UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Mirela de Jesus Santos

Procedimentos analíticos para determinação de cádmio em amostras de cenouras utilizando espectrometria de absorção atômica com forno de grafite

Jequié - BA
2016

MIRELA DE JESUS SANTOS

Procedimentos analíticos para determinação de cádmio em amostras de cenouras utilizando espectrometria de absorção atômica com forno de grafite

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química.

Área de concentração: Química Analítica.

Orientador: Prof. Dr. Douglas Gonçalves da Silva
Co-orientadora: Prof. Dra. Anaildes Lago de Carvalho

Jequié - BA
2016

Santos, Mirela de Jesus.
S236 Procedimentos analíticos para determinação de cádmio em amostras de cenouras utilizando espectrometria de absorção atômica com forno de grafite/Mirela de Jesus Santos. - Jequié, UESB, 2016.
53 f: il.; 30 cm. (Anexos)

Dissertação de Mestrado (Programa de Pós-graduação em Química) - Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 2016. Orientador: Prof. Dr. Douglas Gonçalves da Silva. Co-orientadora: Profa. Dra Anaildes Lago de Carvalho.

1. Cádmio em amostras de cenouras – Determinação utilizando a GF AAS 2. Modificadores de matriz – AI, Pd, Pd-Mg e W 3. HNO_3 diluído – Determinação de Cd em amostras de cenoura I. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia II. Título.

CDD – 543

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA – UESB
Recredenciada pelo Decreto Estadual Nº 9.996, de 02.05.2006
Programa de Pós-Graduação em Química

Mirela de Jesus Santos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Química.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM **11/03/2016.**

Comissão Examinadora:

Douglas Gonçalves da Silva

Prof. Dr. Douglas Gonçalves da Silva (UFBA, Salvador-BA, 2012)
(Orientador)

Anaildes Lago de Carvalho

Profa. Dra. Anaildes Lago de Carvalho (UFBA, Salvador-BA, 2014)
(Coorientadora)

Marcos de Almeida Bezerra

Prof. Dr. Marcos de Almeida Bezerra (UFBA, Salvador-BA, 2006)

Elenir Souza Santos

Profa. Dra. Elenir Souza Santos (UFBA, Salvador-BA, 2012)

Rua José Moreira Sobrinho, s/n – Jequiezinho
CEP: 45.208-091 - Jequié – Bahia
Telefone: (73) 3528-9630 Email: ppgquimica@uesb.edu.br

O caminho de Deus é perfeito;

A palavra do Senhor é provada;

Ele é escudo para todos que Nele se refugiam.

Pois quem é Deus, senão o SENHOR?

E quem é rochedo, senão o nosso Deus?

O Deus que me revestiu de força e aperfeiçoou o meu caminho,

Ele deu aos meus pés a ligeireza das corças

E me firmou nas minhas alturas.

(Salmos 18:30-33)

A Deus,

Porque Dele, por Ele e para Ele são todas as coisas.

A Ele, pois, a glória, eternamente.

(Romanos 11:36)

A Ele minha eterna gratidão!

Com amor dedico.

AGRADECIMENTOS

A minha mãe, Felícia, pelo amor e doação incondicional, pelas sábias palavras de incentivo e pelas orações que me deram força para seguir em frente e não desistir. Amo você!

As minhas irmãs, Mírian e Milene, pelo carinho, incentivo e por fazer parte de todos os momentos da minha vida. Ao meu sobrinho Thalles Ravi, com a sua ternura, pureza e alegria trouxe a esperança de um presente e futuro sempre melhor. A toda a minha família, pelo apoio em cada fase da minha vida.

Aos meus queridos amigos, Leandro, Silvana e Mirla, pela amizade e torcida. E por compartilharem dos meus choros nos momentos de tristezas e das minhas alegrias por meio das vitórias alcançadas.

Ao meu orientador, Douglas, pela oportunidade, confiança, amizade e por ter contribuído para o meu crescimento profissional e pessoal.

A minha co-orientadora, Nai, pela sua doçura, amizade e por compartilhar comigo seus conhecimentos durante o período do desenvolvimento deste trabalho.

Aos professores, Marcos, Marina e Valfredo, pela oportunidade desde a graduação, seja na iniciação científica, como monitora da disciplina ou realização do TCC. E por disponibilizar materiais, reagentes e o espaço para realização desta pesquisa.

A todos do LQA, em especial Washington, Valéria, Juciane, Gisseli, Márcio e Analu.

A CAPES, pelo apoio financeiro que garantiu a realização dessa pesquisa.

E a todos que de alguma forma colaboraram para a realização deste trabalho.

Obrigada!!!

RESUMO

Neste trabalho foram desenvolvidos procedimentos analíticos visando à determinação de Cd em amostras de cenouras utilizando a GF AAS. Para isso foi avaliado diferentes modificadores de matriz (Al, Pd, Pd-Mg e W) e o Pd apresentou as melhores características como modificador químico. A eficiência da digestão da amostra com HNO_3 diluído e H_2O_2 associado a frascos de alta pressão também foi avaliado. E os resultados obtidos mostraram digeridos com baixa acidez residual (0,74 ± 0,04 mol L^{-1}). O estudo do tempo de digestão das amostras foi verificado e os valores indicaram que o período adequado é de 4 horas. O método proposto possui alta sensibilidade, com massa característica (m_o) igual a 0,48 pg e valores de limites de detecção e quantificação de 8 e 23 ng g^{-1}, respectivamente. A precisão intermediária e a repetitividade foram expressa em RSD (%) com valores menores que 10%. A exatidão avaliada através da adição de diferentes concentrações de Cd nas amostras de cenouras apresentou valores de recuperação na faixa de 94,0 a 100,7%. O material de referência certificado de folhas de maçã (NIST SRM 1515 Apple leaves) e folhas de tomate (NIST SRM 1573a Tomato leaves) também foi analisado, os valores encontrados não apresentaram diferença significativa a um nível de confiança de 95%. O método foi aplicado em amostras de cenouras de diferentes cidades da Bahia (Brasil) e as concentrações encontradas variaram de 30,7 a 78,7 ng g^{-1} para cenouras cruas e de 28,4 a 54,2 ng g^{-1} para cenouras cozidas. Esses níveis de concentração estão abaixo do valor máximo estabelecido pelo Ministério da Saúde e ANVISA.

Palavras chave: Cenoura, HNO_3 diluído, Modificador de matriz, GF AAS

ABSTRACT

In this paper analytical procedures were developed to the determination of Cd in carrot samples using GF AAS. For it was evaluated different modifiers matrix (Al, Pd, Pd-Mg and W) and Pd presented the best characteristics as a chemical modifier. The efficiency of digestion of the sample with diluted HNO_3 and H_2O_2 associated with high pressure bottles was evaluated. And the results showed digested with low residual acidity (0.74 ± 0.04 L mol^{-1}). The study sample digestion time was checked and the values indicated that the suitable period is 4 hours. The proposed method has high sensitivity, with a characteristic mass (m_o) of 0.48 pg values and limits of detection and quantification of 8 and 23 ng g^{-1}, respectively. The intermediate precision and repeatability were expressed as RSD (%) with values lower than 10%. The accuracy evaluated by adding various concentrations of Cd in the carrot samples had recovery values in the range from 94.0 to 100.7%. The reference material certificate of apple leaves (NIST SRM 1515 Apple leaves) and tomato leaves (NIST SRM 1573a Tomato leaves) was also analyzed, the values found no significant differences at the 95% confidence level. The method was applied to samples of carrots from different cities of Bahia (Brazil) and the concentrations found ranged from 30.7 to 78.7 ng g^{-1} for raw carrots and 28.4 to 54.2 ng g^{-1} for cooked carrots. These concentration levels are below the maximum value established by the Ministry of Health and ANVISA.

