. *et al.* *Talanta* 78 (2009) 1378-1382.

²² Bizzi, C. A. *et al.* *Analytica Chimica Acta* 837 (2014) 16-22.

²³ Barbosa, J. T. P. *et al.* *Food Chemistry* 175 (2015) 212-217.

¹² Bizzi, C. A. *et al.* *Talanta* 83 (2011) 1324-1328.

⁸ Flores, E. M. M. *Microwave-Assisted Sample Preparation for Trace Element Determination*, Elsevier, Oxford, 2014, 400 p.

²⁴ Gonzalez, M. H. *et al.* *Talanta* 79 (2009) 396-401.

²⁵ Cotton, F. A. *et al.* *Advances Inorganic Chemistry - A Comprehensive Text*, John Wiley & Sons, Canada, 1972, 1145 p.

²⁶ Bizzi, C. A. *Emprego de oxigênio e peróxido de hidrogênio como auxiliares na decomposição de amostras biológicas por via úmida assistida por radiação micro-ondas*, Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2012, pp. 144.

Com base nas equações 1, 2, 3 e 4, pode-se observar que a presença de O₂ (reagente limitante) na fase gasosa do sistema é de fundamental importância para a regeneração do HNO₃. Neste sentido, desde que haja a presença de O₂ na fase gasosa, haverá a regeneração de HNO₃. Cabe destacar que o O₂ é consumido durante a reação de regeneração. Portanto, quanto maior a quantidade de O₂ disponível mais eficiente será a reação de regeneração de HNO₃.⁸

2.3.3 Extração assistida por ultrassom

As ondas ultrassônicas são ondas mecânicas e se propagam com ciclos consecutivos de compressão e rarefação em frequências maiores que 16 kHz. O ultrassom comumente empregado nas áreas de engenharia e medicina, corresponde às ondas de baixa energia que se propagam em uma elevada frequência (maior que 2 MHz).^{9,27} Por outro lado as ondas ultrassônicas de alta energia possuem frequências baixas (20 a 100 kHz) e são capazes de gerar agitação na solução, cavitações, microjatos e aquecimento no meio em que se propagam.^{27,28}

As ondas ultrassônicas nos equipamentos atuais são geradas por transdutores com propriedades piezoelétricas. Entre os materiais mais comuns podem ser citadas as cerâmicas sintéticas como o titanato de bário, titanato de chumbo e o titanato zirconato de chumbo. Dentre os equipamentos utilizados para geração de US, os utilizados são os banhos ultrassônicos, sistemas do tipo “*cup horn*” e sondas.²⁹

⁸ Flores, E. M. M. *Microwave-Assisted Sample Preparation for Trace Element Determination*, Elsevier, Oxford, 2014, 400 p.

⁹ Krug, F. J. *Métodos de preparo de amostras: fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar*, Seção Técnica de Biblioteca - CENA/USP, Piracicaba, 2010, 340 p.

²⁷ Mason, T. J. *et al.* *Introduction to Applied Ultrasonics, Applied Sonochemistry*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2003, pp. 1-24.

²⁸ Capote, F. P. *et al.* *Analytical Applications of Ultrasound*, Elsevier Science, Oxford, 2007, pp. 398.

²⁹ Cheeke, J. D. N. *Fundamentals and Applications of Ultrasonic Waves*, CRC Press, Boca Raton, 2010, pp. 484.

Dentre os fenômenos gerados pelas ondas ultrassônicas que se propagarem por um meio líquido, destaca-se a cavitação. Esse fenômeno ocorre inicialmente pela presença de gases dissolvidos no meio. Sob ação de ondas de US, ocorrem consecutivos ciclos de compressão e rarefação, levando a um aumento crescente do diâmetro da bolha até um tamanho crítico, no qual ocorre um colapso (implosão). Durante esse processo ocorre a liberação de uma grande quantidade de energia, gerando microjatos, calor, pressão e podendo formar espécies radicalares.^{28,30} Com isso, a extração assistida por ultrassom para a posterior determinação de metais é um método eficiente de preparo de amostra e tem sido utilizada para as mais diversas matrizes, como plantas,^{31,32} solos³³ e alimentos³⁴. As maiores vantagens deste método são o uso de reagentes diluídos e tempo relativamente baixo para as extrações.³⁵

2.4 Técnicas espectrométricas para determinação elementar

Para a técnica de espectrometria de absorção atômica, pode ser utilizado como atomizador, uma chama ou forno de grafite. Tem-se, a espectrometria de absorção atômica com chama (F AAS), espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos (HG AAS) e GF AAS. No caso de plasmas podem ser utilizadas, as técnicas de ICP-OES e ICP-MS.^{36,37}

²⁸ Capote, F. P. *et al.* *Analytical Applications of Ultrasound*, Elsevier Science, Oxford, 2007, pp. 398.

³⁰ Kredrinskii, V. K. *et al.* *Shock Waves* 7 (1997) 63-76.

³¹ Nascentes, C. C. *et al.* *Microchemical Journal* 69 (2001) 37-43.

³² Filgueiras, A. V. *et al.* *Talanta* 53 (2000) 433-441.

³³ Matong, J. M. *et al.* *Chemosphere* 154 (2016) 249-257.

³⁴ Krishna, M. V. B. *et al.* *Analytical Methods* 7 (2015) 1997-2005.

³⁵ Priego-Capote, F. *et al.* *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 23 (2004) 644-653.

³⁶ Montaser, A. *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*, Wiley-VCH, New York, 1998, pp. 964.

³⁷ Welz, B. *et al.* *The Techniques of Atomic Absorption Spectrometry*, Atomic Absorption Spectrometry, Wiley-VCH, Weinheim, Germany, 2007, pp. 335-475.

2.4.1 Espectrometria de absorção atômica com forno de grafite

A técnica de GF AAS baseia-se na absorção da radiação eletromagnética pelo elemento a ser determinado e, utiliza um forno de grafite como atomizador. Esta técnica possibilita a introdução de amostras sólidas, líquidas e suspensões, através de um tubo de grafite com plataforma de grafite. Para a determinação dos elementos são normalmente aplicadas as seguintes etapas: secagem, pirólise, atomização e limpeza. A secagem é utilizada para eliminação da H₂O. A pirólise é a etapa responsável pela quebra das ligações da matriz sob elevada temperatura sendo que, normalmente, essa temperatura pode variar entre 400 e 1500 °C. Na etapa de atomização ocorre a volatilização, atomização e absorção de radiação pelo elemento na fase vapor.³⁷

Entre as vantagens do uso da GF AAS está a possibilidade da análise direta de amostras sólidas. Entretanto, a principal desvantagem é o elevado tempo de determinação, devido a mesma possuir detecção monoelementar.³⁷ Há diversos trabalhos na literatura para a quantificação de metais e não-metais em diversas amostras como, solo³⁸, plantas³⁹, alimentos⁴⁰ entre outros^{41,42} por GF AAS.

³⁷ Welz, B. *et al.* The Techniques of Atomic Absorption Spectrometry, Atomic Absorption Spectrometry, Wiley-VCH, Weinheim, Germany, 2007, pp. 335-475.

³⁸ Burylin, M. Y. *et al.* *Journal of Analytical Chemistry* 70 (2015) 39-43.

³⁹ Bakkali, K. *et al.* *Food Chemistry* 116 (2009) 590-594.

⁴⁰ Andrade, C. K. *et al.* *Food chemistry* 146 (2014) 166-173.

⁴¹ Bentlin, F. R. S. *et al.* *Analytica Chimica Acta* 602 (2007) 23-31.

⁴² Husáková, L. *et al.* *Food Chemistry* 105 (2007) 286-292.

2.4.2 Espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado

A técnica de ICP-MS está baseada na determinação de íons pela sua razão massa carga (m/z). Esta técnica tem em sua constituição básica, o sistema de introdução de amostra, gás parcialmente ionizado, separador de massas e detector. Para a ionização dos elementos, utiliza-se um plasma indutivamente acoplado gerado a partir de argônio, podendo atingir temperaturas entre 6000 e 9000 K. Esta técnica possibilita a introdução de amostras líquidas e sólidas (quando acoplado a um vaporizador eletrotérmico e lasers). Através de uma interface que apresenta uma diferença de pressão, os íons são introduzidos no separador de massa, geralmente, um quadrupolo. Composto de 4 barras magnéticas, no qual são aplicadas corrente alternada e corrente contínua, gerando um campo magnético oscilante, este por sua vez irá interagir com os íons de m/z diferente e guiá-los até o detector.^{36,43}

³⁶ Montaser, A. *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*, Wiley-VCH, New York, 1998, pp. 964.

³⁷ Herbert, C. G. *et al.* *Mass Spectrometry Basics*, CRC Press, Boca Raton, 2002, pp. 474.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Instrumentação

As amostras foram cominuídas com moinho de trituração por impacto (modelo A 11 basic, IKA[®], Staufen, Alemanha), equipado com copo de trituração de aço (composição do aço, 1.4571) revestido externamente com etileno tetrafluoroetileno (ETFE) e com rotor de percussão de aço (composição do aço, 1.4034). Para secagem das amostras foi utilizada uma estufa convencional com circulação de ar (modelo 400/2ND, Nova Ética, Vargem Grande Paulista, Brasil). As etapas de pesagem foram feitas em uma balança analítica (modelo AY220, Shimadzu do Brasil, São Paulo, Brasil) com resolução 0,0001 g e carga máxima de 220 g. Para a determinação do diâmetro de partícula foi utilizado o equipamento Mastersizer 2000 (Malvern Instruments, Worcestershire, Reino Unido).

A determinação de cinzas totais e cinzas insolúveis em ácido foi feita após a etapa de decomposição por via seca,⁴⁴ com utilização de um forno tipo mufla (modelo MR 170 E, Heraeus, Hanau, Alemanha) e uma chapa de aquecimento (modelo ARE Heating Magnetic Stirrer, Velp Scientifica, Monza e Brianza, Itália).

Para a decomposição por MAWD em sistema fechado, bem como pelo método AOAC 999.10.2005, foi utilizado um forno de micro-ondas (modelo Multiwave 3000[®], Microwave Sample Preparation System, Anton Paar, Graz, Áustria) equipado com um rotor com capacidade para oito frascos de quartzo (80 mL). De acordo com as recomendações do fabricante, esse sistema pode operar com pressão máxima de 80 bar, taxa de aumento de pressão de 0,8 bar s⁻¹ e temperatura máxima de 280 °C, com monitoramento instantâneo pelos sensores disponíveis no equipamento. A máxima potência de irradiação é de 1400 W.

⁴⁴ Kalra, Y. P., Handbook of reference methods for plant analysis, CRC Press, Boca Raton, 1998, pp. 287.

Um bloco digestor (modelo TE 015, Tecnal, Piracicaba, São Paulo) foi utilizado para os procedimentos de decomposição com aquecimento convencional em sistema fechado, com emprego de frascos de PTFE (50 mL). Para a decomposição com aquecimento convencional em sistema aberto foi utilizado um bloco digestor (Velp Scientifica, Usmate Velate, Itália), equipado com frascos (100 mL) e tampas de vidro.

Para o método de UAE, foi utilizado um banho ultrassônico (modelo TI-H-10 Transsonic, Elma GmbH & Co, Singen, Alemanha) com potência nominal efetiva de 200 W, frequências de operação em 35 e 130 kHz, amplitude de 10 a 100% e volume da cuba de aço inox de 8,6 L. Para monitorar a temperatura da água no banho ultrassônico, utilizou-se um termômetro (Incoterm, São Paulo, Brasil). As extrações foram feitas em frascos de polipropileno (PP) com fundo cônico (Sarstedt AG & Co, Nümbrecht, Alemanha) com volume máximo de 50 mL e tubos cilíndricos de vidro com volume máximo de 100 mL. Após o procedimento de extração, os frascos foram centrifugados em uma centrífuga (modelo Q22T208, Quimis, Aparelhos Científicos Ltda., Diadema, Brasil).

No procedimento de determinação da acidez residual, foi utilizado um titulador automático (Tritando 836, Metrohm, Herisau, Suíça), equipado com um agitador magnético (módulo 803 Ti Stand, Metrohm), uma bureta automática de 20 mL (Dosino 800, Metrohm) e um eletrodo de pH de vidro combinado para meio aquoso (LL Electrode Plus, modelo 6.0262.100, Metrohm).

O teor de carbono residual (RCC) foi determinado utilizando um espectrômetro de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (modelo Optima 4300 DV, PerkinElmer, Shelton, EUA), equipado com nebulizador Gemcone[®], com câmara de nebulização ciclônica (Glass Expansion, Inc., Austrália) e tocha com tubo injetor de quartzo de 2,5 mm de diâmetro interno. Para a determinação de As, Cd e Pb, foi utilizado um espectrômetro de massa com plasma indutivamente acoplado (modelo NexION[®] 300X, PerkinElmer, Waltham, EUA), equipado com nebulizador concêntrico (Meinhard Associates, Golden, USA), câmara de nebulização ciclônica (Glass Expansion, Inc., Austrália) e tocha com tubo injetor de quartzo de 2 mm de diâmetro interno. Na Tabela 1 estão descritas as condições operacionais utilizada nos equipamentos de ICP-OES e ICP-MS.

Tabela 1. Condições operacionais para a determinação elementar por ICP-OES e ICP-MS.

Parâmetro	ICP-OES	ICP-MS
Potência do gerador de radiofrequência, W	1400	1300
Vazão de argônio principal, L min ⁻¹	15	18
Vazão de argônio auxiliar, L min ⁻¹	0,2	1,2
Vazão de argônio do nebulizador, L min ⁻¹	0,7	0,97
Cone de amostragem e <i>skimmer</i>	-	Pt
Hiperskimmer	-	Al
Configuração de vista	Axial	-
Comprimento de onda espectral, nm	C 193.030	-
Isótopos monitorados, m/z	-	⁷⁵ As, ¹¹¹ Cd e ²⁰⁶ Pb

A determinação de As, Cd e Pb por GF AAS, foi feita utilizando-se um espectrômetro de absorção atômica com forno de grafite com aquecimento transversal (modelo AAS ZEE nit 60, Analytik Jena, Jena, Alemanha). Este espectrômetro possui sistema de correção de fundo baseado no efeito Zeeman, com variação na intensidade do campo magnético entre 0 e 1 T (resolução de 0,05 T). As soluções de referência, assim como digeridos e extratos foram pipetados em plataforma de grafite pirolítico e introduzidas no forno de grafite com o auxílio de um micropipetador de volume variável de 10 a 100 µL (modelo Research, Eppendorf, Hamburgo, Alemanha) e um sistema de amostragem para sólidos (modelo SSA 5Z, Analytik Jena). Os tubos e plataformas de grafite utilizados em todo o trabalho foram recobertos com grafite pirolítico. Lâmpadas de cátodo oco de As, Cd e Pb foram utilizadas para as determinações por GF AAS. Na Tabela 2, são descritas as condições operacionais para a determinação por GF AAS.

Tabela 2. Parâmetros instrumentais para determinação de As, Cd e Pb por GF AAS.

Analito	Comprimento de onda, nm	Fenda espectral, nm	Corrente da LCO, mA
As	193,7	0,8	6,0
Cd	228,8	1,2	5,0
Pb	283,3	0,8	4,0

3.2 Reagentes, soluções de referência e gases

A água utilizada foi previamente destilada e deionizada em coluna de troca iônica (condutividade máxima de $0,6 \mu\text{S cm}^{-1}$) e purificada em um sistema Milli-Q[®] (Milli-Q[®] Ultrapure Water Purification Systems, Gradient System, Millipore, Billerica, EUA) tendo resistividade final de $18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}$. O ácido nítrico P.A. 65% ($1,40 \text{ kg L}^{-1}$, Sigma Aldrich, St. Louis, EUA) e ácido clorídrico P.A. 37% ($1,19 \text{ kg L}^{-1}$, Merck, Darmstadt, Alemanha) foram destilados com sistema de sub-ebulição (modelo duoPUR[®] 2.01E, Milestone, Bergamo, Itália). O peróxido de hidrogênio 30% (Merck) foi utilizado sem purificação prévia.

A determinação do RCC foi feita pela determinação de C por ICP-OES. A calibração foi feita com a preparação de padrões de calibração (10 a 500 mg L^{-1}) a partir de uma solução de 1000 mg L^{-1} de ácido cítrico P.A. (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil) em água. Como padrão interno foi utilizada uma solução de referência de ítrio 1000 mg L^{-1} em HNO_3 2% (Fluka, Sigma-Aldrich, St. Louis, EUA), tendo como concentração final 1 mg L^{-1} .

A determinação da acidez residual foi feita por volumetria de neutralização do resíduo ácido. Foi utilizado hidróxido de potássio (Merck) $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em água como titulante, o qual foi previamente padronizado com hidrogenoftalato de potássio (Vetec).