Keywords: Carrot, diluted HNO_3, Matrix modifier, GF AAS

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 1

2. REVISÃO DE LITERATURA 2

2.1. Cenoura (*Daucus carota L.*) 2

2.1.1. Aspectos gerais e características 2

2.1.2. Produção e consumo 3

2.1.3. Valor nutricional 3

2.2. Preparo de amostras e a utilização de ácido diluído 4

2.3. Técnicas utilizadas para determinação de Cd em legumes e outros vegetais 6

3. OBJETIVOS 9

3.1. Objetivo Geral 9

3.2. Objetivos específicos 9

4. PARTE EXPERIMENTAL 10

4.1. Reagentes e Soluções 10

4.2. Instrumentação 10

4.3. Tratamento dos tubos de grafite 11

4.4. Estudo dos modificadores de matriz para determinação de Cd utilizando GF AAS 11

4.5. Procedimentos de preparo das amostras utilizando HNO_3 diluído 12

4.5.1. Amostras de cenouras 12

4.5.2. Preparo das amostras de cenouras utilizando HNO_3 diluído 13

4.5.3. Estudo do tempo da digestão e determinação da acidez residual das amostras de cenouras 13

4.6. Validação dos métodos analíticos 14

4.6.1. Efeito de Matriz e Linearidade 14

4.6.2. Limites de detecção e quantificação 14

4.6.3. Precisão 15

4.6.4. Exatidão 16

4.6.5. Sensibilidade 17

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO 18

5.1. Estudo dos modificadores químicos para determinação de Cd utilizando GF AAS 18

5.2. Preparo da amostra utilizando HNO_3 diluído para determinação de Cd em amostras cenouras 21

5.3. Estudo do tempo de digestão e determinação da acidez residual das amostras de cenouras 23

5.5. Validação dos métodos analíticos 24

5.5.1. Linearidade e Efeito de Matriz 24

5.5.2. Limites de detecção e quantificação 25

5.5.3. Precisão 25

5.5.4. Exatidão 26

5.5.5. Sensibilidade 27

5.6. Aplicação do método proposto 28

6. CONCLUSÃO 30

7. REFERÊNCIAS 31

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CEPEA: Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada

EMBRAPA: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

F AAS: Espectrometria de Absorção Atômica com Chama, do inglês, Flame Atomic Absortion Spectrometry

FAEP: Fundação de Amparo ao Ensino e Pesquisa

FAO: Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura, do inglês, Food and Agricultural Organization

GF AAS: Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite, do inglês, Graphite Furnece Atomic Absorption Spectrometry

IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

ICP-MS: Espectrometria de Massa com Plasma Indutivamente Acoplado, do inglês, Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry

LD: Limite de Detecção

LQ: Limite de Quantificação

NIST: Instituto Nacional de padrões e Tecnologia, do inglês, National Institute of Standards and Technology

OMS: Organização Mundial da Saúde

RSD: Desvio Padrão Relativo, do inglês, Relative Standard Deviation

USDA: Departamento de Agricultura dos Estados Unidos, do inglês, United States Department of Agriculture

WHO: Organização Mundial de Saúde, do inglês, World Health Organization

LISTA DE FIGURAS

Figura 01: Cenoura e seus aspectos morfológicos.....02

Figura 02: Cultivo de cenouras na Idade das Trevas e ao longo da Idade Média.....03

Figura 03: Curvas de temperaturas de pirólise e atomização da amostra enriquecida com 1,0 µg L^{-1} de Cd, sem modificador de matriz e com co-injeção de diferentes modificadores de matriz.....18

Figura 04: Intensidade do sinal de absorvância obtido sem modificador de matriz (A) e com o modificador de matriz de Pd (B).....20

Figura 05: Curvas analíticas em meio aquoso (■) e por ajuste de matriz (■) para determinação de Cd em cenouras com o modificador de paládio.....24

LISTA DE TABELAS

Tabela 01: Composição nutricional presente em 100 gramas de cenoura crua....04

Tabela 02: Estudos utilizando diferentes técnicas para determinação de Cd e outros metais em matrizes vegetais.....08

Tabela 03: Parâmetros instrumentais para a determinação de Cd em amostras de cenouras.....11

Tabela 04: Programa de temperatura do GF AAS para o tratamento da plataforma do tubo de grafite com modificador permanente de W.....11

Tabela 05: Programa de aquecimento do forno de grafite usado para o estudo dos modificadores de matriz.....12

Tabela 06: Absorvâncias obtidas com diferentes modificadores de matriz para determinação de Cd em cenouras.....20

Tabela 07: Estudo comparativo entre os diferentes procedimentos de digestão utilizando HNO_3 diluído.....22

Tabela 08: Estudo do tempo da digestão ácida para amostras de cenouras.....23

Tabela 09: Limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) para diferentes estudos.....25

Tabela 10: Precisão intermediária para a determinação de Cd em amostras de cenouras.....26

Tabela 11: Avaliação da exatidão através das recuperações obtidas para Cd em amostras de cenouras.....26

Tabela 12: Avaliação da exatidão através da determinação de Cd em material certificado.....27

Tabela 13: Características analíticas para a determinação de Cd por GF AAS empregando diferentes modificadores.....28

Tabela 14: Concentração de Cd em amostras de cenouras das diferentes cidades.....29

1. INTRODUÇÃO

A cenoura é um legume rico em vitaminas e carotenóides que tem efeito benéfico no combate de várias doenças (Sharma *et al.*, 2012). Cultivada desde a antiguidade a cenoura é a quarta hortaliça mais produzida no mundo e tem impactos positivos na economia mundial e brasileira (FAO, 2012; USDA, 2013; CEPEA, 2015).

Como os legumes são facilmente contaminados com elementos potencialmente tóxicos através do contato com o ar, água e solo, determinar a concentração de Cd e comparar com os níveis permitidos pelo Ministério da Saúde e pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária é importante. O Cd exerce efeitos tóxicos principalmente sobre os rins, também causa doenças respiratórias, osteoporose, câncer de pulmão, rim e próstata (WHO, 2016). A cenoura pode ser contaminada por absorção de Cd acumulado no solo e pelas águas de irrigação, fertilizantes fosfatados, poluição atmosférica e rejeitos de indústrias. O uso inadequado de agrotóxicos e pesticidas também está aliado à origem de contaminação dos alimentos (Baird, 2002; Evangelista, 2005).

À vista disso, desenvolver procedimentos para a determinação de Cd em amostras de cenouras é relevante para o controle da qualidade alimentar. Com isso, novas estratégias para a etapa do preparo da amostra estão surgindo com o intuito de reduzir os resíduos gerados, o volume dos reagentes e a acidez residual. E a digestão com HNO_3 diluído é uma alternativa que apresenta esses requisitos. Dentre as diversas técnicas utilizadas para a determinação de Cd em legumes a espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS) tem destaque em especial pela sensibilidade. Os baixos limites de detecção e quantificação da GF AAS oferece sensibilidade adequada para a determinação direta de vários metais. Além disso, o uso de modificadores químicos elimina os efeitos indesejáveis dessa técnica.

Dessa forma, esse estudo propõe desenvolver um procedimento analítico para determinação de Cd em amostras de cenouras comercializadas em diferentes cidades do estado da Bahia-Brasil utilizando a GF AAS.

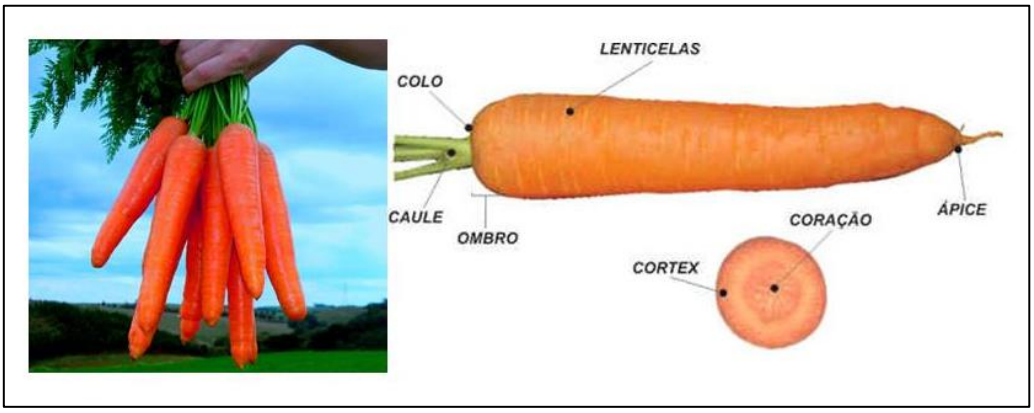
2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Cenoura (*Daucus carota L.*)

2.1.1. Aspectos gerais e características

A *Daucus Carota L.* conhecida como cenoura pertence à família *Apiaceae* e faz parte do grupo das raízes tuberosas, ou seja, tem como parte comestível as raízes. Predominante de clima temperado, também é cultivada em regiões tropicais e subtropicais, especialmente em altas altitudes (Stolarczyk & Janick, 2011). A morfologia da cenoura influi diretamente na sua classificação e determina o valor comercial do produto. Uma cenoura com padrão mínimo de qualidade não deve apresentar aspecto mole, murcha, deformações ou rachaduras. Quanto melhor forem os aspectos morfológicos conforme a Figura 01, há maior valorização e preferência do mercado consumidor (FAEP, 2015).

Figura 01. Cenoura e seus aspectos morfológicos.



Fonte: Seminis (2015) e FAEP (2015), adaptada pela autora.

A cenoura é um legume existente desde os tempos pré-históricos, entretanto era conhecida como cenoura selvagem e teve uso apenas medicinal. O Afeganistão foi a primeira região a produzir e a consumir cenouras como raízes comestíveis, e a partir daí houve sua expansão pela Europa, Mediterrâneo e Ásia. Na Grécia ao longo da Idade Média, a cenoura foi um dos principais vegetais na alimentação das pessoas nos meses de inverno, visto que eles eram fáceis de crescer (Stolarczyk & Janick, 2011; Baranski *et al.*, 2012). A Figura 02 apresenta

uma pintura na parede de uma taverna e o cultivo de cenouras desde a antiguidade.

Figura 02. Cultivo de cenouras na Idade das Trevas e ao longo da Idade Média.

Fonte: Stolarczyk & Janick (2011), adaptado pela autora.

2.1.2. Produção e consumo

A produção mundial de cenouras ultrapassa 30 milhões de toneladas por ano e os principais países produtores são a China, a Rússia e os Estados Unidos (FAO, 2012; USDA, 2013). No Brasil são cultivadas cerca de 760 mil toneladas por ano e os principais municípios produtores estão nos estados de Minas gerais, São Paulo, Paraná e Bahia (EMBRAPA, 2015).

A cenoura tem impactos positivos na economia brasileira e no desenvolvimento de várias regiões, uma vez que é o quinto legume mais cultivado e a quarto mais consumido no país. O faturamento anual da cenoura está em terceiro lugar, com valores superiores a R$ 24 milhões (CEPEA, 2015; IBGE, 2009; Santos, 2015).

2.1.3. Valor nutricional

Como descrito na Tabela 01 a cenoura apresenta composição nutricional rica em minerais como cálcio, ferro, fósforo, magnésio e potássio, bem como vitaminas A, B, C e E.

Tabela 01. Composição nutricional presente em 100 gramas de cenoura crua.

Componente	Quantidade	Componente	Quantidade
Calorias (Kcal)	43,00	Potássio (mg)	323,00
Gorduras (g)	0,19	Sódio (mg)	35,00
Carboidratos (g)	10,14	Selênio (mcg)	0,1
Fibras (g)	3,00	Zinco (mg)	0,20
Proteínas (g)	1,03	Vitamina A (UI)	12.000
Cálcio (mg)	27,00	Vitamina C (mg)	9,00
Ferro (mg)	0,50	Vitamina E (mg)	0,46
Flúor (mcg)	4,1	Vitamina B1 (tiamina) mg	0,1
Fósforo (mg)	44,8	Vitamina B2 (riboflavina) mg	0,1
Magnésio (mg)	15,4	Vitamina B6 (mg)	0,2

Fonte: EMBRAPA (2015) e USDA (2015), adaptada pela autora.

Devido a sua composição nutricional e a presença de grande quantidade de β-caroteno a cenoura tem destaque na dieta humana. O β-caroteno é uma das principais fontes de vitamina A que atua como antioxidante e protege a visão, a pele e a mucosa intestinal (Sharma *et al.*, 2009; Ma *et al.*, 2013; Zaccari *et al.*, 2015).

A OMS (2014) destaca a presença de carotenóides na cenoura que inibe o desenvolvimento de tumores. Um estudo realizado por Sharma *et al.* (2012) salienta que os carotenóides estão relacionados com o aumento do sistema imunológico e a diminuição do risco de doenças cardiovasculares e de acidente vascular cerebral. Além disso, tem propriedades diuréticas, protege contra catarata, hipertensão arterial e doença de Alzheimer.

2.2. Preparo de amostras e a utilização de ácido diluído

O preparo das amostras é a etapa mais crítica e que apresenta maior custo da análise. Esta etapa consome cerca de 60 a 80% de todo processo analítico e por isso está susceptível a 30% dos erros totais nas determinações (Arruda &

Santelli, 1997; Giinzler & Williams, 2001; Chen *et al.*, 2008; SamplePrep Web, 2015).

A maioria das técnicas analíticas trabalha melhor com soluções aquosas (Krug, 2008), por isso, ao longo dos anos, pesquisadores vêm desenvolvendo métodos alternativos para a decomposição parcial ou total de amostras sólidas. A maior parte dos métodos emprega o processo por via úmida em que utiliza ácidos oxidantes ou mistura de um ácido oxidante com o peróxido de hidrogênio.

De acordo com Arruda & Santelli (1997) o processo de digestão da amostra deve apresentar simplicidade, rapidez, utilizar pequenos volumes de ácidos, permitir a dissolução de grande número de amostras e produzir resultados precisos e exatos. Oliveira (2003) também enfatiza a importância de obter menor tempo no preparo da amostra, com mínima contaminação e baixa geração de resíduos.

Nos procedimentos convencionais elevadas concentrações e grandes volumes do ácido são problemas encontrados, além dos resíduos gerados podem levar a danos ao meio ambiente. Desta forma, novas metodologias são desenvolvidas com o intuito de reduzir o volume e a concentração do ácido.

Estudos realizados com ácido diluído aplicado a diferentes matrizes (Araujo *et al.*, 2002; Castro *et al.*, 2009; Gonzalez *et al.*, 2009; Bizzi *et al.*, 2011; Bizzi *et al.*, 2014; Barbosa *et al.*, 2015) vêm demonstrando digestões de amostras bem sucedidas. Esses estudos utilizam como agente oxidante uma mistura de HNO_3 diluído e H_2O_2.

O uso do HNO_3 diluído é atrativo por diversos fatores: segurança, minimização de resíduos, decréscimo da quantidade de reagentes, redução de custos e do tempo de decomposição, menores valores do branco e do carbono residual. Também são obtidas soluções com menor acidez, sendo assim mais apropriada para introdução em alguns equipamentos (Krug, 2008; Korn *et al.* 2009).

A eficiência da digestão com HNO_3 diluído está associada a frascos de alta pressão e alguma fonte de radiação promovida por aquecimento de uma estufa termostatizada ou pelas micro-ondas. Dentro do frasco de reação há um aumento da pressão e do ponto de ebulição da mistura de decomposição, isso faz com que o potencial oxidante do ácido se eleve. Os processos químicos envolvidos com a mistura presente nos frascos de reação conforme as equações abaixo também

contribuem para a eficiência das decomposições. Primeiro à formação de NO, depois a sua conversão em NO_2 por ação de O_2, e a regeneração do HNO_3 consumido (Krug, 2008; Korn *et al.*, 2009).

$$(CH_2)_n + HNO_{3(aq)} \rightarrow CO_{2(g)} + NO_{(g)} + H_2O_{(l)} \quad \text{(Equação 01)}$$

$$2\ NO_{(g)} + O_{2(g)} \rightarrow 2\ NO_{2(g)} \quad \text{(Equação 02)}$$

$$2\ NO_{2(g)} + H_2O_{(l)} \rightarrow HNO_{3(aq)} + HNO_{2(aq)} \quad \text{(Equação 03)}$$

2.3. Técnicas utilizadas para determinação de Cd em legumes e outros vegetais

O Cd apresenta toxidade aguda, uma vez que é acumulativo e pode substituir elementos essenciais como Ca^{2+} em macromoléculas e enzimas no organismo humano (Baird, 2002). Esse elemento está classificado como cancerígeno e mesmo em baixas concentrações pode danificar os rins, os ossos e afetar o sistema respiratório e hematológico (WHO, 2015).