As determinações de As, Cd e Pb foram feitas por ICP-MS com a preparação de uma curva de calibração de $0,025$ a $10 \mu\text{g L}^{-1}$ em HNO_3 5%. Os padrões para a curva de calibração foram preparados a partir de uma solução estoque de concentração 10 mg L^{-1} dos analitos em HNO_3 5% (SCP33MS, SCP Science, Quebec, Canadá). Para as determinações de As, Cd e Pb por GF AAS foram utilizadas soluções monoelementares, sendo essas preparadas a partir de diluições de sua respectiva solução de referência (1000 mg L^{-1} Titrisol[®], Merck, em HNO_3 2%). Como modificador químico, foi utilizado $5 \mu\text{g}$ de Pd a partir de uma solução de concentração 1000 mg L^{-1} preparada a partir de uma solução estoque de 20 g L^{-1} ($\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$, Sigma Aldrich).

Para a geração do plasma nos equipamentos ICP-OES e ICP-MS e como gás auxiliar na etapa de secagem, pirólise e limpeza, foi utilizado argônio com pureza de 99,998% (White Martins, Duque de Caxias, Brasil). Como reagente auxiliar nos procedimentos de MAWD, foi utilizado oxigênio com pureza 99,6% (White Martins).

3.3 Procedimentos de descontaminação

Todos os materiais e vidrarias de laboratório foram lavados e previamente descontaminados por imersão em solução de HNO₃ 10% por, no mínimo, 24 h e lavados com água ultrapura imediatamente antes do uso. Os frascos de quartzo utilizados nos experimentos de decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas foram descontaminados com HNO₃ (14,4 mol L⁻¹) utilizando um programa de irradiação, constituído de uma etapa de 10 min de irradiação, a 1000 W de potência, seguida por uma etapa de resfriamento. Os tubos e plataformas utilizados para quantificação por GF AAS, foram descontaminados, aplicando-se ciclos de aquecimento de 2500 °C durante 5 s.

3.4 Amostras e materiais de referência certificados

Cinco amostras de erva-mate foram compradas no comércio local (Santa Maria, RS, Brasil) e no comércio uruguaio (Rivera, Uruguai). Entre as cinco amostras, três são de origem brasileira (duas do estado do Rio Grande do Sul e uma do estado de Santa Catarina), e duas são de origem uruguaia. As amostras foram nomeadas aleatoriamente como A, B, C, D e E. Para avaliar a exatidão dos métodos propostos, foram utilizados CRMs de origem botânica fornecidos pelo *National Institute of Standards and Technology*, NIST 1547, *Peach Leaves* (folhas de pessegueiro) e NIST 1575a, *Trace Elements in Pine Needles*, (Elementos traços em folhas de pinheiro).

3.5 Pré-tratamento, caracterização e preparo das amostras

Todas as amostras foram cominuídas em um moinho de trituração por impacto durante 1 min a 19.500 rpm. Posteriormente, foram secas a 80 °C por 24 h e armazenadas em frasco âmbar. O diâmetro de partícula foi determinado utilizando o equipamento Mastersizer 2000. O teor de C foi determinado no Laboratório de Pesquisa em Biotransformações de Carbono e Nitrogênio (LABCEN) do Centro de Ciências Rurais da UFSM.

3.5.1 Teor de cinzas totais e insolúveis em ácido

Com o objetivo de obter os valores da quantidade de material inorgânico (cinzas totais) presente nas amostras, e a concentração de cinzas insolúveis em ácido, as normas 018/IV e 024/IV do Instituto Adolfo Lutz foram reproduzidas. Foram utilizados cadinhos de Pt, os quais foram calcinados a 500 °C antes de todos os procedimentos. O experimento foi realizado em duas etapas. Na primeira etapa foi feita a determinação do teor de cinzas totais e, na segunda etapa, foi determinado o teor de cinzas insolúveis em ácido. A primeira etapa consistiu na incineração de 3 g de erva-mate em forno do tipo mufla, em temperatura de 450 °C, até que o resíduo obtido obtivesse peso constante. Com isso, por análise gravimétrica, foi determinado o teor de cinzas totais. A segunda etapa consistiu em aquecer o resíduo obtido da etapa anterior durante 5 min com 25 mL de uma solução de HCl 10%. A solução obtida foi filtrada em papel filtro (Carl Schleicher & Schüll Nr. 595, Ø 70 mm, 0,45 µm, Düren, Alemanha). Posteriormente, papel filtro contendo o sólido filtrado foi transferido ao cadinho original, onde foi seco em chapa de aquecimento e incinerado à 500 °C. Foi determinado o teor de cinzas insolúveis em ácido com relação à massa inicial, pesada na primeira etapa de determinação das cinzas totais.

3.5.2 Determinação de As, Cd e Pb por ICP-MS utilizando método da AOAC 999.10.2005

Os digeridos provenientes do método AOAC 999.10.2005 foram utilizados para a determinação de As, Cd e Pb por ICP-MS para comparação com os resultados obtidos pelos métodos desenvolvidos neste trabalho. O procedimento consistiu na decomposição de 500 mg das amostras por MAWD utilizando 5 mL de HNO₃ concentrado e 2 mL de H₂O₂ 30%. As soluções foram submetidas a um programa de irradiação e, em seguida, foram coletadas e aferidas a 25 mL com água. O programa de irradiação utilizado para decomposição das amostras está detalhado na Tabela 3.

Tabela 3. Programa de irradiação micro-ondas para o método da AOAC 999.10.2005.

Etapa	Potência, W	Tempo, min	Circulação de ar, m ³ h ⁻¹
1	250	3	60
2	630	5	60
3	500	22	60
4	0	15	125

3.5.3 Decomposição por via seca para a posterior determinação de As, Cd e Pb por ICP-MS

A decomposição por via seca foi feita com a utilização de cerca de 1 g de erva-mate, pesada em cadinhos de platina, os quais foram secos juntamente com as amostras a 65 °C por 2 h em forno do tipo mufla. Em seguida, foi elevada a temperatura até 480 °C por 16 h e, após o resfriamento, foram adicionados 0,5 mL de água e 2 mL de HNO₃ 50%. Os cadinhos foram aquecidos a 100 °C em uma chapa de aquecimento, até a evaporação total da solução. As cinzas restantes nos cadinhos foram novamente submetidas a uma temperatura de 450 °C por 30 min no forno do tipo mufla. Após o resfriamento dos cadinhos, foram adicionados 2 mL de HNO₃ 20% e aquecidos até o início da evaporação da solução. Após o resfriamento, foram coletadas as soluções e aferidas a 10 mL com água.

3.5.4 Decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas

Este método foi baseado no emprego de 6 mL de HNO₃ 14,4 mol L⁻¹ para a decomposição de 500 mg de amostras em frascos fechados de quartzo e, em seguida, submetidos à irradiação micro-ondas com a utilização de um forno de micro-ondas. As soluções foram coletadas e aferidas a 25 mL com água. Na Tabela 4 está descrito o programa de irradiação micro-ondas para a decomposição das amostras.

Tabela 4. Programa de irradiação micro-ondas para decomposição de erva-mate por MAWD.

Etapa	Potência, W	Rampa, min	Tempo de permanência, min	Circulação de ar, m ³ h ⁻¹
1	1000	5	20	60
2	0	-	20	125

3.6 Decomposição por aquecimento convencional em sistema aberto e sistema fechado

Com o intuito de decompor uma maior quantidade de amostra, foi avaliada a decomposição de 100, 500 e 1000 mg de erva-mate em bloco digestor (aquecimento convencional) no sistema fechado e no sistema aberto. Foram avaliadas a eficiência de decomposição de erva-mate com 6, 8 e 10 mL de HNO₃ 14,4 mol L⁻¹, tanto em sistema fechado quanto em sistema aberto. Para a decomposição de 1000 mg de amostra em sistema fechado, foi adotado como procedimento de segurança, a pré-decomposição da amostra, que consistiu em aquecer a mistura HNO₃/amostra até 70 °C por 40 min com os frascos abertos. Após essa pré-decomposição, os frascos foram fechados e submetidos a temperatura de 130 °C por 90 min. Na Tabela 5 são mostrados os programas de aquecimento para a decomposição das amostras em sistema aberto e sistema fechado.

Tabela 5. Programa de aquecimento de bloco digestor em sistema aberto e fechado para decomposição de erva-mate para determinação de As, Cd e Pb.

Etapa	Temperatura, °C	Taxa de aquecimento, min	Tempo, min
1	70	10	40
2	130	10	90

Após o aquecimento, as soluções foram coletadas e avolumadas a 25 mL com água. Para avaliar a eficiência de decomposição destes métodos, foi determinado o RCC por meio da determinação de C por ICP-OES nos digeridos. Na melhor condição de decomposição foi feita a determinação de As, Cd e Pb por GF AAS.

3.7 Decomposição assistida por radiação micro-ondas em sistema fechado empregando HNO₃ diluído com reagente auxiliar

A decomposição foi feita com soluções diluídas de HNO₃ utilizando O₂ como reagente auxiliar. Foram avaliadas massas de amostra entre 500 e 1500 mg, concentração de HNO₃ de 2, 4, 7 e 14,4 mol L⁻¹ e pressão de O₂ de 8 e 15 bar. Todos os estudos de decomposição foram feitos com a utilização de 6 mL de HNO₃, sendo este volume a quantidade mínima de solução recomendada pelo fabricante do forno de micro-ondas.

Na condição otimizada, foi avaliada a influência da circulação de ar na parte externa dos frascos de quartzo, simultaneamente à irradiação micro-ondas. Foram avaliadas vazões de ar de 60, 125 e 190 m³ h⁻¹. Todas as soluções foram coletadas e aferidas a 25 mL com água. Para a avaliação da eficiência de decomposição, foi determinado o carbono residual para o cálculo de RCC e acidez residual em todos os digeridos. Após a escolha da melhor condição de decomposição foi feita a determinação de As, Cd e Pb por GF AAS e ICP-MS. Na Tabela 6 está descrito o programa de irradiação micro-ondas utilizado para o procedimento de decomposição para este método.

Tabela 6. Programa de irradiação micro-ondas para decomposição de erva-mate por MAWD utilizando oxigênio como reagente auxiliar.

Etapa	Potência, W	Rampa, min	Tempo de permanência, min	Circulação de ar, m ³ h ⁻¹
1	1000	10	20	60*
2	0	-	20	125

*Nesta etapa também foram avaliadas vazões de ar com 125 e 190 m³ h⁻¹

3.8 Avaliação da eficiência de extração assistida por ultrassom para determinação de As, Cd e Pb

O método de extração assistida por ultrassom foi executado em banho ultrassônico com frequência de 35 kHz, amplitude de 100% e potência nominal de 200 W para todas as extrações. Como as ondas ultrassônicas apresentam uma

distribuição heterogênea no interior da cuba, foi necessário o mapeamento do campo acústico, com identificação dos pontos mais intensos de energia para assegurar a posição mais adequada dos frascos utilizados durante a extração. O mapeamento foi feito com uma folha de papel alumínio, a qual foi adquirida no mercado local.

As seguintes condições foram avaliadas: temperatura de 25 a 80 °C, 500 a 2000 mg de erva-mate, uso de HNO₃ com concentração de 3 mol L⁻¹ e H₂O como soluções extratoras e material dos frascos utilizados no banho de ultrassom (polipropileno e vidro). Para todas as soluções providas das extrações, o sobrenadante foram coletados e centrifugados por 5 min a 3000 rpm. Os analitos foram determinados por ICP-MS.

3.9 Determinação de As, Cd e Pb por GF AAS

O programa de aquecimento para a determinação de As, Cd e Pb por GF AAS foi otimizado com emprego de solução de referência aquosa e para os digeridos. A avaliação das curvas de pirólise e atomização para As, Cd e Pb foi feita com a utilização de modificador químico (Pd, 5 µg). As curvas de pirólise e atomização para As nos digeridos foram feitas com adição de 2 ng de padrão deste elemento, em virtude dos digeridos não apresentarem concentração passível de detecção para este elemento. O programa de aquecimento para a determinação dos analitos pode ser visto na Tabela 7.

Tabela 7. Programas de aquecimento utilizados na determinação de As, Cd e Pb em erva-mate por GF AAS.

Etapa	Analitos		
	As	Cd	Pb
Secagem			
Temperatura, °C	150	150	150
Taxa de aquecimento, °C s ⁻¹	5	5	5
Tempo, s	50	50	50
Vazão de Ar, L min ⁻¹	2	2	2
Pirólise			
Temperatura, °C	1200	400	600
Taxa de aquecimento, °C s ⁻¹	50	50	50
Tempo, s	50	50	50
Vazão de Ar, L min ⁻¹	2	2	2
Atomização			
Temperatura, °C	2200	1600	1800
Taxa de aquecimento, °C s ⁻¹	3000	3000	3000
Tempo, s	10	6	10
Vazão de Ar, L min ⁻¹	0	0	0

3.10 Avaliação dos resultados

Para a avaliação, seleção de parâmetros e discussão dos resultados, foram utilizados testes estatísticos. A comparação de médias foi feita pelo teste *t-Student*, com nível de confiança de 95%. A análise de variância (ANOVA) como 95% de nível de confiança também foi utilizada. Para todos esses testes estatísticos utilizou-se o *software* GraphPad InStat, versão 3.0, 1997 (GraphPad InStat Software, San Diego, EUA).

No fluxograma da Figura 1 estão mostradas as avaliações feitas no presente estudo para todos os parâmetros apresentados nesta seção, os quais serão discutidos na seção 4 (Apresentação e Discussão dos Resultados).

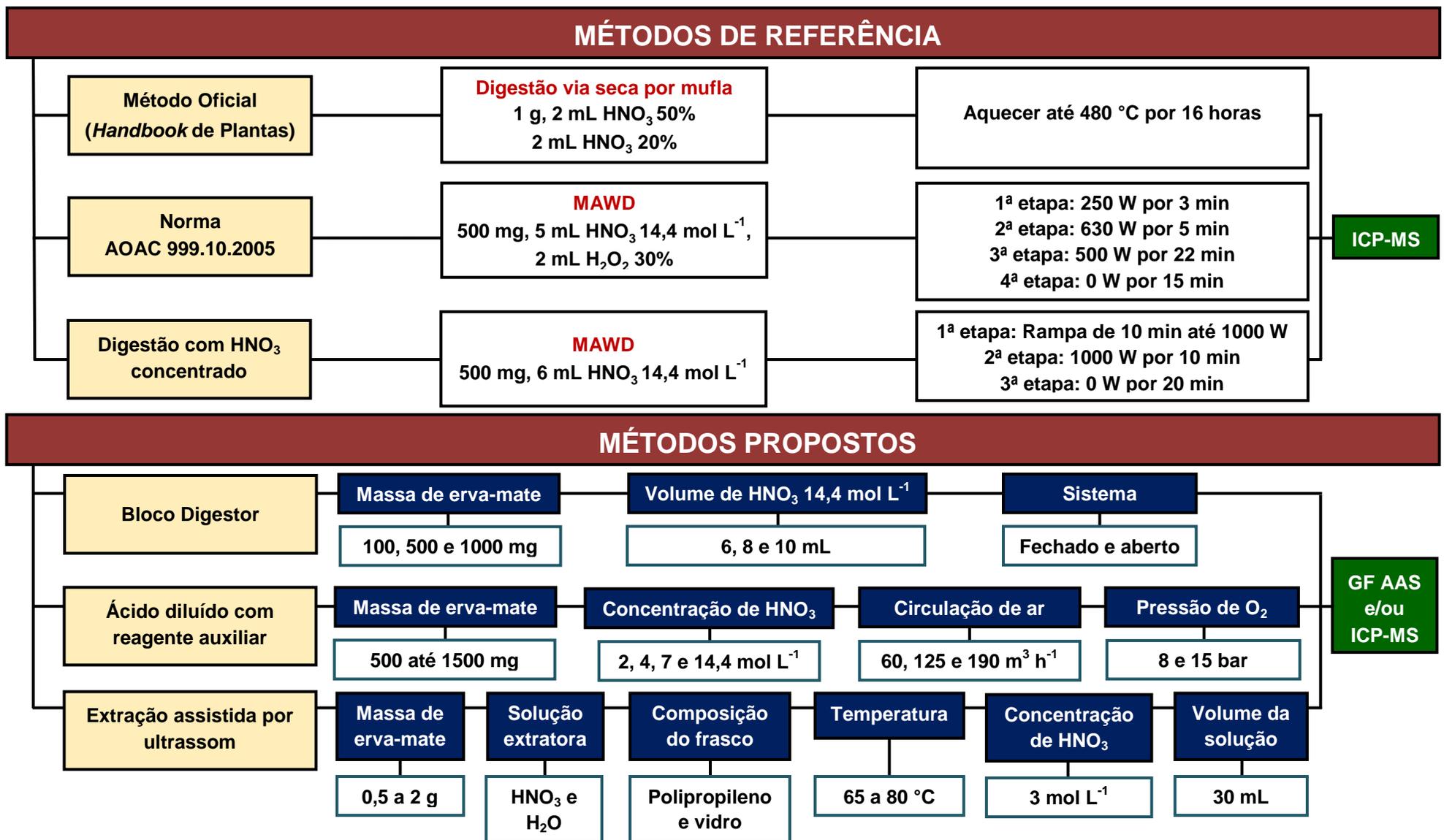


Figura 1. Esquema simplificado dos parâmetros avaliados neste estudo.

4. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

4.1 Caracterização das amostras

Todos os métodos de referência e métodos propostos foram otimizados com a utilização da amostra de erva-mate “A”. Após os processos de moagem e secagem foram determinados o diâmetro de partícula, o teor de cinzas totais e insolúveis em ácido, assim como o teor de C total.

4.1.1 Tamanho de partícula

Para a determinação da distribuição do tamanho de partícula foi utilizado um analisador de partículas Mastersizer 2000. Para isso, foram pesadas, aproximadamente, 50 mg da amostra e dispersas em 30 mL de água. Devido à limitação do equipamento, partículas maiores que 2 mm foram removidas com auxílio de uma peneira. Cabe destacar, que utilizando a técnica de gravimetria foram determinados o volume de partículas maiores que 2 e menores 7 mm, correspondendo a cerca de 30%. A amostra dispersa em água apresentou partículas de 15 a 1050 μm de diâmetro. Assim, essa heterogeneidade de tamanho pode influenciar na eficiência de recuperação dos analitos quando utilizado o método de extração assistida por ultrassom (vide seção 4.2.4.3). Na Figura 2 é mostrado o perfil de distribuição do tamanho de partícula em função do seu volume.

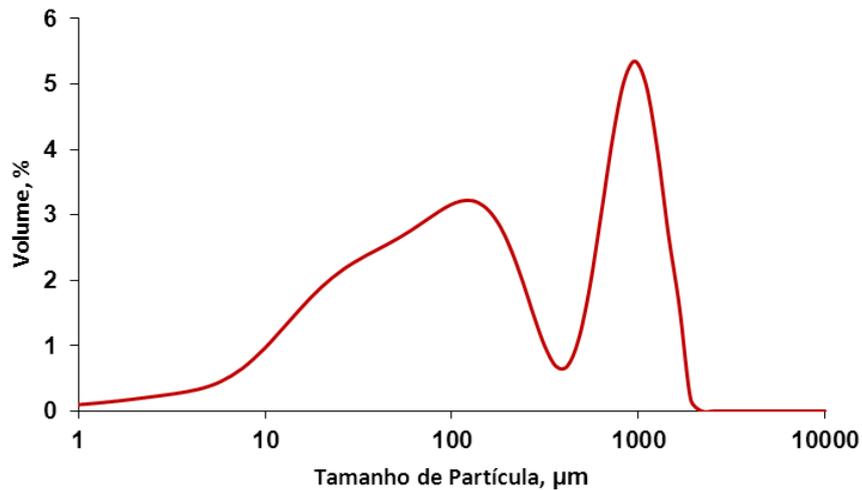


Figura 2. Perfil de distribuição do tamanho de partículas da erva-mate A, após o processo de moagem e secagem, $n = 3$.

4.1.2 Teor de cinzas totais e insolúveis em ácido

O teor de cinzas totais e insolúveis em ácido foram determinados para todas as amostras conforme descrito nas normas 018/IV e 024/IV do Instituto Adolfo Lutz.⁴⁵ Cerca de 3 g de amostra foram pesadas em cadinho de Pt, os quais foram incinerados em forno do tipo mufla a 550 °C e o resíduo pesado para a determinação do teor de cinzas totais. Para as cinzas insolúveis em ácido, foram utilizadas as cinzas totais determinadas anteriormente e adicionados 20 mL de HCl 10% sendo aquecido em chapa de aquecimento por 5 min. Após, a solução foi filtrada com papel filtro, o qual o resíduo e o papel filtro foram submetidos a 500 °C. Os resultados estão descritos na Tabela 8.

Tabela 8. Teor de cinzas totais e insolúveis em ácido para cinco amostras de erva-mate conforme normas 018/IV e 024/IV do Instituto Adolfo Lutz. Os valores descritos representam a média \pm desvio padrão, $n = 3$, unidade em %.

Amostras	Cinzas	
	Totais	Insolúveis
Erva-mate A	5,94 \pm 0,04	0,69 \pm 0,04
Erva-mate B	6,62 \pm 0,09	0,89 \pm 0,06
Erva-mate C	6,07 \pm 0,03	0,60 \pm 0,05
Erva-mate D	6,63 \pm 0,03	0,74 \pm 0,07
Erva-mate E	5,61 \pm 0,06	0,52 \pm 0,03

⁴⁵ Instituto Adolfo Lutz, Métodos físico-químicos para análise de alimentos, 4ª ed., São Paulo, 2008, pp. 1020.

4.1.3 Determinação de teor de C total

Para a avaliação da eficiência de decomposição dos métodos propostos, foi determinado o teor de carbono residual em solução nos digeridos e extratos utilizando a técnica de ICP-OES. Deste modo, houve a necessidade de se determinar o teor de C total na amostra de erva-mate, sendo a concentração de C utilizado para calcular o valor de RCC nas amostras decompostas. Assim, o teor de C total determinado foi de $49,0 \pm 0,1\%$.

4.1.4 Decomposição por MAWD segundo método da AOAC 999.10.2005

A AOAC não preconiza a determinação de As no método 999.10.2005. Apesar deste fato, foi determinado As nos digeridos, em função de utilizar-se um sistema fechado para a decomposição, o qual possibilita uma redução no risco de perdas deste elemento por volatilização. Assim, as decomposições foram feitas utilizando, aproximadamente, 500 mg da erva-mate "A", 5 mL de HNO_3 14,4 mol L^{-1} e 2 mL de H_2O_2 30%. Os digeridos foram coletados e avolumados a 25 mL. O programa de irradiação micro-ondas está descrito na Tabela 3.

Os resultados obtidos por ICP-MS para As, Cd e Pb na erva-mate "A", utilizando o método segundo AOAC 999.10.2005 foram de $0,040 \pm 0,008$, $0,331 \pm 0,014$ e $0,257 \pm 0,026 \mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente. Os LOQs foram de 5,0, 1,0 e 1,0 ng g^{-1} para As, Cd e Pb, respectivamente.

4.1.5 Decomposição por via seca

O método de preparo de amostra empregando um forno do tipo mufla, seguiu o método de referência conforme descrito no *Handbook of reference methods for plant analysis*⁴⁴. Entretanto, neste método não há citação quanto à possibilidade da determinação de As. Mesmo assim, foram determinados As, Cd e Pb por ICP-MS nos digeridos para fins de comparações com os resultados obtidos neste trabalho. Estes resultados foram comparados com os obtidos pelo método da AOAC 999.10.2005 e o método MAWD, para estabelecer valores de referência para as avaliações dos métodos propostos neste trabalho.

A decomposição de 1 g de erva-mate para a posterior determinação de As, Cd e Pb por ICP-MS, foi feita em cadinho de Pt a 480 °C durante 16 h. Em seguida, foram adicionados 2 mL de HNO₃ 50% e sendo aquecido até, aproximadamente, 100 °C, até evaporar a solução e oxidar as cinzas restantes do processo anterior. Posteriormente, os cadinhos foram aquecidos a 450 °C em mufla por 30 min. Após o resfriamento, foram adicionados 2 mL de HNO₃ 20% e aquecido até o início da evaporação da solução.

A concentração de As, Cd e Pb nos digeridos foi de $0,012 \pm 0,001$, $0,213 \pm 0,006$ e $0,032 \pm 0,003 \mu\text{g g}^{-1}$. Os limites de quantificação (LOQ) para As, Cd e Pb foram de 2, 1 e 6 ng g⁻¹ respectivamente.

⁴⁴ Kalra, Y. P., *Handbook of reference methods for plant analysis*, CRC Press, Boca Raton, 1998, pp. 287.

4.1.6 Decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas

As decomposições foram feitas com 500 mg de erva-mate e 6 mL de HNO₃ 14,4 mol L⁻¹, o programa de irradiação está descrito na Tabela 4. Foi determinada a concentração de As, Cd e Pb por ICP-MS nos digeridos por este método. Os valores de concentração para esses três elementos, divergiram dos valores obtidos nos digeridos do método de decomposição por via seca (vide seção 4.1.7). A concentração dos analitos (As, Cd e Pb) foi de 0,039 ± 0,002, 0,323 ± 0,025 e 0,285 ± 0,023 µg g⁻¹ respectivamente. Os LOQs foram na ordem de 4, 1 e 2 ng g⁻¹ para As, Cd e Pb quando determinados por ICP-MS.

4.1.7 Comparação e discussão dos resultados obtidos utilizando os métodos de referência

Optou-se pela utilização de três métodos de referência, visto que os métodos da AOAC 999.10.2005 e a decomposição por via seca não contemplam a posterior determinação de As. Os resultados obtidos por todos os métodos são descritos na Tabela 9.

Tabela 9. Resultados para As, Cd e Pb em erva-mate “A” por ICP-MS pelos métodos de comparação propostos neste trabalho. Os valores descritos representam a média ± desvio padrão, n = 3, µg g⁻¹. Valores entre parênteses representam o LOQ, ng g⁻¹.

Métodos	Analitos		
	⁷⁵ As	¹¹¹ Cd	²⁰⁶ Pb
Via seca	0,012 ± 0,001 (2)	0,213 ± 0,006 (1)	0,032 ± 0,003 (6)
MAWD	0,039 ± 0,002 (4)	0,323 ± 0,025 (1)	0,285 ± 0,023 (2)
AOAC 999.10.2005	0,040 ± 0,008 (5)	0,331 ± 0,014 (1)	0,257 ± 0,026 (1)

Para o método de decomposição por via seca, foi possível observar que todos os valores apresentados na Tabela 9 foram menores que aqueles obtidos para os outros métodos. Essa diferença pode ser justificada, em vista das perdas de analitos por volatilização ou adsorção desses metais na parede dos cadinhos.⁹

Marcelo *et al.*³, determinaram As, Cd e Pb em 54 amostras de erva-mate de diferentes regiões e países, sendo utilizado um método de decomposição em sistema fechado com auxílio de bloco digestor empregando HNO₃ e H₂O₂ como reagentes para oxidação da amostra. Os valores e médias descritos pelos autores estão próximos aos obtidos para a erva-mate “A” pelos métodos MAWD e AOAC 999.10.2005 para As, Cd e Pb. Assim, quando comparados estatisticamente os valores obtidos pelos métodos MAWD e AOAC 999.10.2005 (teste *t-Student* com 95% de confiança), não apresentaram diferença significativa para As, Cd e Pb.

Desta maneira, como método de referência foi utilizado o método da AOAC 999.10.2005 para a determinação de As, Cd e Pb por ICP-MS. Em vista da não descrição da determinação de As, houve a necessidade da avaliação da exatidão do método. Devido a indisponibilidade de CRMs de erva-mate, a exatidão do método de decomposição da AOAC 999.10.2005 foi avaliada utilizando CRMs de matrizes semelhantes. Assim, dois CRMs, NIST 1547 e NIST 1575^a foram utilizados para esse estudo. A concentração de As, Cd e Pb obtida nos digeridos por ICP-MS está mostrada na Tabela 10.

Tabela 10. Resultados para a determinação de As, Cd e Pb por ICP-MS nos CRMs NIST 1547 e NIST 1575a empregando o método AOAC 999.10.2005. Os valores descritos representam a média \pm desvio padrão, $\mu\text{g g}^{-1}$, $n = 3$.

CRMs	Valores	⁷⁵ As	¹¹¹ Cd	²⁰⁶ Pb
NIST 1547	Obtido	0,086 \pm 0,012	0,027 \pm 0,001	0,74 \pm 0,05
	Certificado	0,060 \pm 0,018	0,026 \pm 0,003	0,87 \pm 0,03
NIST 1575a	Obtido	0,039 \pm 0,003	0,221 \pm 0,009	0,150 \pm 0,018
	Certificado	0,039 \pm 0,002	0,233 \pm 0,004	0,167 \pm 0,015

⁹ Krug, F. J. Métodos de preparo de amostras: fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar, Seção Técnica de Biblioteca - CENA/USP, Piracicaba, 2010, 340 p.

³ Marcelo, M. C. A. *et al.* *Microchemical Journal* 117 (2014) 164-171.

Os resultados obtidos nos digeridos dos CRMs NIST 1547 e NIST 1575a foram comparados estatisticamente com os valores certificados e, apenas para Pb no NIST 1547 houve diferença significativa, entretanto, foi observado resíduo sólido após a decomposição deste material. Este resíduo pode ser devido à presença de sílica no CRM, pois o certificado deste, adverte que poderá haver adsorção destes elementos neste resíduo, assim recomenda-se utilizar ácido fluorídrico na decomposição, caso haja a presença de resíduo de sílica.⁴⁶ Apesar deste resultado, pode-se considerar que o método é adequado para o preparo de amostras de erva-mate.

4.1.8 Determinação de As, Cd e Pb por ICP-MS utilizando AOAC 999.10.2005 como método de decomposição

Para obtenção dos valores de referência para as amostras de erva-mate, foi utilizado o método da AOAC 999.10.2005 para a decomposição, seguida da determinação por ICP-MS. Na Tabela 11 estão descritos os valores obtidos para as amostras de erva-mate.

Tabela 11. Resultados obtidos de As, Cd e Pb pelo método da AOAC 999.10.2005 por ICP-MS para as amostras de erva-mate. Os valores descritos representam a média \pm desvio padrão, $\mu\text{g g}^{-1}$, $n = 3$.

Amostras	Analitos		
	⁷⁵ As	¹¹¹ Cd	²⁰⁶ Pb
Erva-mate A	0,040 \pm 0,008	0,331 \pm 0,014	0,257 \pm 0,026
Erva-mate B	0,073 \pm 0,006	0,223 \pm 0,009	0,767 \pm 0,043
Erva-mate C	0,058 \pm 0,006	0,285 \pm 0,010	0,500 \pm 0,032
Erva-mate D	0,049 \pm 0,004	0,420 \pm 0,008	0,223 \pm 0,014
Erva-mate E	0,029 \pm 0,003	0,400 \pm 0,005	0,202 \pm 0,017

⁴⁶ Reed, W. P., Standard Reference Material 1547 - Peach Leaves, NIST (Ed.) Certificate of Analysis, 1993.

Das cinco amostras utilizadas para o desenvolvimento deste trabalho, duas (erva-mate “D” e “E”) apresentaram valores superiores aos permitidos pela legislação para Cd, enquanto que para Pb apenas uma amostra (erva-mate “B”) apresentou concentração superior a legislação. Os resultados descritos na Tabela 11 foram utilizados como valores de referência para todas as amostras no restante deste trabalho.

4.2 Métodos propostos para decomposição e extração de As, Cd e Pb para posterior determinação por GF AAS e ICP-MS

Foram propostos três métodos de preparo de amostra para posterior determinação de As, Cd e Pb por GF AAS e/ou ICP-MS, sendo dois de decomposição e um de extração. A escolha destes métodos foi baseada em possibilidades reais e práticas, para utilização dos mesmos em análise de rotina. Assim, a frequência analítica, juntamente com a elevada massa de amostra, foram os principais objetivos para a avaliação destes métodos. Além de visar à determinação dos analitos (As, Cd e Pb) em concentrações inferiores as imposta pela legislação.

4.2.1 Avaliação da eficiência de decomposição por via úmida em sistema aberto e sistema fechado utilizando aquecimento convencional

Para a decomposição de erva-mate em sistema aberto e fechado utilizando aquecimento convencional, foi avaliada a massa de amostra e o volume de HNO_3 $14,4 \text{ mol L}^{-1}$ com o objetivo de comparar a eficiência de decomposição entre as condições e os métodos. Este estudo consistiu nas decomposições de 100, 500 e 1000 mg de erva-mate com a utilização de 6, 8 e 10 mL de HNO_3 $14,4 \text{ mol L}^{-1}$, sendo empregado o tempo de decomposição de 90 min e temperatura de $130 \text{ }^\circ\text{C}$. Na Figura 3 estão mostrados os resultados obtidos para carbono residual em solução determinado pela técnica de ICP-OES, para o sistema aberto (Figura 3-A) e sistema fechado (Figura 3-B).