Desta forma, a determinação de Cd em legumes torna-se um tema relevante e que merece uma atenção especial para manter a segurança e o controle da qualidade alimentar. As técnicas analíticas baseadas em absorção e emissão são as mais utilizadas nas determinações de elementos traço, entretanto a espectrometria de absorção atômica com chama (F AAS) ou com forno de grafite (GF AAS) tem destaque em função de vários fatores (Freschi *et al.*, 2000).

Esses fatores incluem alta especificidade, sensibilidade, robustez, baixos limites de detecção e baixo custo relativo. Entretanto, como descreve Azevedo *et al.* (2013) a GF AAS é uma técnica para a análise de elementos em baixas concentrações e apresenta vantagens em relação ao F AAS, principalmente devido à sensibilidade, uma vez que são obtidos baixos limites de detecção e quantificação.

Na GF AAS a alíquota inteira é introduzida no atomizador e o tempo de confinamento dos átomos no tubo de grafite é de um segundo ou mais. Isso aumenta o tempo de permanência dos átomos no caminho óptico e desta forma há um aumenta na sensibilidade (Skoog *et al.*, 2002).

Ainda de acordo com Ribeiro *et al.* (2002) essa técnica tem boa seletividade, requer pequenos volumes de amostra e possui limites de detecção na ordem de µg a ng L^{-1} para a maioria dos elementos. Por causa dessas características a GF AAS é utilizada para determinar metais em legumes e outros vegetais como revela a Tabela 02 e para o desenvolvimento deste trabalho essa técnica também foi a escolhida.

As desvantagens da GF AAS estão relacionadas aos efeitos de matriz e a perda do analito na etapa de pirólise, especialmente na forma de compostos voláteis (Vogel *et al.*, 2002). À vista disso, a modificação química é empregada para reduzir ou eliminar os efeitos indesejáveis da técnica.

De acordo com Vogel *et al.* (2002) o modificador químico é um reagente que pode ser adicionado à amostra para alterar o comportamento da matriz ou do analito. Existem dois tipos de modificação química: a modificação química convencional, onde o modificador está presente em solução e é adicionado antes, depois ou conjuntamente com a amostra e a modificação química permanente, na qual o modificador é impregnado previamente na superfície da plataforma ou na parede do forno de grafite (Froes *et al.*, 2006).

Os principais elementos utilizados como modificadores convencionais são o Cu, Ni, Pd/$Mg(NO_3)_2$ e ácido cítrico, já os modificadores permanentes em potencial são os metais nobres de alto ponto de fusão como os do grupo da platina (Ir, Pd, Pt, Rh, Ru) e os elementos que formam carbetos (Mo, Nb, Re, Ta, Ti, V, W, Zr, Hf, B, Si), podendo ser empregados individualmente ou combinados (Tsalev *et al.*, 2000; Froes *et al*., 2006).

Além disso, Welz *et al.* (1987) destaca os principais critérios para o modificador ideal:

- Estabilizar o analito na etapa de pirólise para garantir a eliminação da matriz;
- Não diminuir a vida útil do tubo de grafite;
- Ser disponível em alto grau de pureza para evitar contaminações;
- Ser raramente determinado por GF AAS;
- Não afetar negativamente a sensibilidade da técnica;
- Não contribuir para a absorção de fundo;
- Ser o mais universal possível.

Tabela 02. Estudos utilizando diferentes técnicas para determinação de Cd e outros metais em matrizes vegetais.

Elementos	Tipo de vegetais	Técnica de determinação	LD*	Referência
As, Cd, Pb e Se	Arroz	GF AAS	1,20 ng g^{-1}	Oliveira *et al.*, 2016
Pb, Cd, Fe, Mn, Cu, Cr, Ni e Zn	Inhame, batata doce, soja, feijão amendoim, arroz, milho e trigo	F AAS	---	Akinyele & Shokunbi, 2015
AS, Cd e Pb	Batata	GF AAS	3,77 ng g^{-1}	Oliveira *et al.*, 2015
Cd e Pb	Mandioca	GF AAS	1,12 ng g^{-1}	Oliveira *et al.*, 2013
Cd e Pb	Mandioca, frutas, ervas e gramíneas	F AAS e GF AAS	2 mg kg^{-1}	Magna *et al.*, 2013
Cd e Pb	Tomate	GF AAS	------	G. Luis *et al.*, 2012
As, Cd e Pb	Cenoura e aipo	ICP MS	10 ug kg^{-1}	Temmerman *et al.*, 2012
Cd e Pb	Arroz, feijão, soja e amendoim	GF AAS	0,0048 mg kg^{-1}	Parengam *et al.*, 2010
Cd, Pb, Cu e Zn	Couve, quiabo e beterraba	F AAS	0,0005 ug ml^{-1}	Sharma *et al.*, 2008

*Valores para determinação de Cd no GF AAS

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Desenvolver e validar um procedimento analítico para determinação de Cd em cenouras utilizando a espectrometria de absorção atômica com forno de grafite.

3.2. Objetivos específicos

- Investigar o uso de diferentes modificadores químicos para determinação de Cd em cenouras utilizando a GF AAS;

- Avaliar diferentes procedimentos de digestão utilizando o HNO_3 diluído em amostras de cenouras para a determinação de Cd;

- Aplicar o método proposto na determinação de Cd em amostras de cenouras cruas e cozidas comercializadas em diferentes cidades da Bahia, Brasil;

- Avaliar o efeito de cocção na concentração de Cd em amostras de cenouras;

- Comparar a concentração de Cd em amostras de cenouras com os níveis estabelecidos pela ANVISA e pelo Ministério da Saúde.

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1. Reagentes e Soluções

Todas as vidrarias, frascos e materiais utilizados nos procedimentos analíticos foram lavados com detergente neutro e submersos em solução de HNO_3 10% (v/v) por no mínimo 24 h para descontaminação. Após este período foram lavados com água ultrapura por três vezes e secos ao ar, em ambiente livre de poeira.

Os reagentes utilizados foram de alto grau de pureza e as soluções foram preparadas com água ultrapura, obtida a partir de um sistema (ELGA, Purelab classic) com resistividade específica de 18 MΩ cm^{-1}.

Para digestão das amostras de cenouras foram utilizados HNO_3 (Vetec) 65% (v/v) e H_2O_2 (Vetec) 30% (m/v). As soluções de referência de Cd foram preparadas em 5% (v/v) de HNO_3 por diluições da solução estoque de 1000 mg L^{-1} (Fluka, Analytical).

Uma solução de $Pd(NO_3)_2$ 10 g L^{-1} (Fluka, Analytical) diluída para 1000 mg L^{-1} e soluções de 1000 mg L^{-1} de Al, $Pd/Mg(NO_3)_2$ 5:3 e W (Fluka, Analytical) foram utilizadas como modificadores químicos no tratamento dos tubos de grafite.

4.2. Instrumentação

Todas as medições foram realizadas em um espectrômetro de absorção atômica com forno de grafite (Perkin Elmer AAnalyst 400, modelo HGA 900) com correção de fundo por lâmpada de deutério e amostrador automático (AS-800, Perkin Elmer, precisely). Uma lâmpada de catodo oco mono-elementar de Cd (Perkin Elmer) foi utilizada através de parâmetros instrumentais sugeridos pelo fabricante que estão ilustrados na Tabela 03. Como gás de purga foi usado argônio de alta pureza (99,99% da White Martins, Salvador, BA, Brasil). Em todas as determinações foram empregados tubos de grafite pirolítico com plataforma integrada (Perkin Elmer part number B3 001264). As medidas foram feitas por meio da absorvância integrada (área do pico) e o volume injetado no tubo de grafite foi de 20 µL para os padrões de Cd e 20 µL para as amostras de cenouras.