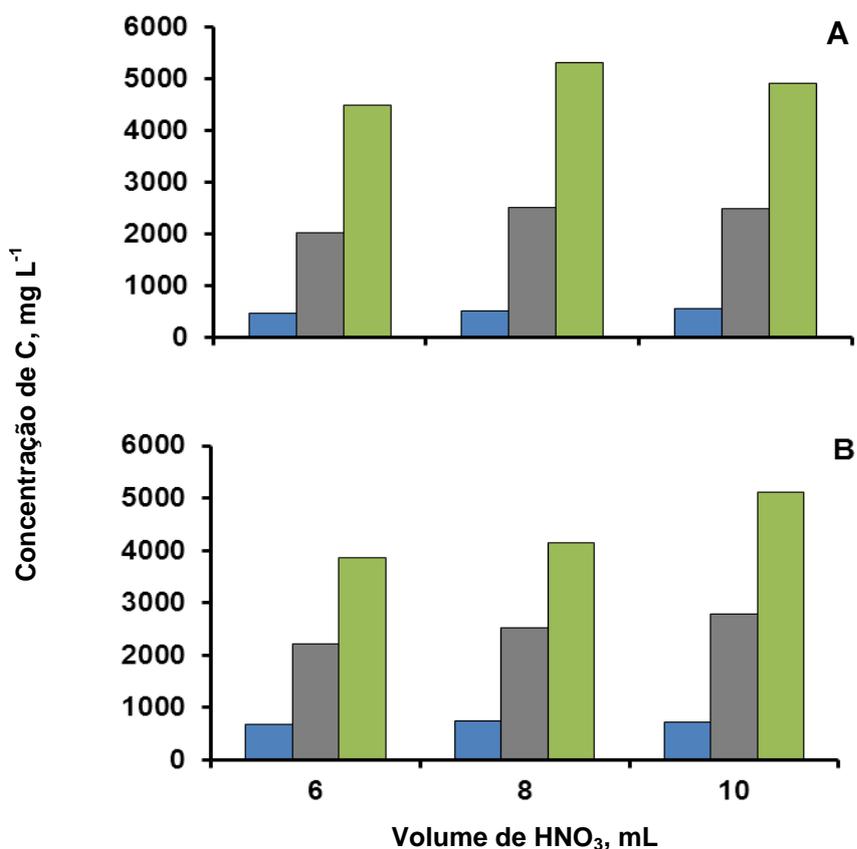


Figura 3. Valores de carbono em solução para decomposição por aquecimento convencional em sistema aberto (A) e sistema fechado (B); 100 mg (■), 500 mg (■) e 1000 mg (■). Todas as decomposições apresentaram resíduos de matéria orgânica não decomposta, n = 3.

É importante salientar que todas as decomposições em sistema aberto e sistema fechado apresentaram resíduos de matéria orgânica. É possível observar que o sistema aberto e o sistema fechado apresentaram valores de C em solução foram semelhantes entre as respectivas condições. Devido a esses resultados, foi utilizado o sistema aberto para as decomposições por via úmida com aquecimento convencional. Além disso, o bloco digestor utilizado no sistema aberto possui capacidade de efetuar 42 decomposições simultâneas e também neste sistema não há a necessidade de uma etapa de pré-decomposição da amostra, possibilitando uma elevada frequência analítica quando comparado com o sistema fechado.

De acordo com os objetivos propostos para este método, que foram obter uma decomposição de elevada massa de amostra e uma elevada frequência analítica, optou-se pela condição otimizada do método de decomposição em sistema aberto por aquecimento convencional com 1000 mg de erva-mate empregando 10 mL de HNO₃ 14,4 mol L⁻¹.

Devido a decomposição incompleta das amostras, foi obtido um elevado teor de carbono em solução, essa elevada concentração de C pode causar interferências na etapa de determinação de As, Cd e Pb por ICP-MS, levando a problemas de viscosidade e efeitos no plasma, como supressões de sinais devido a elevada carga orgânica e a também aumento no sinal para elementos com alto potencial de ionização.⁴⁷ Neste sentido, foi utilizada a GF AAS para determinação para As, Cd e Pb nos digeridos, devido a robustez desta técnica. Assim, a utilização da condição que apresentou maior teor de carbono em solução, não prejudicou a etapa de determinação causando possíveis interferências pelo elevado teor de carbono nos digeridos.

4.2.2 Determinação de As, Cd e Pb por GF AAS após decomposição por via úmida em sistema aberto por aquecimento convencional

Para a determinação dos analitos (As, Cd e Pb) por GF AAS, foram feitas curvas de pirólise e atomização para cada elemento, com temperaturas entre 400 e 1600 °C na etapa de pirólise e entre 1200 e 2500 °C na etapa de atomização. As condições definidas para a quantificação destes elementos estão descritas na Tabela 7, na seção 3.7 do capítulo 3. A concentração de As determinada nos digeridos esteve abaixo do LOQ do método. Na etapa de determinação de Cd e Pb não foi observada supressão nos sinais de absorbância dos analitos e/ou outros problemas provenientes do sinal de fundo. O elevado teor de carbono em solução nos digeridos, não apresentou problemas de interferências na etapa de determinação dos analitos, como pode ser visualizado nos perfis dos sinais de absorbância e do fundo para ambos os elementos na Figura 4. A concentração de As, Cd e Pb obtida a partir dos digeridos por GF AAS são descritos na Tabela 12.

⁴⁷ Leclercq, A. *et al. Analytica Chimica Acta* 885 (2015) 57-91.

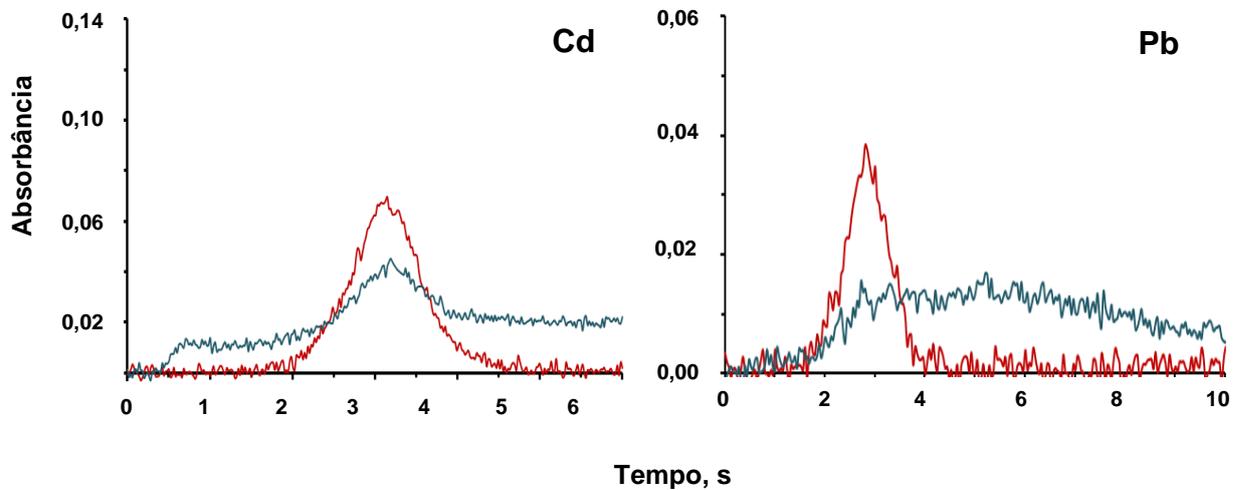


Figura 4. Perfil dos sinais de absorvância (—) e fundo (—) para Cd (Absorvância integrada = $0,0759 \text{ s}^{-1}$) e Pb (Absorvância integrada = $0,0493 \text{ s}^{-1}$) nos digeridos da erva-mate “A” pelo método de decomposição por via úmida em sistema aberto por aquecimento convencional.

Tabela 12. Resultados para As, Cd e Pb por GF AAS em erva-mate pelo método de decomposição por via úmida em sistema aberto com aquecimento convencional. Os valores descritos representam a média \pm desvio padrão, $n = 3$, $\mu\text{g g}^{-1}$.

Amostras	Analitos		
	As	Cd	Pb
Erva-mate A	< 0,26	$0,298 \pm 0,021$	$0,249 \pm 0,012$
Erva-mate B	< 0,26	$0,210 \pm 0,012$	$0,791 \pm 0,021$
Erva-mate C	< 0,26	$0,294 \pm 0,012$	$0,492 \pm 0,029$
Erva-mate D	< 0,26	$0,430 \pm 0,012$	$0,215 \pm 0,024$
Erva-mate E	< 0,26	$0,385 \pm 0,017$	$0,210 \pm 0,011$

Como observado na Tabela 12, não foi possível determinar As nas cinco amostras utilizando o método de decomposição em sistema aberto com aquecimento convencional por GF AAS, devido à baixa concentração desse elemento nas amostras e o elevado LOQ obtido para este método. Entretanto, este método apresentou LOQ menor do que a concentração máxima permitida pela legislação para As ($0,60 \mu\text{g g}^{-1}$).

Por outro lado, foi possível determinar Cd e Pb por GF AAS nas cinco amostras de erva-mate utilizando esse método de decomposição. Os valores obtidos

não apresentaram diferença significativa (teste *t-Student* com 95% de confiança), quando comparados com os valores de referência. Assim, como no método de referência, é possível verificar que, estatisticamente, a erva-mate “D” apresentou valor para Cd acima do permitido pela legislação e apenas uma amostra (erva-mate “B”) apresentou concentração elevada (acima do permitido pela legislação) para Pb.

Cabe ressaltar, que apesar da utilização de um sistema aberto, não foram observados problemas com contaminação para As, Cd e Pb. Assim, o método de decomposição por aquecimento convencional em sistema aberto foi eficiente para a decomposição de erva-mate para a posterior determinação de Cd e Pb por GF AAS.

4.2.3 Decomposição assistida por radiação micro-ondas empregando HNO₃ diluído e oxigênio como reagente auxiliar

4.2.3.1 Avaliação da massa de amostra

As decomposições iniciais para avaliação da máxima massa de amostra decomposta foram feitas com base na condição proposta por Bizzi *et al.*¹² para a decomposição de amostras botânicas. Portanto, cerca de 500 mg de amostra foram decompostas empregando 6 mL de HNO₃ 2 mol L⁻¹ em frascos pressurizados com 8 bar de O₂. Para essa condição, foi obtido um elevado valor de RCC (cerca de 34%) nos digeridos. O carbono em solução nos digeridos (determinado por ICP-OES) foi de, aproximadamente, 2500 mg L⁻¹. Também foi determinada a acidez residual, a qual apresentou um valor de 4,5 ± 0,1%. Deste modo, por apresentar uma baixa eficiência de decomposição e baixa acidez residual, foi necessário aumentar a concentração de HNO₃ (4 mol L⁻¹). Neste sentido, foi feita a avaliação de decomposição das massas de amostra entre 500 e 1000 mg empregando 6 mL de HNO₃ 4 mol L⁻¹ em frascos pressurizados com 8 bar de O₂. Os resultados de RCC e acidez residual nos digeridos dessas avaliações são mostrados na Figura 5.

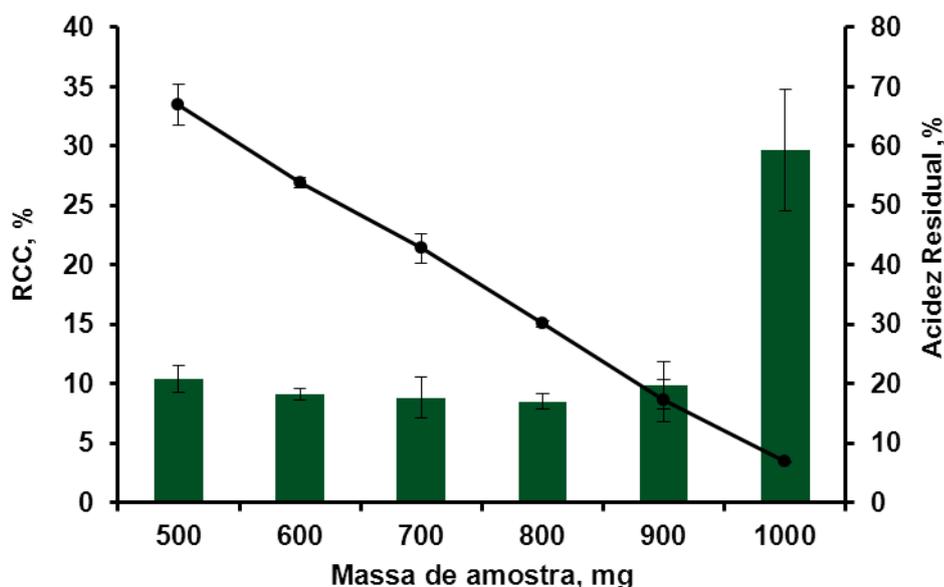


Figura 5. Resultados de RCC (■) e acidez residual (—) para avaliação da decomposição de massa de amostra para o método por MAWD empregando HNO_3 4 mol L^{-1} com frascos pressurizados com 8 bar de O_2 , $n = 3$.

Nesta avaliação, foi possível observar que os valores de RCC obtidos nos digeridos das massas de amostra entre 500 e 900 mg, não apresentaram diferença significativa entre si (teste *t-Student* com 95% de confiança). Entretanto, quando foram utilizados 1000 mg de erva-mate para a decomposição, o valor de RCC nos digeridos teve um aumento substancial com relação ao RCC para a decomposição de 900 mg de amostra. A provável causa desse aumento do RCC quando utilizados 1000 mg de amostra, pode estar relacionada com a baixa concentração de HNO_3 que resultou em um baixo valor da acidez residual (< 10%) determinada nos digeridos. Cabe ressaltar, que os digeridos não apresentaram resíduo de matéria orgânica.

Para a continuação da avaliação da máxima massa decomposta foi necessário elevar a concentração de HNO_3 , devido ao elevado RCC (aproximadamente 30%) obtido nos digeridos na condição com 1000 mg de erva-mate utilizando HNO_3 4 mol L^{-1} . Deste modo, a concentração de HNO_3 utilizada foi de 7 mol L^{-1} com frascos pressurizados com 8 bar de O_2 . Com isso, a eficiência de decomposição foi avaliada para massas de amostra entre 1000 e 1500 mg. Os valores de RCC e acidez residual nos digeridos dessas avaliações podem ser visualizados na Figura 6.

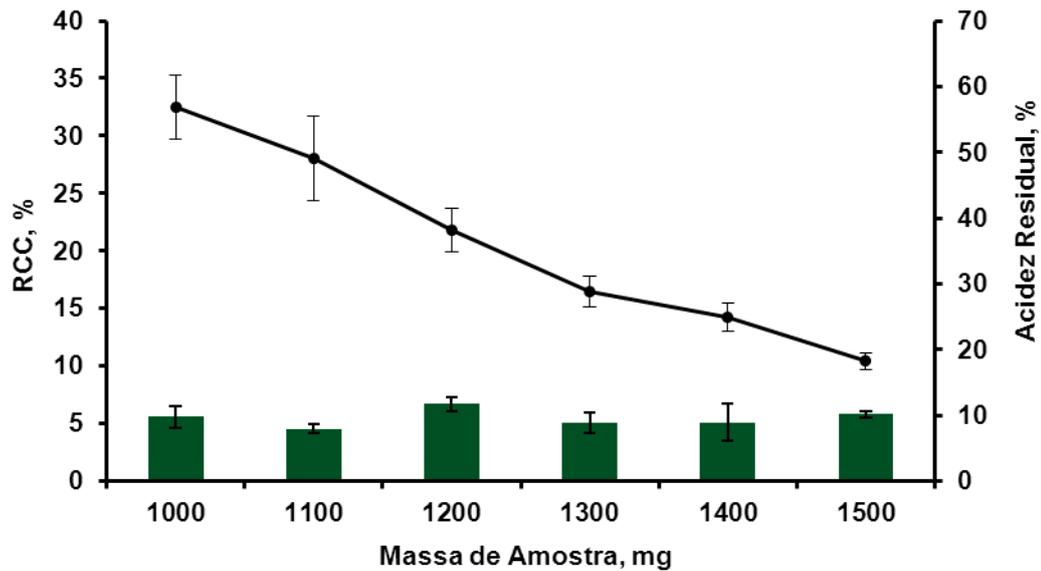


Figura 6. Valores de RCC (■) e acidez residual (—) para a decomposição de massa de amostra de 1000 a 1500 mg empregando HNO_3 7 mol L^{-1} com frascos pressurizado com 8 bar de O_2 , $n = 3$.

Após repetir a decomposição de 1000 mg de erva-mate, alterando a concentração de HNO_3 para 7 mol L^{-1} e frascos pressurizados a 8 bar de O_2 , foi obtido um valor de RCC nos digeridos de, aproximadamente, 5%. Devido a essa boa eficiência de decomposição, continuou-se os estudos da decomposição de massas de amostra até 1500 mg. Como pode ser verificado na Figura 6, as eficiências de decomposições entre as massas de amostra de 1000 até 1500 mg foram similares e não apresentaram diferença significativa entre os valores de RCC dos digeridos (teste *t-Student* com 95% de confiança), quando comparados entre eles.

Com base nestes resultados de RCC, a condição com 1500 mg de massa foi utilizada para decompor todas as amostras de erva-mate. Além da boa eficiência de decomposição, outro resultado que corroborou para essa escolha foi o valor obtido para a acidez residual inferior a 20%. Esse baixo valor de acidez residual é importante na etapa de determinação, pois quando em altas concentrações, a acidez residual pode causar problemas na etapa de determinação por ICP-MS. Um dos problemas é a flutuação da linha base em técnicas que utilizam plasma indutivamente acoplado como atomizador e ionizador.⁴⁸ Cabe destacar que não foram feitos testes com quantidades maiores de massa de amostra para evitar possíveis problemas no forno micro-ondas, uma vez que, nessa condição, o sensor de pressão do equipamento registrou elevados picos de pressão controlados no interior dos frascos.