Tabela 03. Parâmetros instrumentais para a determinação de Cd em amostras de cenouras.

Parâmetros	Cd
Comprimento de onda nm	228,80
Largura da fenda nm	2,7/1,35
Corrente mA	4,0

4.3. Tratamento dos tubos de grafite

Tubos de grafite com plataformas integradas foram revestidos com 250 µg do modificador permanente de W conforme o programa de temperatura ilustrado na Tabela 04. O procedimento utilizado foi adaptado dos estudos de Lima *et al.* (1998) e Freschi *et al.* (2006), em que cinco injeções de 50 µL da solução de 1000 mg L^{-1} do modificador de W foram introduzidos na superfície da plataforma com o auxílio de uma micropipeta.

Tabela 04. Programa de temperatura do GF AAS para o tratamento da plataforma do tubo de grafite com modificador permanente de W.

Etapa	Temperatura (ºC)	Rampa (s)	Permanência (s)	Fluxo de Ar (mL min^{-1})
Secagem 01	120	5	25	250
Secagem 02	150	10	25	250
Pirólise 01	600	10	20	250
Pirólise 02	1200	10	20	250
Atomização	2000	3	10	0
Limpeza	2200	1	5	250

4.4. Estudo dos modificadores de matriz para determinação de Cd utilizando GF AAS

Nesta etapa, realizou-se um estudo comparativo para a escolha do modificador químico mais adequado na determinação de Cd em amostras de

cenouras. Para isso, foram feitas curvas de temperatura de pirólise e atomização para o Cd. Essas curvas foram realizadas co-injetando 20 µL dos modificadores de matriz Al, $Pd(NO_3)_2$, $Pd/Mg(NO_3)_2$ e W juntamente com 20 µL das amostras de cenouras fortificadas com Cd, de modo que a concentração final de Cd adicionada fosse igual a 1,0 µg L^{-1}. Os modificadores de matriz, inclusive W, foram co-injetados no tubo de grafite revestido com W. Dessa forma, as curvas obtidas para o modificador de matriz de W estaria nas mesmas condições dos outros modificadores químicos estudados.

Os demais parâmetros do programa de aquecimento foram sugeridos pelo fabricante do equipamento conforme a Tabela 05.

Tabela 05. Programa de aquecimento do forno de grafite usado para o estudo dos modificadores de matriz.

Etapa	Cd	Rampa (s)	Permanência (s)	Fluxo de Ar (mL min^{-1})
Secagem	100	5	20	250
Secagem	140	15	15	250
Pirólise	-	10	20	250
Atomização	-	0	5	0
Limpeza	2600	1	5	250

4.5. Procedimentos de preparo das amostras utilizando HNO_3 diluído

4.5.1. Amostras de cenouras

As amostras de cenouras foram adquiridas nas feiras livres das cidades de Jequié, Caetité, Maracás e Vitória da Conquista, localizadas no estado da Bahia, Brasil.

As cenouras foram lavadas manualmente com água corrente e posteriormente com água ultrapura. Em seguida, as amostras foram secas a temperatura ambiente, raladas com ralador de plástico e distribuídas em placas de Petri. As placas de Petri contendo as cenouras raladas foram submetidas a secagem em uma estufa (EuroBrás, modelo EL interna inox) a 65 °C por 24 h.

Cenouras cozidas por um período de 25 minutos também tiveram o mesmo tratamento.

As cenouras completamente secas foram trituradas em liquidificador, devido ao aspecto adquirido após a secagem. Posteriormente, as cenouras foram peneiradas em malhas com granulometria de 35 mesh e armazenadas em frascos de polietileno.

4.5.2. Preparo das amostras de cenouras utilizando HNO_3 diluído

Nesta etapa foram realizados diferentes procedimentos para avaliar a eficiência da digestão mediante ao uso de HNO_3 diluído.

Na primeira etapa foram feitos cinco procedimentos pesando cerca de 0,1000 g das amostras de cenoura em frascos de politetrafluoretileno (PTFE) de 25 mL. Em seguida foram adicionados 2,0 mL de HNO_3 diluído nas concentrações de 4,0; 5,0; 6,0; 7,0 e 8,0 mol L^{-1} e 1,0 mL de H_2O_2. Esses procedimentos também foram realizados utilizando uma pré-digestão por 14 horas em temperatura ambiente.

Na segunda etapa foram feitos cinco procedimentos na ausência do de H_2O_2, para isso foram pesados cerca de 0,1000 g das amostras de cenoura em frascos de PTFE de 25 mL. Em seguida foram adicionados 2,0 mL de HNO_3 diluído nas concentrações de 4,0; 5,0; 6,0; 7,0 e 8,0 mol L^{-1}. Esses procedimentos também foram realizados utilizando uma pré-digestão por 14 horas em temperatura ambiente.

Os frascos de PTFE foram acoplados em cilindros de aço, os quais foram levadas para a estufa a 170 °C por 4 horas conforme descrito por Krug (2008).

Após a digestão, as amostras foram transferidas quantitativamente para frascos volumétricos e diluídas para 10 mL utilizando água ultra pura.

4.5.3. Estudo do tempo da digestão e determinação da acidez residual das amostras de cenouras

Após verificar a eficiência da digestão mediante ao uso de HNO_3 diluído avaliou-se qual o melhor tempo da digestão para as amostras de cenouras. O

procedimento do preparo da amostra foi feito de acordo com o item 4.5.2., no entanto o tempo de permanência dos cilindros de aço na estufa variou de 2 a 5 horas.

A acidez residual das amostras de cenouras obtidas a partir do melhor tempo de reação foi determinada através da titulação. Para isso, foi utilizado como titulante uma solução padronizada de NaOH 0,1050 mol L^{-1} e como indicador ácido-base a fenolftaleína 0,1 mol L^{-1}.

4.6. Validação dos métodos analíticos

4.6.1. Efeito de Matriz e Linearidade

A linearidade e o efeito de matriz do método proposto foram verificados através de curvas analíticas feitas em triplicata para o Cd. Como diluente foi usada uma solução de HNO_3 na mesma concentração da amostra digerida conforme descrito no item 4.5.3. Curvas analíticas por adição do padrão também foram construídas em triplicata utilizando os digeridos das amostras de cenoura. A faixa de estudo para a construção das curvas analíticas tiveram as seguintes concentrações: 0,0; 0,1; 0,3; 0,5; 0,8; 1,0; 1,2 e 1,4 µg L^{-1}.

O efeito de matriz foi avaliado através da razão entre os coeficientes angulares obtidos nas curvas por padrões externos e por adição do padrão. O teste F e teste t de Student ao nível de 95% de confiança também foram aplicados para a comprovação do resultado.

4.6.2. Limites de detecção e quantificação

Os termos limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) são utilizados para demonstrar a habilidade do método em quantificar/detectar baixas concentrações de um analito. O limite de detecção representa a menor concentração de uma substância que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada. Já o limite de quantificação representa a menor

concentração de uma substância que pode ser quantificada com valores aceitáveis de precisão e exatidão (Ribani *et al.*, 2004; Cassiano *et al*., 2009).

Os limites de detecção e de quantificação foram calculados de acordo com as equações 04 e 05 através do método baseado em parâmetros da curva analítica como citado por Ribani *et al.* (2004).

$$\mathrm{LD} = 3{,}3 \times \frac{s}{S} \qquad \text{(Equação 04)}$$

$$\mathrm{LQ} = 10 \times \frac{s}{S} \qquad \text{(Equação 05)}$$

Onde, s é a estimativa do desvio padrão do coeficiente linear e S o coeficiente angular das médias das curvas analíticas.