4.2.3.2 Avaliação da pressão de O₂ em decomposição MAWD

Após optar pela condição de decomposição com 1500 mg de massa de amostra empregando 6 mL de HNO₃ 7mol L⁻¹ em frascos pressurizados com 8 bar de O₂, avaliou-se a pressão de O₂ (8 e 15 bar), para as três últimas massas de amostras avaliadas (1300, 1400 e 1500 mg). Os resultados obtidos são mostrados na Figura 7.

⁴⁸ Stewart, II *et al.* *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 13 (1998) 1249-1256.

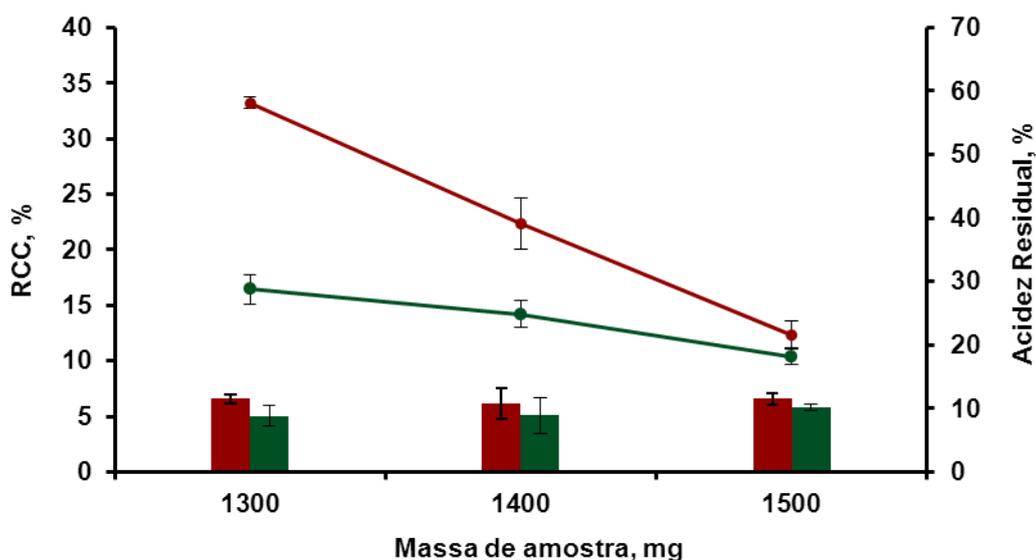


Figura 7. Valores de RCC (barras) e acidez residual (linhas) para a decomposição por MAWD empregando HNO_3 7 mol L^{-1} variando da pressão de O_2 nos frascos com 8 bar (verde) e 15 bar (vermelho), $n = 3$.

Verificou-se que para as condições de 1300 mg de amostra com 8 e 15 bar de O_2 e 1500 mg de amostra com 8 e 15 bar de O_2 , não houve diferença significativa entre os valores obtidos de RCC. O aumento da quantidade de O_2 (15 bar), não melhora a eficiência de decomposição, pelo contrário, é possível visualizar uma tendência de aumento no valor do RCC para essa condição. Uma possível explicação é que a temperatura máxima atingida no processo de decomposição utilizando 15 bar de O_2 , foi inferior a condição com 8 bar de O_2 . Assim, ao se verificar tais temperaturas pode-se observar que na condição de decomposição com 8 bar a temperatura máxima foi de $205 \text{ }^\circ\text{C}$. Por outro lado, a condição de 15 bar apresentou uma temperatura máxima de $186 \text{ }^\circ\text{C}$. Essa diferença pode ser explicada, pelo aumento súbito da pressão interna nos frascos em ambas as condições, sendo um aumento mais pronunciado quando se utilizou 15 bar de O_2 . Deste modo, por ter um aumento de pressão interna mais intensa na condição de 15 bar de O_2 , o limite do aumento de pressão recomendado pelo fabricante do equipamento ($0,8 \text{ bar s}^{-1}$) foi atingido e, por segurança, a radiação micro-ondas foi cessada, acionando o sistema de circulação de ar máximo ($190 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$) ocasionando um resfriamento nos frascos. Com isso, a eficiência de decomposição utilizando 15 bar de O_2 sofre um leve acréscimo quando comparada com a condição de 8 bar de O_2 .

4.2.3.3 Avaliação da circulação de ar durante o processo de decomposição

A decomposição de 1500 mg de erva-mate empregando HNO_3 7 mol L^{-1} com frascos pressurizados com 8 bar de O_2 , apresentou picos de pressão controlados durante o programa de decomposição. Neste sentido, foi feita a avaliação da circulação de ar durante o processo de decomposição conforme Bizzi *et al.*²², com o objetivo de reduzir os picos de pressão no sistema. O experimento consistiu em avaliar as três vazões de ar permitidas pelo equipamento (60, 125 e 190 $\text{m}^3 \text{h}^{-1}$).

Os resultados de RCC obtidos para as decomposições foram de $5,8 \pm 0,3\%$, $5,2 \pm 0,4\%$ e $4,1 \pm 0,5\%$ para a vazão de ar de 60, 125 e 190 $\text{m}^3 \text{h}^{-1}$ respectivamente. Pode se observar que a eficiência de decomposição utilizando a vazão de ar com 60 $\text{m}^3 \text{h}^{-1}$, não apresentou diferença significativa quando comparada com a obtida com vazão de ar com 125 $\text{m}^3 \text{h}^{-1}$. Entretanto, quando comparado o valor de RCC na condição utilizando a vazão de ar com 60 $\text{m}^3 \text{h}^{-1}$ com a condição empregando a vazão de ar com 190 $\text{m}^3 \text{h}^{-1}$, a diferença entre as médias foi significativa. Assim, o aumento da circulação de ar, durante o processo de decomposição empregando HNO_3 7 mol L^{-1} com frascos pressurizados com 8 bar de O_2 , apresentou uma redução no valor de RCC. Com o objetivo de elucidar o motivo da melhora na eficiência de decomposição utilizando a máxima vazão de ar, os perfis dos gráficos de potência de irradiação micro-ondas e pressão, são mostrados na Figura 8 para as vazões de ar com 60, 125 e 190 $\text{m}^3 \text{h}^{-1}$.

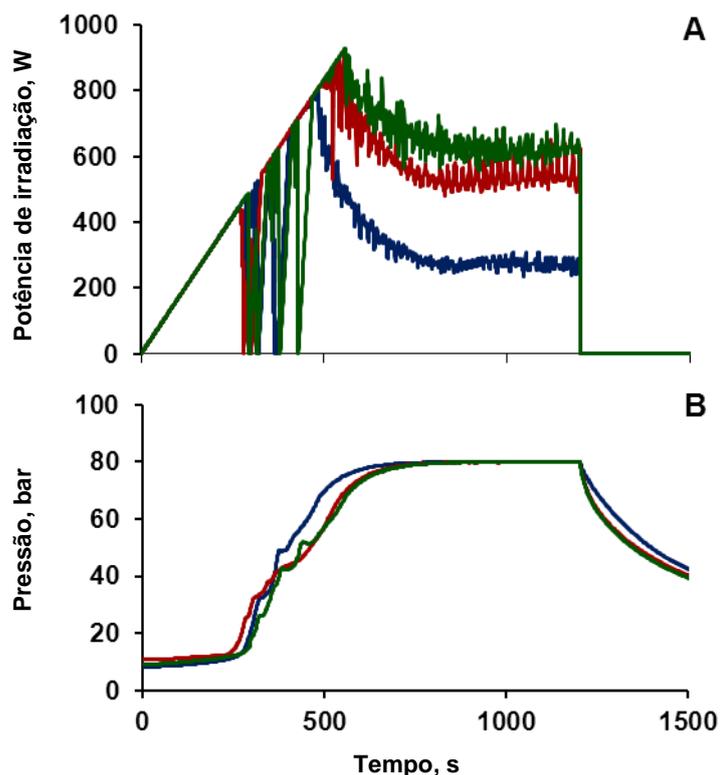


Figura 8. Gráficos de potência de irradiação (A) e pressão interna dos frascos (B) para as vazões de ar avaliadas, 60 (—), 125 (—) e 190 (—) $\text{m}^3 \text{h}^{-1}$ durante o aquecimento micro-ondas para a decomposição de 1500 mg de erva-mate empregando HNO_3 7 mol L^{-1} com frascos pressurizados com 8 bar de O_2 .

Pode ser relacionada à melhora na eficiência de decomposição com a transferência de calor forçada do frasco reacional para o ambiente externo, resultando em uma diminuição gradual de pressão. Assim, os picos de pressão são suavizados possibilitando que a radiação micro-ondas seja incidida na solução por mais tempo. Assim, a solução absorve uma quantidade maior de micro-ondas, esta acaba aumentando a temperatura e por consequência o poder de oxidação do HNO_3 .

Neste sentido, foi calculada a área do gráfico de potência, para se obter o valor de potência integrada (kW s^{-1}). A condição com vazão de ar de 60 $\text{m}^3 \text{h}^{-1}$ apresentou 404 kW s^{-1} . Entretanto, quando se comparou com as condições de vazões de ar com 125 e 190 $\text{m}^3 \text{h}^{-1}$, a potência integrada foi de 608 kW s^{-1} e 637 kW s^{-1} respectivamente. Esses resultados corroboraram com a teoria do aumento de temperatura na solução para sistema fechado.⁸

⁸ Flores, E. M. M., *Microwave-Assisted Sample Preparation for Trace Element Determination*, Elsevier, Oxford, 2014, pp. 400.

4.2.3.4 Efeito do reagente auxiliar sobre a decomposição

Foi feita a decomposição de 1500 mg de erva-mate empregando 6 mL de HNO_3 14,4 mol L^{-1} , sem o uso de oxigênio como reagente auxiliar. Esse método de decomposição foi comparado com o método proposto usando HNO_3 7 mol L^{-1} com frascos pressurizados a 8 bar de O_2 , com a finalidade de comprovar a necessidade do uso de reagente auxiliar na decomposição de 1500 mg de amostra. A comparação da eficiência de decomposição entre esses dois métodos, apresentou diferença significativa (teste *t-Student* com 95 % de confiança). O valor obtido de RCC para o método por MAWD empregando HNO_3 14,4 mol L^{-1} foi de $9,5 \pm 0,2\%$, por outro lado, quando utilizou-se o método de decomposição empregando HNO_3 7 mol L^{-1} com frascos pressurizados com 8 bar de O_2 o valor de RCC foi de $5,8 \pm 0,3\%$. Deste modo, com o intuito de tentar elucidar essa diferença nos valores de RCC entre as duas condições, foram plotados os perfis dos gráficos de pressão interna dos frascos e da potência de irradiação em função do tempo de decomposição, os quais são mostrados na Figura 9.

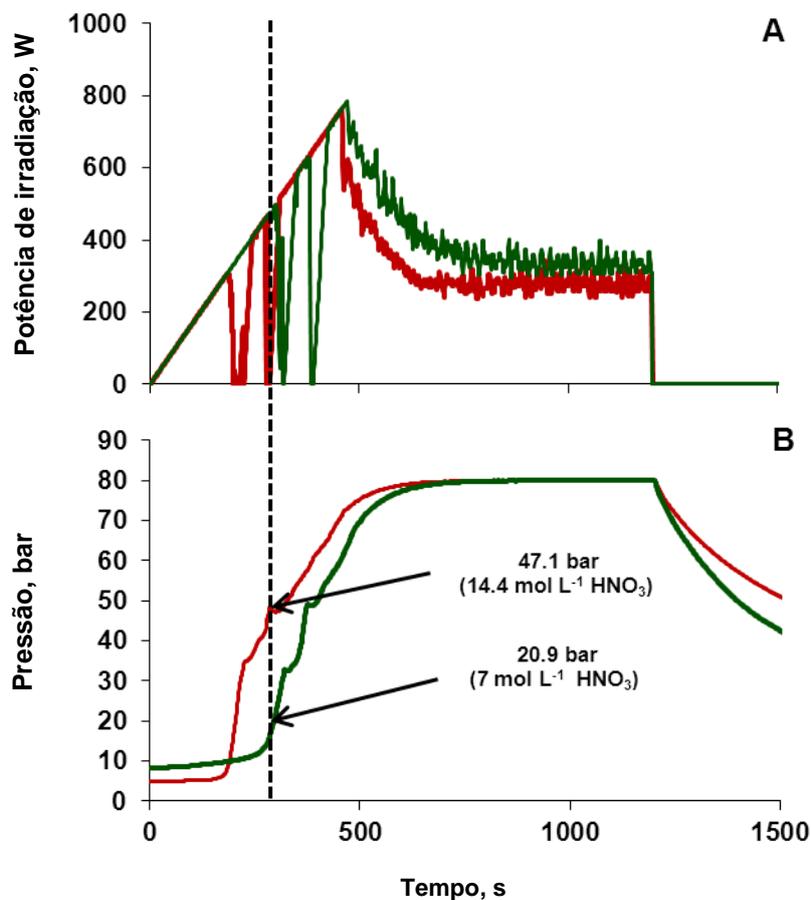


Figura 9. Gráficos de potência de irradiação (A) e pressão interna dos frascos (B) para os métodos de decomposição empregando HNO_3 7 mol L^{-1} com 8 bar de O_2 (—) e HNO_3 $14,4 \text{ mol L}^{-1}$ sem pressão de O_2 (—).

Os resultados de RCC podem ser explicados pela grande diferença na pressão interna dos frascos no mesmo instante de tempo, como indicado na Figura 9-B. Como justificado anteriormente, quando há um aumento súbito de pressão, o equipamento por medida de segurança, cessa a irradiação das micro-ondas (Figura 9-A), provocando uma diferença entre as temperaturas máximas de cada método, uma vez que o método com HNO_3 $14,4 \text{ mol L}^{-1}$ apresentou um tempo maior de interrupção da radiação micro-ondas incidida na solução. Com isso, para o método utilizando-se HNO_3 7 mol L^{-1} com frascos pressurizados a 8 bar de O_2 , a temperatura máxima atingida foi de $205 \text{ }^\circ\text{C}$. Por outro lado, no método empregando HNO_3 $14,4 \text{ mol L}^{-1}$ sem utilização de reagente auxiliar, a temperatura máxima foi de $164 \text{ }^\circ\text{C}$. Neste sentido, essa diferença de, aproximadamente, $40 \text{ }^\circ\text{C}$ influenciou nos valores obtidos para RCC, uma vez que a temperatura é um dos fatores

preponderantes para a eficiência de decomposição.⁹ Assim, esse estudo corrobora para a utilização do método proposto nas condições de decomposição de 1500 mg de amostra empregando HNO_3 7 mol L^{-1} com frascos pressurizados a 8 bar de O_2 .

4.2.3.5 Determinação de As, Cd e Pb por GF AAS e ICP-MS após a decomposição assistida por radiação micro-ondas utilizando HNO_3 diluído e O_2 como reagente auxiliar

Após as avaliações feitas para o método MAWD empregando HNO_3 diluído com O_2 como reagente auxiliar, foram determinados As, Cd e Pb por GF AAS e ICP-MS em erva-mate. Para a determinação por GF AAS, foram utilizadas as condições de pirólise e atomização otimizadas com o método de decomposição por via úmida em sistema aberto por aquecimento convencional. O perfil dos sinais de absorvância e do fundo para Cd e Pb obtidos nos digeridos deste método, se mostraram similares ao perfil dos sinais da Figura 4. Na Tabela 13 estão expressos os valores para As, Cd e Pb determinados nos digeridos pelo método proposto por GF AAS e ICP-MS.

Não foi possível determinar As por GF AAS nas amostras de erva-mate utilizando este método devido à baixa concentração deste elemento na amostra. Porém, o LOQ obtido para As por GF AAS, foi inferior ao permitido pela legislação. Por outro lado, os resultados para Cd e Pb, não apresentaram diferença significativa quando comparados com o método de referência (teste *t-Student* com 95% de confiança). Para a determinação por ICP-MS, os valores obtidos para os três elementos, não apresentaram diferença significativa após comparação com o método de referência utilizado neste trabalho.

¹ Krug, F. J. Métodos de preparo de amostras: fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar, Seção Técnica de Biblioteca - CENA/USP, Piracicaba, 2010, pp. 340.

Tabela 13. Resultados para As, Cd e Pb por GF AAS e ICP-MS pelo método por MAWD empregando HNO_3 7 mol L^{-1} com frascos pressurizados a 8 bar de O_2 . Os valores descritos representam a média \pm desvio padrão, $n = 3$ e $\mu\text{g g}^{-1}$.

Amostras	Técnicas	Analitos		
		As	Cd	Pb
Erva-mate A	GF AAS	< 0,20	0,324 \pm 0,020	0,265 \pm 0,015
	ICP-MS	0,042 \pm 0,004	0,321 \pm 0,010	0,262 \pm 0,023
Erva-mate B	GF AAS	< 0,20	0,221 \pm 0,001	0,805 \pm 0,018
	ICP-MS	0,069 \pm 0,004	0,229 \pm 0,005	0,771 \pm 0,027
Erva-mate C	GF AAS	< 0,20	0,273 \pm 0,006	0,495 \pm 0,043
	ICP-MS	0,055 \pm 0,005	0,277 \pm 0,008	0,513 \pm 0,017
Erva-mate D	GF AAS	< 0,20	0,389 \pm 0,034	0,217 \pm 0,008
	ICP-MS	0,047 \pm 0,003	0,412 \pm 0,021	0,224 \pm 0,007
Erva-mate E	GF AAS	< 0,20	0,397 \pm 0,012	0,204 \pm 0,014
	ICP-MS	0,028 \pm 0,003	0,407 \pm 0,008	0,193 \pm 0,008

Os LOQs obtidos para esse método pela técnica de GF AAS foram menores que os valores máximos permitidos pela legislação, sendo 200 ng g^{-1} para As, 9 ng g^{-1} para Cd e 184 ng g^{-1} para Pb. Por outro lado, para a técnica de ICP-MS os LOQs para este método foram ainda menores, sendo de 4,0 ng g^{-1} para As, 1,0 ng g^{-1} para Cd e 1,0 ng g^{-1} para Pb.

4.2.3.6 Estudos de interferências para As, Cd e Pb por ICP-MS

Em função de ter sido utilizada uma elevada massa de amostra (1500 mg) no método de MAWD empregando 6 mL de HNO_3 7 mol L^{-1} e 8 bar de O_2 no sistema, houve a necessidade de avaliar os efeitos de matriz na etapa determinação de As, Cd e Pb por ICP-MS. O primeiro teste foi baseado em uma série de diluições (duas, cinco, dez, vinte, cinquenta e cem vezes) dos digeridos para a posterior determinação de As, Cd e Pb por ICP-MS. Em outros testes foram avaliados o efeito causado na concentração dos analitos pelo aumento da concentração de C, Cl e K na amostra diluída 20 vezes. A utilização da solução diluída 20 vezes para as avaliações de C, Cl e K foi usada pelo fato de não apresentar interferência para nenhum dos analitos. Na Figura 10 são mostradas as avaliações de interferências e a influência dessas nas recuperações de As, Cd e Pb por ICP-MS.

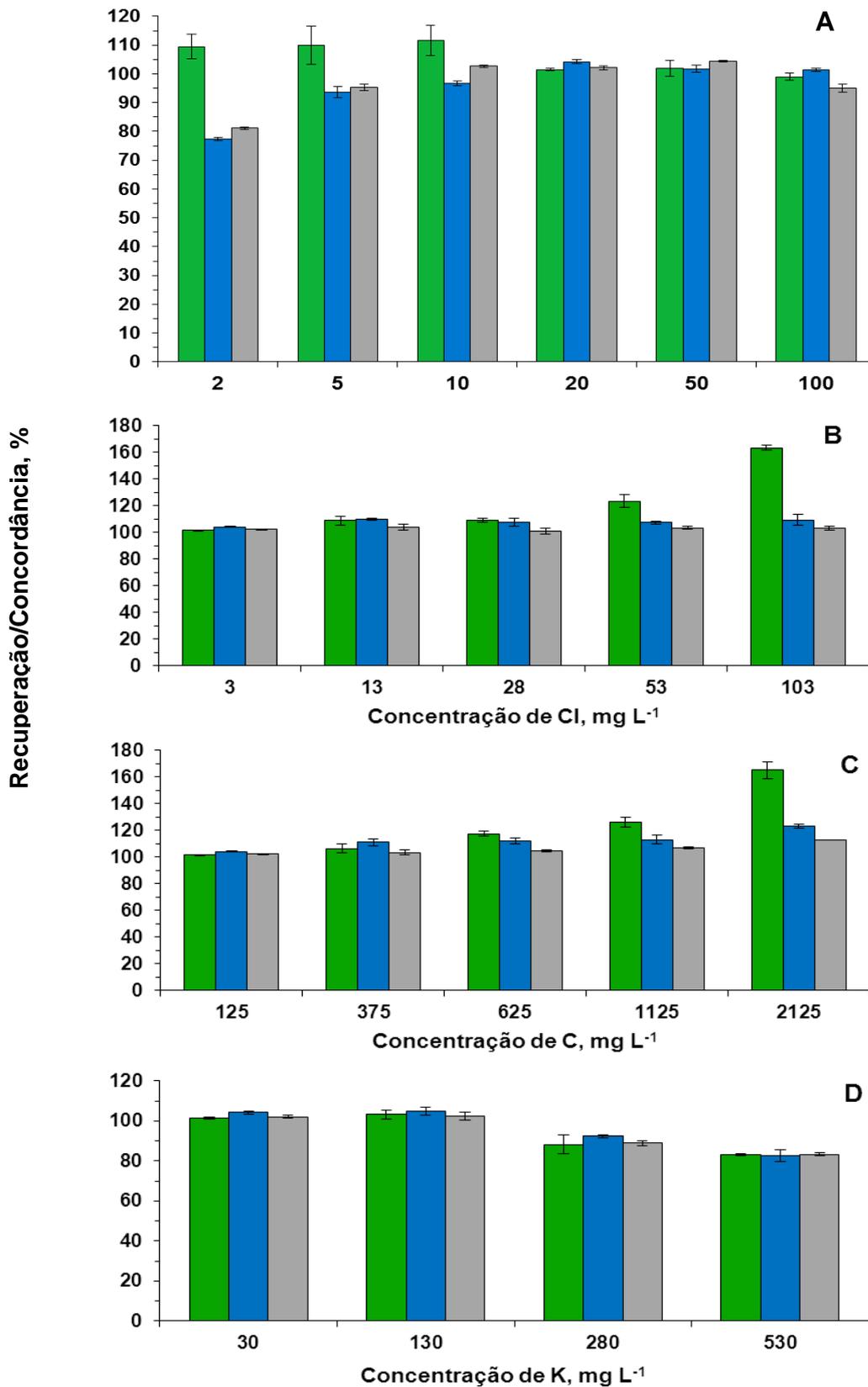


Figura 10. Testes de interferência para ⁷⁵As (■), ¹¹¹Cd (■) e ²⁰⁶Pb (■) em ICP-MS na solução decomposta pelo método por MAWD empregando HNO₃ 7 mol L⁻¹ e 8 bar de O₂ no sistema. A) Teste de diluição da amostra; B) Teste de interferência de Cl; C) Teste de interferência de C; e D) Teste de interferência para K; n = 3.

Devido à baixa concentração de As nas amostras, para os testes de diluição foi necessária a adição de $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$ de As nas diluições de 20, 50 e 100 vezes. Na Figura 10-A é possível observar um aumento na recuperação de As de, aproximadamente, 109% para a diluição de duas vezes. Esse aumento da concentração de As pode ser explicado pela elevada concentração de Cl em plantas (na ordem de mg g^{-1})⁴⁹, este elemento quando em elevadas concentrações pode causar uma interferência isobárica pela formação da molécula $^{40}\text{Ar}^{+35}\text{Cl}^+$ de mesma m/z que o ^{75}As . Outra interferência que causa um aumento na concentração de As, é a presença de uma elevada concentração de C em solução. Neste sentido, pelo fato das soluções decompostas por este método apresentarem concentração de, aproximadamente, 2500 mg L^{-1} de C, este elemento também pode ser um dos principais responsáveis por esse efeito sinérgico na concentração de As por ICP-MS quando a solução foi diluída apenas duas vezes.³⁶ Deste modo, foram necessárias as avaliações dos efeitos da presença de C e Cl na etapa de determinação por ICP-MS.

Pode ser observada na Figura 10-B, a recuperação superestimada de As após a adição de concentrações crescentes de Cl. A partir desse estudo foi possível afirmar que, para concentrações de Cl menores que 28 mg L^{-1} , não houve interferência para As. Com isso, foi determinada a concentração de Cl por ICP-MS na amostra erva-mate "A" decompostas pelo método por MAWD empregando HNO_3 7 mol L^{-1} com 8 bar de O_2 no sistema, sendo o valor obtido de $58,1 \pm 2,1 \text{ mg L}^{-1}$ de Cl. Em virtude desse valor, pode-se afirmar que o acréscimo causado na recuperação de As, não provém desta interferência. Assim, a influência da concentração de C em solução foi avaliada, de modo a compreender o acréscimo na recuperação de arsênio para quando foi utilizadas as diluições de 2, 5 e 10 vezes.

⁴⁹ Tagami, K. *et al. Analytica Chimica Acta* 570 (2006) 88-92.

³⁶ Montaser, A., *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*, Wiley-VCH, New York, 1998, pp. 964.

Na Figura 10-C, consta a avaliação da adição de diferentes concentrações de C para a recuperação de As, Cd e Pb. A partir desse estudo, foi verificado que concentração acima de 625 mg L^{-1} de C, a recuperação de As sofre um acréscimo considerável (cerca de 18%). Portanto, pode-se afirmar, que os resultados superestimados de recuperação para As (Figura 10-A), quando a solução foi diluída duas vezes foi devido à presença da concentração de C, uma vez que para este método a concentração de C em solução foi de aproximadamente 2500 mg L^{-1} .

A fim de elucidar as supressões das recuperações de Cd e Pb, foi feita uma busca nos principais elementos interferentes que poderiam causar supressão de sinal para estes elementos. Neste sentido, o K foi selecionado para o estudo devido a ser um possível interferente e por apresentar uma concentração de, aproximadamente, 650 mg L^{-1} (Tabela 19 na seção 7.2 nos Anexos) nas amostras. Com isso, foi feito um estudo de interferência da influência da concentração de K na recuperação de As, Cd e Pb por ICP-MS (Figura 10-D). Em virtude desse estudo, verificou-se que a partir de 130 mg L^{-1} de K, há um efeito antagônico nas recuperações de As, Cd e Pb. Assim, com a concentração conhecida de K na amostra, pode-se afirmar que a solução quando diluída duas vezes apresenta problemas de interferências na etapa de determinação por ICP-MS.

Esses estudos, possibilitaram verificar possíveis interferências na etapa de quantificação para métodos que utilizam elevada massa de erva-mate na determinação de As, Cd e Pb por ICP-MS. Neste sentido, a decomposição empregando o método MAWD com 6 mL de HNO_3 7 mol L^{-1} e 8 bar de O_2 , mostrou-se eficiente, não sofrendo interferência na etapa de determinação quando as soluções decompostas são diluídas cinco vezes para a determinação de As, Cd e Pb por ICP-MS.

4.2.3.7 Avaliação da exatidão do método MAWD utilizando HNO_3 diluído e O_2 como reagente auxiliar

Como forma de avaliar a exatidão deste método, foram decompostos 500 mg dos CRMs NIST 1575a e NIST 1547 empregando 6 mL de HNO_3 7 mol L^{-1} com frascos pressurizados com 8 bar de O_2 . Os valores obtidos para As, Cd e Pb por ICP-MS estão descritos na Tabela 14.

Tabela 14. Resultados obtidos para os CRMs NIST 1575a e NIST 1547 após decomposição de 500 mg por MAWD usando HNO₃ diluído com O₂. Os valores representam a média ± desvio padrão, n = 3, µg g⁻¹.

CRMs	Método	Analitos		
		⁷⁵ As	¹¹¹ Cd	²⁰⁶ Pb
NIST 1575a	Referência	0,039 ± 0,002	0,233 ± 0,004	0,167 ± 0,015
	Obtido	0,039 ± 0,001	0,219 ± 0,009	0,167 ± 0,006
NIST 1547	Referência	0,060 ± 0,018	0,026 ± 0,003	0,87 ± 0,03
	Obtido	0,090 ± 0,015	0,023 ± 0,002	0,79 ± 0,02

Para o CRM NIST 1575a, os valores obtidos para os elementos As, Cd e Pb não apresentaram diferença significativa (teste *t-Student* com 95% de confiança) com os valores certificados. Entretanto, para o CRM NIST 1547 o valor obtido para As apresentou diferença estatística (teste *t-Student* com 95% de confiança) quando comparado com o valor certificado. Quando se observa os outros valores obtidos para As pelo método de referência e por MAWD empregando HNO₃ diluído com O₂, ambos os valores foram superiores ao valor certificado. Contudo, esses valores são similares aos obtidos por *Sucharová e Suchara*.⁵⁰, que utilizaram 5 métodos por MAWD empregando diferentes reagentes para a decomposição como HNO₃, HF e H₂O₂ para a decomposição do CRM NIST 1547 e todos os valores obtidos no artigo apresentaram recuperações superiores ao valor certificado e similares ao valor obtido neste método.

Entretanto, mesmo com esse valor obtido pelo método MAWD com HNO₃ diluído sendo superior ao valor certificado para As, quando foi comparado entre eles não apresentaram diferença significativa (teste *t-Student* com 95% de confiança). A partir das avaliações feitas para este método, pode-se afirmar ser um método eficaz para a determinação de As, Cd e Pb por GF AAS e ICP-MS em erva-mate.

⁵⁰ Sucharová, J. et al. *Analytica Chimica Acta* 576 (2006) 163-176.

4.2.4 Extração assistida por ultrassom

A avaliação do método de UAE teve como objetivo melhorar a frequência analítica e utilizar uma elevada massa de amostra. Para as extrações utilizando banho ultrassônico, a frequência escolhida foi de 35 KHz, a amplitude de 100% e a potência nominal foi de 200 W.

4.2.4.1 Mapeamento e escolha das posições para extração no banho ultrassônico

As ondas ultrassônicas possuem uma interação entre elas (destrutivas e construtivas), isto causa uma heterogeneidade em sua propagação. Portanto, foi necessária a avaliação das posições de maior incidência das ondas ultrassônicas no banho de ultrassom. Este experimento consistiu em utilizar uma folha de papel alumínio para verificar tais posições. A folha foi inserida dentro da cuba do banho com água (profundidade 10 cm), em sua capacidade máxima (8,6 L) foi incidido ondas ultrassônicas por 30 s com propriedades descritas no item 4.2.4. O resultado obtido pode ser observado na Figura 11-A, o qual contém a imagem de duas extrações no banho utilizado (Figura 11-B).

Na Figura 11-A, podem ser observado grandes orifícios na folha, esses foram os locais de maior intensidade de incidência das ondas ultrassônicas, sendo, as posições mais indicadas para posicionar os frascos que serão submetidos as ondas ultrassônicas para se fazer as extrações nesse banho de ultrassom. As posições escolhidas estão indicadas na Figura 11-A, sendo elas (10 cm, 16 cm) e (20 cm, 16 cm).

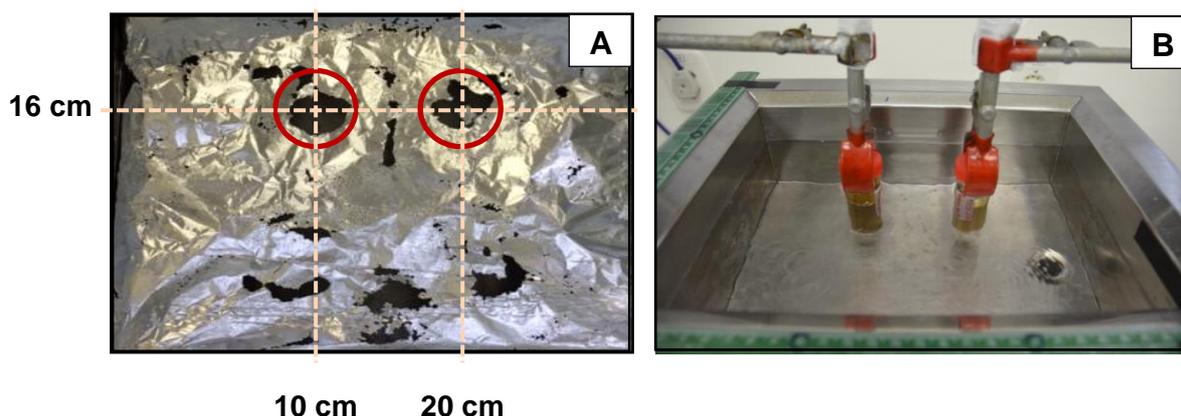


Figura 11. Imagem da folha de papel alumínio (A) depois de submetida a ondas ultrassônicas e o banho ultrassônico com duas extrações (B).

4.2.4.2 Avaliação de extração assistida por ultrassom para recuperação de As, Cd e Pb

Inicialmente, foram avaliadas H_2O e HNO_3 3 mol L^{-1} como soluções extratoras. Para os testes iniciais da UAE, foram utilizadas massa de erva-mate de cerca de 2000 mg, tempo de extração de 10 min e temperatura de $65 \text{ }^\circ\text{C}$. O volume de solução extratora foi mantido constante em todos os testes subsequentes (30 mL). Na Figura 12 é possível observar as concordâncias para As, Cd e Pb com determinação por ICP-MS nas extrações com H_2O e HNO_3 3 mol L^{-1} .