4.6.3. Precisão

A precisão de um método é a medida dos erros aleatórios e representa a proximidade dos resultados obtidos a partir de repetidos ensaios independentes de uma mesma amostra. Este é um importante parâmetro que possibilita decidir se o método é confiável para o objetivo da análise. A precisão pode ser expressa como uma estimativa do desvio padrão (s) ou desvio padrão relativo (RSD), também conhecido como coeficiente de variação (CV%) como descrito na equação abaixo (Cassiano *et al*., 2009).

$$\mathrm{DPR\ ou\ CV\%} = \frac{s}{\bar{x}} \times 100 \qquad \text{(Equação 06)}$$

Ribani *et al.* (2004) descreve que a precisão pode ser avaliada de três maneiras, através da repetitividade, precisão intermediária e reprodutibilidade. A repetitividade avalia a concordância entre os resultados de sucessivas medições de um mesmo método, efetuadas sob as mesmas condições. Essas condições incluem mesmo procedimento, mesmo analista, mesmo instrumento usado, mesmo local e repetições em um curto intervalo de tempo. A precisão intermediária indica o efeito das variações dentro do laboratório devido a eventos como: diferentes dias, diferentes analistas, diferentes equipamentos ou

combinações destes fatores. Já a reprodutibilidade é o grau de concordância entre os resultados das medições de uma mesma amostra, efetuadas sob condições variadas (mudança de local, operador, equipamentos, etc.).

A precisão do método proposto foi verificada através da repetitividade e da precisão intermediária. Para a repetitividade 7 replicatas da amostra de cenoura foram analisadas pelo mesmo analista utilizando o mesmo procedimento e o mesmo equipamento em um curto intervalo de tempo. Já para avaliar a precisão intermediária, as amostras foram analisadas por um analista diferente utilizando o mesmo procedimento e o mesmo equipamento em diferentes períodos (01 dia, 30 dias e 60 dias). Os resultados obtidos foram expressos como desvio padrão relativos.

4.6.4. Exatidão

A exatidão de um método representa o grau de concordância entre os resultados individuais encontrados em um determinado ensaio e um valor de referência aceito como verdadeiro. A exatidão é sempre considerada dentro de certos limites, a um dado nível de confiança (ou seja, aparece sempre associada a valores de precisão). Os processos mais utilizados para avaliar a exatidão de um método são: materiais de referência; comparação de métodos; ensaios de recuperação; adição padrão (Ribani *et al*., 2004).

A adição padrão para verificar a recuperação foi utilizada para avaliação da exatidão do método. À vista disso, quantidades conhecidas de Cd (0,3; 0,5; 0,8 e 1,2) foram adicionadas nas amostras de cenoura. Em seguida essas amostras foram digeridas em uma estufa utilizando as condições otimizadas neste trabalho.

A análise do material de referência certificado de folhas de maçã (NIST SRM 1515 Apple leaves) e folhas de tomate (NIST SRM 1573a Tomato leaves) também foi verificada. Para isso foi pesada uma massa do material de referência certificado de forma que o valor encontrado estivesse na faixa da concentração estudada. As amostras foram preparadas em triplicata utilizando o procedimento desenvolvido neste trabalho. O teste t foi aplicado para a comprovação do resultado.

4.6.5. Sensibilidade

A sensibilidade determina o quanto o método é capaz de discriminar pequenas diferenças na concentração de um analito e pode ser obtida através da massa característica (m_0). A m_0 corresponde à massa do analito necessária para produzir um sinal igual a 0,0044 de absorvância integrada, ou seja, 1% de absorção. O valor da sensibilidade é expresso em picograma (10^{-12} g) e foi determinado de acordo com a equação 04, em que relaciona o volume (v) em µL, a concentração (c) em µg L^{-1} e a absorvância medida (Abs) da amostra (Welz & Sperling, 1999).

$$m_0 = \frac{v \times c \times 0{,}0044}{Abs} \qquad \text{(Equação 07)}$$

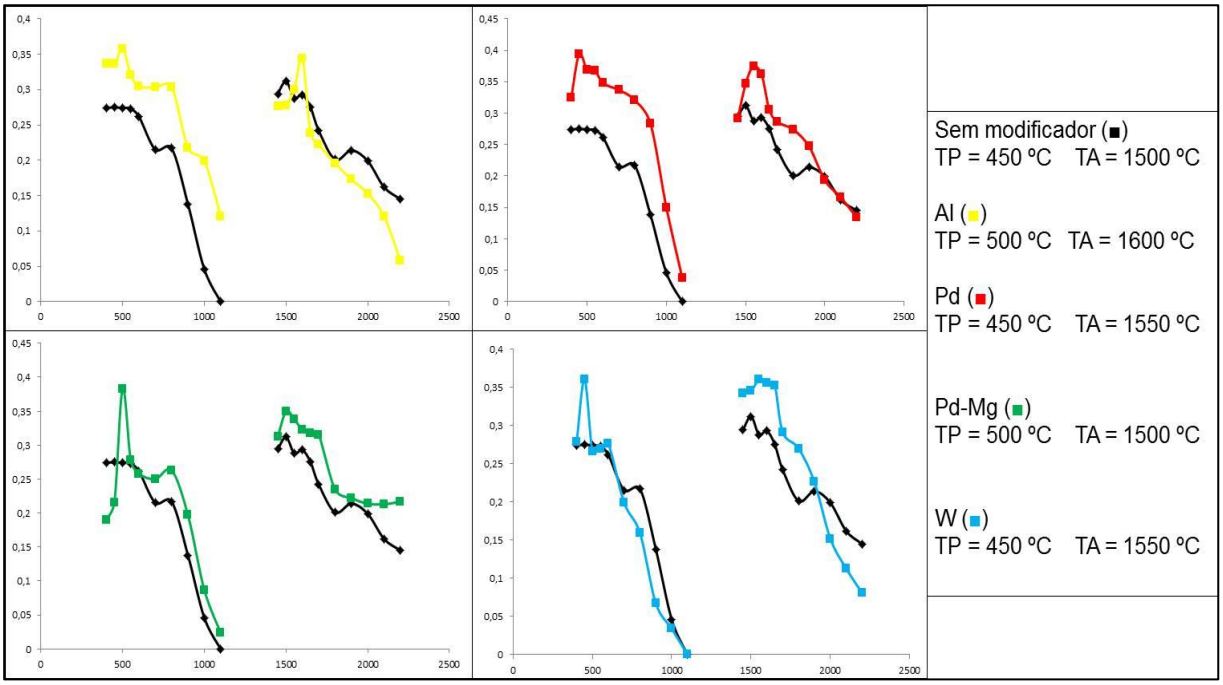
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Estudo dos modificadores químicos para determinação de Cd utilizando GF AAS

No estudo feito para selecionar o melhor modificador de matriz, as curvas de temperatura de pirólise e atomização foram obtidas conforme o programa de temperatura descrito no item 4.4. Os critérios usados foram: maior intensidade do sinal de absorvância, correção de fundo adequada e melhor reprodutibilidade. A absorvância integrada (área do pico) foi escolhida para avaliar a intensidade do sinal, uma vez que minimiza as variações cinéticas no processo de atomização. Isso faz com que as interferências por volatilização na temperatura estabilizada sejam eliminadas (Manning & Slavin, 1978; Salmon *et al.*, 1981).

As curvas de temperaturas de pirólise obtidas a partir de 400 ºC e de atomização obtidas a partir de 1450 ºC até a diminuição do sinal para os diferentes modificadores de matriz podem ser observadas na Figura 03.

Figura 03. Curvas de temperaturas de pirólise e atomização da amostra enriquecida com 1,0 µg L^{-1} de Cd, sem modificador de matriz e com co-injeção de diferentes modificadores de matriz.



Para avaliar o ganho de estabilidade térmica frente ao uso de modificadores químicos, foram construídas curvas de temperatura de pirólise e atomização para o Cd na presença e ausência de um modificador matriz.

As amostras de cenoura fortificadas com 1,0 µg L^{-1} de Cd na ausência do modificador de matriz apresentou maior sensibilidade nas temperaturas de pirólise e atomização de 450 ºC e 1500 ºC. No entanto, nessas condições o pico de absorção apresentou um formato menos simétrico e menos intenso. Além disso, elevada absorção de fundo foi observada, como mostra a Figura 04.

Diante deste resultado, verificou-se que não é conveniente a determinação de Cd em amostras de cenoura na ausência de um modificador químico, visto que a volatilização do Cd diminui o sinal analítico.