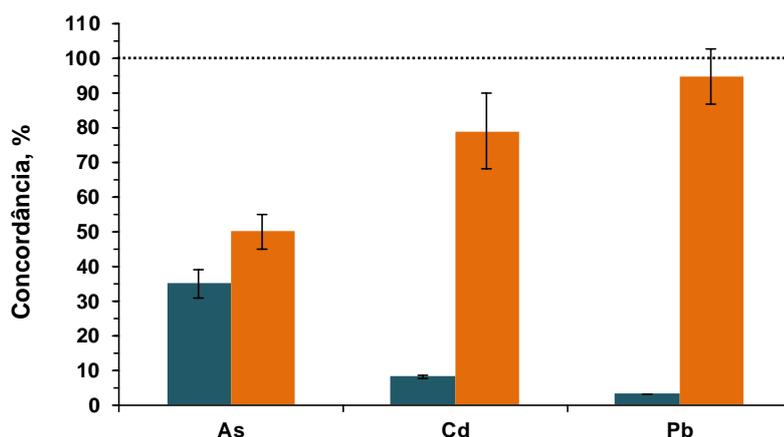


Figura 12. Recuperação de As, Cd e Pb por ICP-MS para UAE com H_2O (■) e HNO_3 3 mol L^{-1} (■) como soluções extratoras nas condições de 2000 mg, 10 min e $65 \text{ }^\circ\text{C}$. A linha tracejada representa os valores obtidos pelo método de referência, $n = 4$.

Pode ser observado na Figura 12, que HNO_3 3 mol L^{-1} foi a solução extratora mais eficiente quando comparado com a H_2O . A extração empregando a água como

solução extratora obteve uma recuperação menor que 10% para os elementos Cd e Pb. Por outro lado, a utilização de HNO_3 3 mol L^{-1} , permitiu melhores recuperações para As e Cd (cerca de 50 e 80%, respectivamente). Entretanto, o uso desta solução resultou na formação de uma elevada quantidade de espuma, podendo prejudicar o processo de extração, devido à separação do sólido da fase líquida. Neste sentido, o uso de concentrações mais elevadas de HNO_3 poderia ocasionar a formação de uma quantidade maior de espuma. Assim, foi optado em manter a solução extratora nessa concentração e avaliar outros parâmetros. Em função dessa elevada formação de espuma, foram utilizados frascos de vidros maiores que os frascos de polipropileno, evitando o vazamento dessa espuma do frasco. Além disto, foi avaliado o tempo de extração, por entender que o tempo de 10 min poderia ser insuficiente para a extração dos analitos da amostra.

Portanto, os tempos de extração avaliados foram 10, 20 e 30 min nas condições de 2000 mg de massa de amostra, 30 mL de HNO_3 3 mol L^{-1} e 65 °C em frasco de vidro. As recuperações de As, Cd e Pb para avaliação do tempo de extração podem ser observadas na Figura 13.

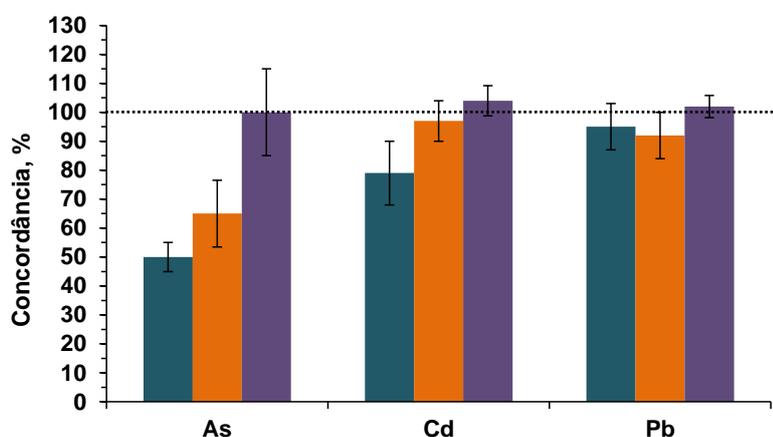


Figura 13. Gráfico de recuperação de As, Cd e Pb para diferentes tempos de extração 10 min (■), 20 min (■) e 30 min (■) nas condições de 2000 mg, HNO_3 3 mol L^{-1} , temperatura de 65 °C e frascos de vidro em banho ultrassônico. A linha tracejada representa os valores obtidos pelo método de referência, $n = 3$.

É possível observar que o aumento do tempo de extração proporcionou a melhora da eficiência de extração para os analitos avaliados. A recuperação de As, quando utilizados 30 min de extração foi superior a 80%. Contudo, este aumento

não foi suficiente para uma extração total deste elemento da amostra. É provável que a utilização de elevada massa de amostra, esteja atuando como um fator antagônico na extração de As. Já para os analitos Cd e Pb na condição de 30 min de tempo de extração, obteve-se uma recuperação maior que a condição utilizando 10 min de tempo de extração. Em virtude disso, optou-se pelo tempo de 30 min como condição de tempo ideal. Cabe ressaltar que foi feito um teste de extração na temperatura limite do banho (80 °C, sendo nas condições de HNO_3 3 mol L^{-1} , 2000 mg de massa e 30 min. Porém, as recuperações para os analitos não apresentaram diferença estatística (teste *t-Student* com 95% de confiança) com o teste nas mesmas condições com a temperatura em 65°C.

Neste sentido, a fim de se conseguir uma melhora na recuperação de As, foi feito a avaliação da massa para a condição de 30 min de extração. As massas avaliadas foram 500, 1000 e 1500 mg de erva-mate. Na Figura 14 são mostradas as recuperações de As, Cd e Pb para a avaliação da massa para o método de UAE.

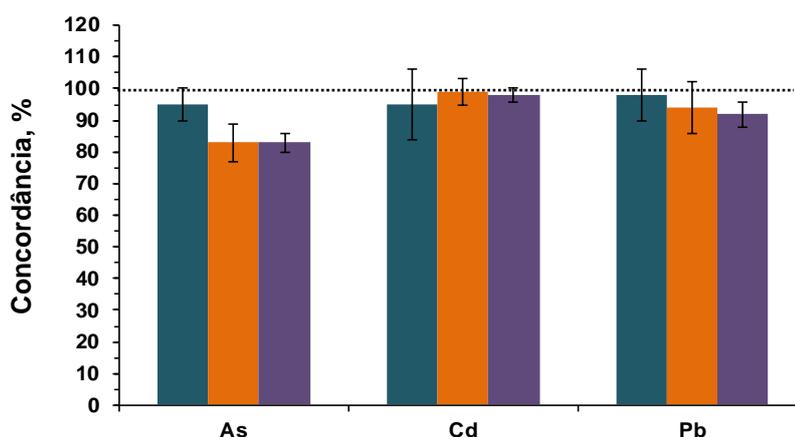


Figura 14. Gráfico de recuperação de As, Cd e Pb para diferentes massas avaliadas 500 mg (■), 1000 mg (■) e 1500 mg (■) nas condições HNO_3 3 mol L^{-1} , 30 min, temperatura de 65 °C e frascos de vidro em banho ultrassônico. A linha tracejada representa os valores obtidos pelo método de referência, $n = 3$.

Para Cd e Pb, a recuperação manteve-se constante para os testes com massas maiores (cerca de 95%). Quando se avaliou a redução da massa de amostra, foi possível observar uma melhora significativa na recuperação de As, de, aproximadamente, 95% na condição usando 500 mg de erva-mate. Com isto pode-se afirmar que o aumento de massa dificulta a extração deste analito. Assim, escolheu a condição com 500 mg de amostra, HNO_3 3 mol L^{-1} , 30 min e 65 °C, como condição final para a extração de As, Cd e Pb por UAE. Uma observação importante

é que quando se utiliza a massa de 500 mg de amostra, a formação de espuma no frasco não é tão acentuada. Assim, para as extrações seguintes, os frascos de vidro foram substituídos por frascos de polipropileno, em virtude da diminuição da formação de espuma e porque quando se utilizou os frascos de vidro as concentrações nos brancos do método estavam um pouco elevadas.

4.2.4.3 Determinação de As, Cd e Pb por ICP-MS após extração assistida por ultrassom

Utilizando a condição otimizada para UAE, foram feitas extrações das amostras para a posterior determinação de As, Cd e Pb por ICP-MS. Os resultados obtidos estão descritos na Tabela 15.

Tabela 15. Resultados comparados para As, Cd e Pb pelos método de referência e método de extração assistida por ultrassom por ICP-MS. Os valores descritos representam a média \pm desvio padrão, $n = 3$, $\mu\text{g g}^{-1}$. Os valores entre parênteses representa a recuperação em %.

Amostras	Analitos		
	⁷⁵ As	¹¹¹ Cd	²⁰⁶ Pb
Erva-mate A	0,036 \pm 0,002 (90)	0,332 \pm 0,012 (100)	0,250 \pm 0,014 (97)
Erva-mate B	0,052 \pm 0,006 (71)	0,220 \pm 0,007 (99)	0,769 \pm 0,018 (100)
Erva-mate C	0,041 \pm 0,002 (71)	0,292 \pm 0,012 (98)	0,506 \pm 0,013 (101)
Erva-mate D	0,042 \pm 0,005 (86)	0,439 \pm 0,016 (105)	0,237 \pm 0,012 (106)
Erva-mate E	0,028 \pm 0,003 (97)	0,407 \pm 0,007 (102)	0,200 \pm 0,012 (99)

Os valores obtidos não apresentaram diferença significativa (teste *t-Student* com 95% de confiança) quando comparados com os valores obtidos pelo método de referência para os elementos Cd e Pb nas ervas-mate utilizadas neste método. Novamente é possível observar, que as amostras “D” e “E” apresentaram valores superiores que o permitido pela legislação para Cd. E a erva-mate “B”, apresentou valor para Pb maior que o permitido pela legislação. Entretanto, as amostras “B” e “C” apresentaram diferença significativa (teste *t-Student* com 95% de confiança) para As, quando comparado com o valor obtido no método de referência. Essa diferença pode ser explicada pela heterogeneidade do diâmetro das partículas da amostra. Assim, como há uma baixa concentração de As, a variação no tamanho de

partículas pode influenciar na recuperação desse analito, visto que as partículas sólidas em solução ocasionam uma deformação na bolha de cavitação, alterando a energia dissipada no meio líquido.⁹

Devido a problemas de interferência para As, causados pela presença de C em solução na etapa de determinação por ICP-MS, foi determinado carbono em solução por ICP-OES para todas as extrações na condição otimizada. Os valores obtidos em solução foram similares (cerca de 4800 mg L⁻¹) entre as cinco amostras após o método de UAE, não apresentando diferença estatística (teste *t-Student* com 95% de confiança) quando comparadas entre elas. Porém, quando utilizado uma diluição mínima de 8 vezes não houveram problemas de interferência na etapa de determinação.

Para avaliação da exatidão do método foram feitas extrações para dois CRMs (NIST 1547 e NIST 1575a) na condição otimizada. Sendo que os valores obtidos para o NIST 1575a não apresentaram diferença estatística (teste *t-Student* com 95% de confiança) quando comparados com os valores de referência. Os valores são mostrados na Tabela 16.

Tabela 16. Resultados obtidos para os CRMs NIST 1575a e NIST 1547 por extração assistida por ultrassom. Os valores descritos representam a média \pm desvio padrão, n = 3, $\mu\text{g g}^{-1}$.

CRMs	Valores	Analitos		
		⁷⁵ As	¹¹¹ Cd	²⁰⁶ Pb
NIST 1575a	Certificado	0,039 \pm 0,002	0,233 \pm 0,004	0,167 \pm 0,015
	Obtido	0,041 \pm 0,001	0,222 \pm 0,009	0,154 \pm 0,013
NIST 1547	Certificado	0,060 \pm 0,018	0,026 \pm 0,003	0,87 \pm 0,03
	Obtido	0,098 \pm 0,010	0,025 \pm 0,001	0,83 \pm 0,02

Para o CRM NIST 1575a, os valores obtidos para os elementos As, Cd e Pb não apresentaram diferença significativa (teste *t-Student* com 95% de confiança) quando comparados com os valores certificados. Para o CRM NIST 1547 os resultados obtidos para Cd e Pb não apresentaram diferença estatística (teste *t-Student* com 95% de confiança) quando comparados com os resultados certificados.

4.2.5 Comparação de limites de quantificação obtidos pelos três métodos com a legislação

Os três métodos propostos tiveram como objetivo principal a obtenção de LOQs menores que o limite permitido pela legislação, além de elevada frequência analítica. Na Tabela 17 é possível visualizar os valores de LOQs para os métodos propostos e o método de referência pela técnica de ICP-MS.

Tabela 17. Limites de quantificação para os As, Cd e Pb para os métodos que utilizaram a técnica de ICP-MS para a etapa de quantificação. Os valores descritos estão na unidade em ng g^{-1} .

Métodos	Analitos		
	As	Cd	Pb
AOAC 999.10.2005	5,0	1,2	1,0
MAWD com HNO_3 diluído	4,0	1,0	1,0
UAE	10	1,5	3,0

Todos os valores de LOQs para ambos os métodos foram menores que o limite permitido pela legislação ($0,60 \mu\text{g g}^{-1}$ para As, $0,40 \mu\text{g g}^{-1}$ para Cd e $0,60 \mu\text{g g}^{-1}$ para Pb). Assim, os métodos são adequados para a decomposição ou extração para a posterior determinação de As, Cd e Pb, devido aos valores de LOQs serem menores que a legislação vigente. Porém, quando comparados os valores de LOQs dos métodos entre si percebe-se uma diferença entres eles. Quando utilizado o método de MAWD empregando HNO_3 diluído com os frascos pressurizados com O_2 , foram obtidos os menores valores de LOQs, por ser o método de decomposição que possibilitou usar a maior quantidade de massa de amostra. Por outro lado, o método de extração assistida por ultrassom apresentou valores de LOQs maiores que os do método por MAWD empregando HNO_3 diluído com os frascos pressurizados com O_2 para Cd e Pb. Para As o valor foi o que obteve a maior diferença entre os LOQs (10 ng g^{-1}). Essa diferença deve-se pela menor quantidade de massa de amostra utilizada, sendo inferior ao método empregando HNO_3 diluído.

Para o método de decomposição por via úmida em sistema aberto por bloco digestor utilizando a técnica de GF AAS, obteve valores de LOQs menores quando comparado com a legislação vigente. Os valores de LOQs para As, Cd e Pb foram de 255, 201 e 89 ng g^{-1} , respectivamente. Quando comparados esses valores, com

os LOQs obtidos pela técnica de GF AAS para o método de decomposição empregando HNO₃ diluído com o uso de O₂ como reagente auxiliar, mostraram-se superiores, sendo os valores de LOQs do método empregando HNO₃ diluído para As, Cd e Pb cerca de 195, 184 e 9 ng g⁻¹ respectivamente.

5. CONCLUSÕES

De um modo geral, os três métodos propostos neste trabalho são alternativas viáveis para a etapa de decomposição/extração de erva-mate para a posterior determinação de As, Cd e Pb por GF AAS e/ou ICP-MS. Entretanto, cada método apresenta suas peculiaridades. O método de decomposição por via úmida utilizando bloco digestor em sistema aberto apresenta como maior vantagem a elevada frequência analítica, em função de se utilizar um bloco digestor com capacidade de 42 decomposições simultâneas e não possuir uma etapa de pré-digestão, diferente do que o ocorre no método de decomposição por via úmida utilizando bloco digestor em sistema fechado que possui esta etapa de pré-digestão. A utilização de 1000 mg de amostra para a decomposição por este método é uma alternativa viável, principalmente quando aliada a técnica de GF AAS para a determinação de As, Cd e Pb, devido a este método não ter apresentado uma boa eficiência de decomposição. Assim, a utilização da GF AAS é uma vantagem para o método de decomposição por via úmida em sistema aberto utilizando aquecimento convencional, por não possuir uma eficiência de decomposição elevada.

O método por MAWD empregando HNO_3 diluído com o uso de O_2 como reagente auxiliar possui, como principal vantagem, a decomposição de até 1500 mg de massa de erva-mate empregando HNO_3 na concentração de 7 mol L^{-1} com os frascos pressurizados com 8 bar de O_2 . A utilização de uma elevada massa de amostra ocasionou o aumento da concentração de possíveis interferentes como C, Cl e K na etapa de determinação por ICP-MS. Entretanto, pelo estudo de interferências feito neste trabalho, foi averiguado que o método é robusto até concentrações de 625 mg L^{-1} de C, 28 mg L^{-1} de Cl e 130 mg L^{-1} de K em solução dos digeridos, não acarretando interferências na etapa de determinação de As, Cd e Pb por ICP-MS. Além disso, devido a essa elevada massa de amostra foi possível utilizar a técnica de GF AAS para a determinação dos analitos (As, Cd e Pb), assim, quando utiliza-se esta técnica as interferências de C, Cl e K não foram observadas. Com isso, em termos de eficiência de decomposição o método por MAWD empregando HNO_3 7 mol L^{-1} com 8 bar de O_2 como reagente auxiliar, mostrou-se

extremamente eficiente, pois quando utilizada uma massa de 1500 mg, foi obtida boa eficiência de decomposição (~ 5% de RCC).