As temperaturas de pirólise e atomização empregando o Al como modificador de matriz foram 500 ºC e 1600 ºC, respectivamente. Nessas temperaturas observou-se o aumento da sensibilidade e o decréscimo da absorção de fundo. Entretanto, com uso do Al foi obtido um pico de absorção menos simétrico e baixa reprodutibilidade quando comparado com os outros modificadores de matriz.

Os sinais de absorvância obtidos com a mistura $Pd/Mg(NO_3)_2$ apresentaram uma boa estabilização térmica nas temperaturas de pirólise e atomização de 500 ºC e 1500 ºC, respectivamente. Com o uso de $Pd/Mg(NO_3)_2$ obteve aumento da sensibilidade e boa reprodutibilidade, porém houve um significativo aumento da absorção de fundo.

O W apresentou aumento da sensibilidade nas temperaturas de pirólise igual a 450 ºC e atomização de 1550 ºC. Com o uso desse modificador houve o decréscimo da absorção de fundo, entretanto, a sensibilidade também diminuiu quando comparado com outros modificadores de matriz avaliados.

O uso do $Pd(NO_3)_2$ como modificador de matriz apresentou temperaturas de pirólise e atomização iguais a 450 ºC e 1550 ºC. Nessas temperaturas observou-se um aumento da sensibilidade bem como da reprodutibilidade. Além disso, o $Pd(NO_3)_2$ como modificador de matriz permitiu a obtenção de um pico de absorção simétrico, com sinal de fundo baixo e corrigido.

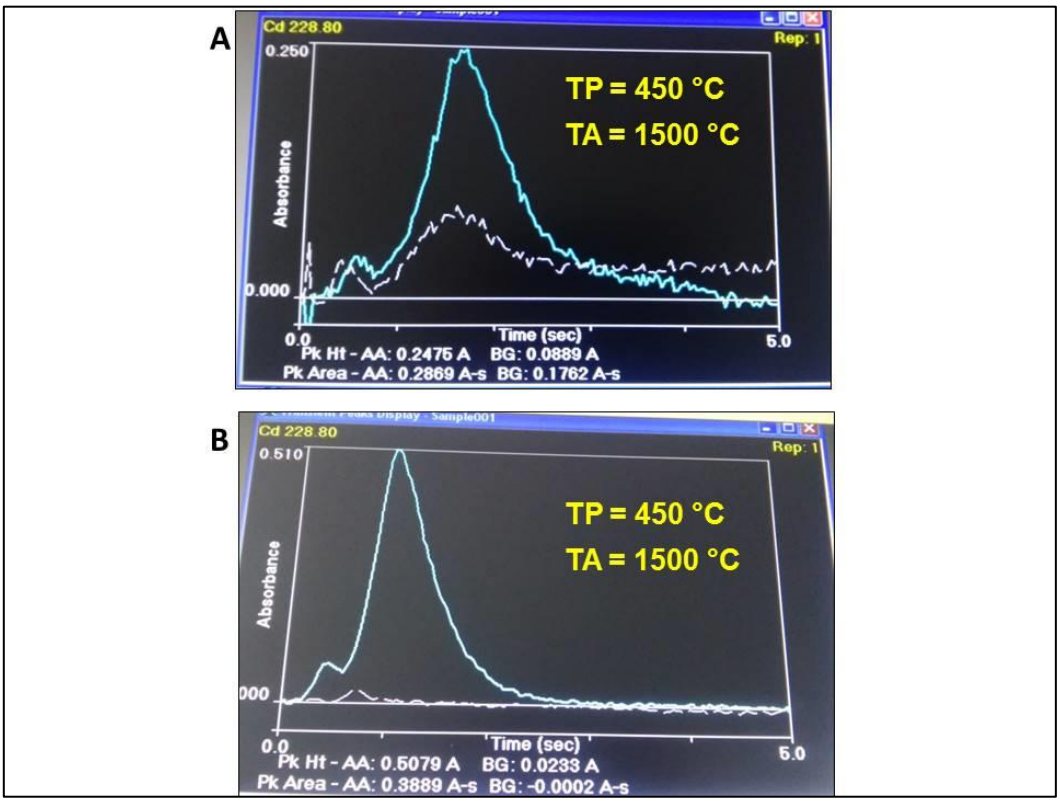
Diante do exposto, é possível afirmar que o $Pd(NO_3)_2$ apresentou maior eficiência para a determinação de Cd em amostras de cenoura quando comparado ao Al, a mistura de $Pd/Mg(NO_3)_2$ e ao W. Este fato é verificado pelos maiores sinais de absorvância obtidos no estudo das temperaturas de pirólise e

atomização, demonstrando assim maior sensibilidade em relação aos outros modificadores avaliados, bem como na ausência de modificador. Assim, o $Pd(NO_3)_2$ foi escolhido para a realização dos experimentos posteriores por reunir as melhores características como modificador de matriz para a determinação de Cd em amostras de cenouras, conforme ilustrado na Tabela 06 e na Figura 04.

Tabela 06. Absorvâncias máximas obtidas com diferentes modificadores de matriz para determinação de Cd em amostras de cenoura e suas respectivas temperaturas de pirólise e atomização.

Modificador de matriz	Absorvância integrada	Absorvância de fundo	Temp. de Pirólise (°C)	Temp. de Atomização (°C)
Ausência	0,287 ± 0,017	0,176	450	1500
Al	0,383 ± 0,035	0,093	500	1600
$Pd(NO_3)_2$	0,389 ± 0,006	0,000	450	1550
$Pd/Mg(NO_3)_2$	0,381 ± 0,003	0,132	500	1500
W	0,368 ± 0,019	0,086	450	1550

Figura 04. Intensidade do sinal de absorvância obtido sem modificador de matriz (A) e com o modificador de matriz de $Pd(NO_3)_2$ (B).



Além disso, um estudo realizado por Torok & Zemberyová (2012) também comprovou a aplicação do $Pd(NO_3)_2$ como modificador de matriz para a determinação de Cd e outros metais em diferentes produtos alimentícios.

5.2. Preparo da amostra utilizando HNO_3 diluído para determinação de Cd em amostras cenouras

Após a escolha do $Pd(NO_3)_2$ como modificador químico para a determinação de Cd em amostras de cenouras, avaliou-se o procedimento mais adequado para digestão das amostras. Os critérios utilizados foram baseados na maior intensidade do sinal de absorvância, menor desvio padrão e, consequentemente, maior concentração de Cd.

Os diferentes procedimentos de digestão utilizando HNO_3 diluído e frascos de PTFE acoplados em cilindros de aço mostraram-se eficientes conforme a Tabela 07. Entretanto, os resultados obtidos com o HNO_3 diluído na ausência de H_2O_2 evidenciaram digeridos não límpidos. À vista disso, para a continuidade deste trabalho optou-se pela combinação do HNO_3 diluído e H_2O_2.

Devido aos resultados obtidos e como o intuito é conseguir um menor tempo no preparo da amostra, a digestão sem a etapa de pré-digestão foi a escolhida. As digestões sem a etapa de pré-digestão foram feitas com o HNO_3 nas concentrações de 2,0 a 8,0 mol L^{-1} e H_2O_2. A eficiência da digestão com o H_2O_2 pode ser explicada pelo seu poder oxidante e pela sua ação como uma fonte de O_2 que contribui para a regeneração de HNO_3 como ressalta Bizzi *et al.* (2014) em estudo realizado.

Desta forma, a concentração de HNO_3 selecionada para otimizar os demais parâmetros desse estudo foi igual a 4,0 mol L^{-1}. Essa escolha foi baseada na obtenção do maior valor de concentração de Cd nos testes realizados.

Tabela 07. Estudo comparativo entre os diferentes procedimentos de digestão utilizando HNO_3 diluído*.