O método de UAE possui como principais vantagens o emprego de baixa concentração de reagentes (HNO_3 3 mol L^{-1}) e uma elevada frequência analítica, por não necessitar de uma etapa de descontaminação dos frascos utilizados no processo de extração. Entretanto, a concentração de C determinada nas soluções provenientes das extrações foi elevada, causando problemas de interferências principalmente para As. Neste sentido, na etapa de determinação foi necessário a diluição dos extratos em 8 vezes, o que favoreceu a redução de interferências de C na técnica de ICP-MS. Contudo, o uso dos extratos diluídos, aliados a baixa massa utilizada (500 mg) quando comparado aos outros dois métodos são uma grande desvantagem em relação aos outros dois métodos propostos neste trabalho.

Portanto, não é possível afirmar, qual entre os três métodos é o melhor devido a cada um possuir suas vantagens e desvantagens, assim, pode-se apenas afirmar que os três métodos possuem exatidão e precisão suficientes para a decomposição/extração de erva-mate para a posterior determinação de As, Cd e Pb por GF AAS e ICP-MS, em concentrações menores que o permitido pela legislação. Todos possuem significativas vantagens e neste sentido, a utilização de um desses métodos dependerá da disponibilidade dos equipamentos para os procedimentos dos mesmos.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Heck, C. I., De Mejia, E. G., Yerba Mate tea (*Ilex paraguariensis*): A comprehensive review on chemistry, health implications, and technological considerations, *Journal of Food Science* 72 (2007) R138-R151.
2. Lopez-Cordoba, A., Deladino, L., Agudelo-Mesa, L., Martino, M., Yerba mate antioxidant powders obtained by co-crystallization: Stability during storage, *Journal of Food Engineering* 124 (2014) 158-165.
3. Marcelo, M. C. A., Martins, C. A., Pozebon, D., Dressler, V. L., Ferrão, M. F., Classification of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) according to the country of origin based on element concentrations, *Microchemical Journal* 117 (2014) 164-171.
4. Oga, S., Fundamentos de toxicologia, 2ª ed., Atheneu, São Paulo, 2003, pp. 474.
5. Damodaran, S., Parkin, K. L., Fennema, O. R., Química de Alimentos de Fennema, 4ª ed., Artmed, Porto Alegre, 2010, pp. 900.
6. MERCOSUL, Regulamento técnico mercosul sobre limites máximos de contaminantes inorgânicos em alimentos (REVOGAÇÃO DAS RES. GMC Nº 102/94 e Nº 35/96), MERCOSUL (Ed.) Nº 12/11, 2013, pp. 1-18.
7. Arruda, M. A. Z., Trends in Sample Preparation, Nova Science Publishers, 2007, pp. 304.
8. Flores, E. M. M., Microwave-Assisted Sample Preparation for Trace Element Determination, Elsevier, Oxford, 2014, pp. 400.
9. Krug, F. J., Métodos de preparo de amostras: fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar, Seção Técnica de Biblioteca - CENA/USP, Piracicaba, 2010, pp. 340.
10. Castro, J. T., Santos, E. C., Santos, W. P. C., Costa, L. M., Korn, M., Nóbrega, J. A., Korn, M. G. A., A critical evaluation of digestion procedures for coffee samples using diluted nitric acid in closed vessels for inductively coupled plasma optical emission spectrometry, *Talanta* 78 (2009) 1378-1382.

11. Bizzi, C. A., Flores, E. M. M., Barin, J. S., Garcia, E. E., Nóbrega, J. A., Understanding the process of microwave-assisted digestion combining diluted nitric acid and oxygen as auxiliary reagent, *Microchemical Journal* 99 (2011) 193-196.
12. Bizzi, C. A., Barin, J. S., Müller, E. I., Schmidt, L., Nóbrega, J. A., Flores, E. M. M., Evaluation of oxygen pressurized microwave-assisted digestion of botanical materials using diluted nitric acid, *Talanta* 83 (2011) 1324-1328.
13. Reitz, R., Klein, R. M., Reis, A., Projeto Madeira de Santa Catarina, HBR, Itajaí - Santa Catarina, 1978, pp. 320.
14. SEAB - Produtos Florestais - Erva-mate. Disponível em: http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Prognosticos/erva_mate_2014_2015.pdf Acessado em: cited 2016 08-julho-2016.
15. IBGE - Tabela 290 - Valor da produção - Erva-Mate. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/pesquisas/pevs/> Acessado em: cited 2016 08-julho-2016.
16. Filho, J. C. F., Cultura e preparo da erva-mate, Serviço de Informação Agrícola, Ministério da Agricultura, 1948, pp. 53.
17. Florestal, I. B. D., Erva-mate: Origem-cultura-industrialização, Porto Alegre, 1976, pp. 31.
18. Bracesco, N., Sanchez, A. G., Contreras, V., Menini, T., Gugliucci, A., Recent advances on *Ilex paraguariensis* research: Minireview, *Journal of Ethnopharmacology* 136 (2011) 378-384.
19. Stoeppler, M., Sampling and sample preparation: practical guide for analytical chemists, Springer, Berlin, Germany, 1997, pp. 201.
20. Mester, Z., Sturgeon, R., Sample Preparation for Trace Element Analysis, Elsevier, Amsterdam, Netherlands, 2003, pp. 1286.
21. AOAC -. Lead, cadmium, zinc, copper and iron in foods. Atomic absorption spectrophotometry after microwave digestion, AOAC (Ed.), United States of American, 2002, pp. 4.
22. Bizzi, C. A., Nóbrega, J. A., Barin, J. S., Oliveira, J. S. S., Schmidt, L., Mello, P. A., Flores, E. M. M., Effect of simultaneous cooling on microwave-assisted wet digestion of biological samples with diluted nitric acid and O₂ pressure, *Analytica Chimica Acta* 837 (2014) 16-22.

23. Barbosa, J. T. P., Santos, C. M. M., Peralva, V. N., Flores, E. M. M., Korn, M., Nóbrega, J. A., Korn, M. G. A., Microwave-assisted diluted acid digestion for trace elements analysis of edible soybean products, *Food Chemistry* 175 (2015) 212-217.
24. Gonzalez, M. H., Souza, G. B., Oliveira, R. V., Forato, L. A., Nóbrega, J. A., Nogueira, A. R., Microwave-assisted digestion procedures for biological samples with diluted nitric acid: identification of reaction products, *Talanta* 79 (2009) 396-401.
25. Cotton, F. A., Wilkinson, G., *Advances Inorganic Chemistry - A Comprehensive Text*, John Wiley & Sons, Canada, 1972, pp. 1145.
26. Bizzi, C. A., Emprego de oxigênio e peróxido de hidrogênio como auxiliares na decomposição de amostras biológicas por via úmida assistida por radiação micro-ondas, Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2012, pp. 144.
27. Mason, T. J., Lorimer, J. P., *Introduction to Applied Ultrasonics*, Applied Sonochemistry, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2003, pp. 1-24.
28. Capote, F. P., Castro, M. D. L., *Analytical Applications of Ultrasound*, Elsevier Science, Oxford, 2007, pp. 398.
29. Cheeke, J. D. N., *Fundamentals and Applications of Ultrasonic Waves*, CRC Press, Boca Raton, 2010, pp. 484.
30. Kredrinskii, V. K., The role of cavitation effects in the mechanisms of destruction and explosive processes, *Shock Waves* 7 (1997) 63-76.
31. Nascentes, C. C., Korn, M., Arruda, M. A. Z., A fast ultrasound-assisted extraction of Ca, Mg, Mn and Zn from vegetables, *Microchemical Journal* 69 (2001) 37-43.
32. Filgueiras, A. V., Capelo, J. L., Lavilla, I., Bendicho, C., Comparison of ultrasound-assisted extraction and microwave-assisted digestion for determination of magnesium, manganese and zinc in plant samples by flame atomic absorption spectrometry, *Talanta* 53 (2000) 433-441.
33. Matong, J. M., Nyaba, L., Nomngongo, P. N., Fractionation of trace elements in agricultural soils using ultrasound assisted sequential extraction prior to inductively coupled plasma mass spectrometric determination, *Chemosphere* 154 (2016) 249-257.

34. Krishna, M. V. B., Karunasagar, D., Robust ultrasound assisted extraction approach using dilute TMAH solutions for the speciation of mercury in fish and plant materials by cold vapour atomic absorption spectrometry (CVAAS), *Analytical Methods* 7 (2015) 1997-2005.
35. Priego-Capote, F., Luque de Castro, M. D., Analytical uses of ultrasound I. Sample preparation, *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* 23 (2004) 644-653.
36. Montaser, A., Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry, Wiley-VCH, New York, 1998, pp. 964.
37. Welz, B., Sperling, M., The Techniques of Atomic Absorption Spectrometry, Atomic Absorption Spectrometry, Wiley-VCH, Weinheim, Germany, 2007, pp. 335-475.
38. Burylin, M. Y., Specific features of the determination of arsenic in soils by electrothermal atomic absorption spectrometry with the injection of suspensions, *Journal of Analytical Chemistry* 70 (2015) 39-43.
39. Bakkali, K., Martos, N. R., Souhail, B., Ballesteros, E., Characterization of trace metals in vegetables by graphite furnace atomic absorption spectrometry after closed vessel microwave digestion, *Food Chemistry* 116 (2009) 590-594.
40. Andrade, C. K., Anjos, V. E., Felsner, M. L., Torres, Y. R., Quináia, S. P., Direct determination of Cd, Pb and Cr in honey by slurry sampling electrothermal atomic absorption spectrometry, *Food chemistry* 146 (2014) 166-173.
41. Bentlin, F. R. S., Pozebon, D., Mello, P. A., Flores, E. M. M., Determination of trace elements in paints by direct sampling graphite furnace atomic absorption spectrometry, *Analytica Chimica Acta* 602 (2007) 23-31.
42. Husáková, L., Černohorský, T., Šrámková, J., Vavrušová, L., Direct determination of arsenic in beer by electrothermal atomic absorption spectrometry with deuterium background correction (D2-ET-AAS), *Food Chemistry* 105 (2007) 286-292.
43. Herbert, C. G., Johnstone, R. A. W., Mass Spectrometry Basics, CRC Press, Boca Raton, 2002, pp. 474.
44. Kalra, Y. P., Handbook of reference methods for plant analysis, CRC Press, Boca Raton, 1998, pp. 287.
45. Instituto Adolfo Lutz, Métodos físico-químicos para análise de alimentos, 4ª ed., São Paulo, 2008, pp. 1020.

46. Reed, W. P., Standard Reference Material 1547 - Peach Leaves, NIST (Ed.) Certificate of Analysis, 1993.
47. Leclercq, A., Nonell, A., Torro, J. L. T., 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 II. Practical considerations, *Analytica Chimica Acta* 885 (2015) 57-91.
48. Stewart, II, Olesik, J. W., The effect of nitric acid concentration and nebulizer gas flow rates on aerosol properties and transport rates in inductively coupled plasma sample introduction, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 13 (1998) 1249-1256.
49. Tagami, K., Uchida, S., Hirai, I., Tsukada, H., Takeda, H., Determination of chlorine, bromine and iodine in plant samples by inductively coupled plasma-mass spectrometry after leaching with tetramethyl ammonium hydroxide under a mild temperature condition, *Analytica Chimica Acta* 570 (2006) 88-92.
50. Sucharová, J., Suchara, I., Determination of 36 elements in plant reference materials with different Si contents by inductively coupled plasma mass spectrometry: Comparison of microwave digestions assisted by three types of digestion mixtures, *Analytica Chimica Acta* 576 (2006) 163-176.

7.1 Decomposição por MAWD segundo método da AOAC 999.10.2005

As soluções coletadas das decomposições pelo método AOAC 999.10.2005 (conforme descrição da seção 3.5.3) foram utilizadas para a determinação de Ag, Al, Ca, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, P, S, Ti, V e Zn por ICP-OES. Na Tabela 18 estão mostradas os parâmetros operacionais utilizados para a determinação de metais e não-metais por ICP-OES.

Para a determinação de P por ICP-OES, foi feita uma curva de calibração (0,025 a 5 mg L⁻¹ em HNO₃ 5%), preparada a partir de uma solução de referência (1000 mg L⁻¹ em H₂O de H₃PO₄, Merck). Para a determinação de S por ICP-OES utilizou-se uma curva de calibração (0,25 a 10 mg L⁻¹ em HNO₃ 5%), preparada a partir de uma solução de referência monoelementar de S (1000 mg L⁻¹ em HNO₃ 5% de Na₂SO₄, Merck).

Tabela 18. Condições operacionais para determinação elementar por ICP-OES.

Parâmetro	ICP-OES
Potência do gerador de radiofrequência, W	1400
Vazão de argônio principal, L min ⁻¹	15
Vazão de argônio auxiliar, L min ⁻¹	0,2
Vazão de argônio do nebulizador, L min ⁻¹	0,7
Configuração de vista	Axial
Comprimento de onda espectral, nm	Ag 328,068, Al 396,153, Ca 317,933, Co 238,892, Cr 267,716, Cu 327,393, Fe 238,204, K 766,490, Mg 285,213, Mn 259,372, Na 589,592, Ni 231,604, P 213,617, S 181,975, Ti 334,940, V 290,880, Zn 213,857

7.2 Determinação de metais e não-metals por ICP-OES após decomposição segundo método AOAC 999.10.2005

As amostras de erva-mate foram caracterizadas quanto a concentração de metais e não-metals. Os resultados obtidos para a determinação de Ag, Al, Ca, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, P, S, Ti, V e Zn por ICP-OES, estão mostrados na Tabela 20.

É possível observar que os elementos Ca, K, Mg, Mn, P e S estão presentes em alta concentração nas amostras. Cabe destacar que há similaridade entre a concentração desses elementos para todas as amostras. Dentre todos os elementos determinados, pode-se destacar o K em alta concentração ($\sim 650 \text{ mg L}^{-1}$), o qual pode interferir na etapa de determinação, quando utiliza-se técnicas com plasma indutivamente acoplado para atomização e ionização dos analitos.³⁶

Tabela 19. Resultados da caracterização elementar nas 5 amostras de erva-mate pelo método da AOAC 999.10.2005 por ICP-OES. Os valores descritos representam a média \pm desvio padrão, $n = 3$, $\mu\text{g g}^{-1}$.

Elementos	Linhas de Emissão, nm	Erva-mate A	Erva-mate B	Erva-mate C	Erva-mate D	Erva-mate E
Ag	328,068^I	< 0,189	< 0,189	< 0,189	< 0,189	< 0,189
Al	396,153^I	475 \pm 24	715 \pm 20	499 \pm 8	478 \pm 5	324 \pm 8
Ca	317,933^{II}	7864 \pm 323	7803 \pm 145	6679 \pm 99	8487 \pm 128	7201 \pm 14
Co	238,892^{II}	< 0,381	< 0,381	< 0,381	< 0,381	< 0,381
Cr	267,716^{II}	1,84 \pm 0,08	1,89 \pm 0,12	2,12 \pm 0,21	1,95 \pm 0,14	1,43 \pm 0,04
Cu	327,393^I	11,1 \pm 0,5	11,5 \pm 0,3	10,3 \pm 1,24	11,5 \pm 0,2	10,5 \pm 0,1
Fe	238,204^{II}	247 \pm 14	218 \pm 4	335 \pm 13	370 \pm 3	251 \pm 18
K	766,490^I	12230 \pm 328	16025 \pm 520	11602 \pm 19	13635 \pm 1168	12244 \pm 469
Mg	285,213^I	5149 \pm 185	5709 \pm 138	5674 \pm 48	5391 \pm 437	4405 \pm 174
Mn	259,372^{II}	2254 \pm 90	1866 \pm 46	1374 \pm 26	1469 \pm 134	1528 \pm 51
Na	589,592^I	65,5 \pm 16,3	53,5 \pm 4,7	41,3 \pm 0,7	82,0 \pm 0,6	31,3 \pm 0,4
Ni	231,604^{II}	3,33 \pm 0,24	4,30 \pm 0,19	5,10 \pm 0,39	4,16 \pm 0,01	4,13 \pm 0,20
P	213,617^I	996 \pm 56	865 \pm 3	963 \pm 31	1267 \pm 29	1002 \pm 73
S	181,975^I	1208 \pm 45	1391 \pm 41	1169 \pm 28	1141 \pm 50	1141 \pm 9
Ti	334,940^{II}	15,1 \pm 0,2	7,82 \pm 0,53	16,6 \pm 1,2	23,0 \pm 0,3	10,8 \pm 1,5
V	290,880^{II}	1,93 \pm 0,13	1,92 \pm 0,02	3,04 \pm 0,07	2,53 \pm 0,09	2,90 \pm 0,29
Zn	213,857^I	56,2 \pm 2,0	54,0 \pm 2,6	57,6 \pm 1,6	74,6 \pm 0,5	87,5 \pm 2,1

I – Emissão atômica e II – Emissão Iônica