Pré-digestão**	HNO_3 (mol L^{-1})	H_2O_2 a 30%	Cd (ng g^{-1})
Sim	4,0	Não	7,4 ± 0,1
Sim	5,0	Não	7,2 ± 0,2
Sim	6,0	Não	23,1 ± 0,4
Sim	7,0	Não	18,8 ± 0,9
Sim	8,0	Não	27,0 ± 0,2
Não	4,0	Não	21,8 ± 0,9
Não	5,0	Não	29,7 ± 0,8
Não	6,0	Não	16,9 ± 0,4
Não	7,0	Não	21,2 ± 0,2
Não	8,0	Não	17,0 ± 0,1
Sim	4,0	Sim	21,3 ± 0,7
Sim	5,0	Sim	18,1 ± 0,4
Sim	6,0	Sim	16,0 ± 0,1
Sim	7,0	Sim	19,4 ± 0,9
Sim	8,0	Sim	7,9 ± 0,4
Não	2,0	Sim	2,8 ± 0,9
Não	3,0	Sim	23,5 ± 0,4
Não	4,0	Sim	59,8 ± 0,3
Não	5,0	Sim	26,7 ± 0,6
Não	6,0	Sim	19,5 ± 0,4
Não	7,0	Sim	15,3 ± 0,6
Não	8,0	Sim	4,1 ± 0,8

* Temperatura da digestão: 170 ^{o}C durante 4 horas.

** Pré-digestão: 14 horas.

5.3. Estudo do tempo de digestão e determinação da acidez residual das amostras de cenouras

O estudo do tempo de digestão foi realizado a partir de 4 ensaios com as mesmas amostras de cenouras nas condições definidas no item 4.5.3. Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 08.

Como pode ser observado o aumento do tempo da digestão influencia na concentração de Cd. Dessa forma, empregando-se um intervalo de tempo igual a 2 e 3 horas, a decomposição da amostra não se mostrou eficiente. A mesma conclusão pôde ser realizada ao fazer uso de um tempo equivalente a 5 horas, visto que houve uma redução na concentração de Cd determinada. Isso pode ser explicado pelo fato de que em temperaturas elevadas o Cd torna-se volátil.

O intervalo de tempo mais adequado para que o processo de digestão ácida ocorra foi avaliado em 4 horas. Krug (2008) cita que o melhor tempo de digestão é de aproximadamente 3 horas somado ainda ao tempo necessário para o aquecimento da mistura até uma temperatura em torno de 180 ^{o}C.

Tabela 08. Estudo do tempo da digestão ácida para amostras de cenouras*.

Tempo (h)	Cd (ng g^{-1})
2	34,4 ± 0,8
3	45,4 ± 0,7
4	60,0 ± 0,4
5	39,5 ± 0,8

* Concentração do HNO_3 4 mol L^{-1}, temperatura da digestão 170 ^{o}C.

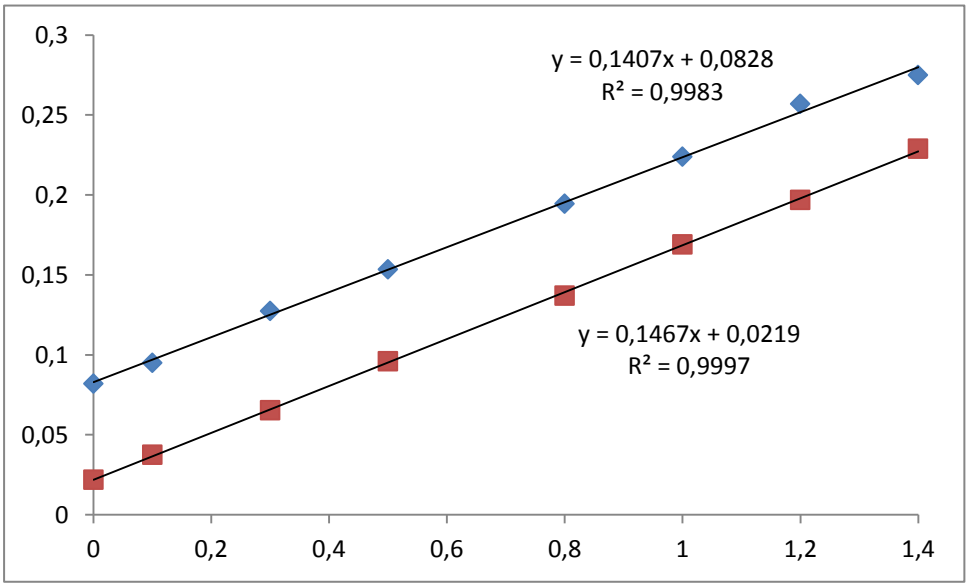
A acidez residual foi determinada a partir de 4 réplicas das amostras de cenouras nas condições definidas no item 4.5.3. Como 4,0 mol L^{-1} foi a concentração selecionada para otimização dos parâmetros deste estudo, as amostras obtidas no item 5.2. foram avaliadas com intuito de verificar se o uso do ácido diluído diminui a acidez residual das amostras. Os resultados encontrados mostraram que a acidez diminui significativamente, uma vez que os digeridos em um tempo de 4 horas e temperatura de 170 ºC obteve concentração ácida igual a 0,74 ± 0,04 mol L^{-1}.

5.5. Validação dos métodos analíticos

5.5.1. Linearidade e Efeito de Matriz

Para verificar a linearidade do método proposto foram preparadas curvas analíticas na faixa de 0,23 à 1,4 µg L^{-1} para o Cd. Como diluente uma solução de HNO_3 0,74 mol L^{-1} foi usada conforme a acidez da amostra. As curvas analíticas por padronização externa e por adição padrão apresentaram uma linearidade satisfatória com coeficiente de correlação superior a 0,99 como apresentado na Figura 05.

Figura 05. Curvas analíticas em meio aquoso (■) e por adição do analito (■) para determinação de Cd em amostras de cenouras com o modificador de paládio.



O efeito de matriz foi avaliado através da comparação e da razão entre os coeficientes angulares das curvas por padronização externa e por adição padrão. O valor encontrado 1,04 está próximo a 1,0 como descrito por Correia (2004), por isso a matriz não afeta o sinal analítico nem a precisão do método na faixa de concentração estudada. No entanto, para a comprovação do resultado o teste F (Snedecor) e o teste t (Student) ao nível de 95% de confiança também foram aplicados.

Esses testes foram realizados conforme descrito no Guia de Validação e Controle de Qualidade Analítica a partir das variâncias de 10 réplicas da solução

aquosa não matrizada e 4 réplicas das amostras matrizadas, as quais foram utilizadas para obtenção das curvas analíticas. O resultado de F calculado (1,23) foi menor que o F tabelado (8,1), também o t calculado (0,046) foi menor que t tabelado (2,18) indicando que as inclinações podem ser consideradas iguais. Esta avaliação comprova a ausência do efeito de matriz, uma vez que não houve diferença significativa entre as inclinações das curvas analíticas. Desta forma, o uso da padronização externa é conveniente para a determinação de Cd em amostras de cenouras.

5.5.2. Limites de detecção e quantificação

Os limites de detecção e de quantificação para a determinação de Cd em amostras de cenouras foram calculados com os parâmetros citados no item 4.10.2. A Tabela 09 compara os resultados obtidos para o Cd nesse estudo e em outros. Os valores encontrados foram similares aos estudos realizados por Silva *et al.* (2013) para a determinação de Cd em amostras de arroz utilizando o modificador de alumínio e por Oliveira *et al.* (2013) utilizando tungstênio como modificador para determinação de Cd em mandioca. Enquanto que Oliveira *et al.*, (2015) utilizou o titânio como modificador para determinação de Cd em batata.

Tabela 09. Limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) para diferentes estudos.

Amostra	LD (µg L^{-1})	LD (ng g^{-1})	LQ (µg L^{-1})	LQ (ng g^{-1})	Referência
Cenoura	0,08	8	0,23	23	Este trabalho
Arroz	0,09	1,80	0,30	6	Silva *et al.* (2013)
Batata	0,08	3,77	0,25	12,6	Oliveira *et al.* (2015)
Mandioca	0,02	1,12	0,07	3,74	Oliveira *et al.* (2013)

5.5.3. Precisão

A precisão do método proposto foi verificada de acordo com o item 4.10.3. e os resultados foram obtidos através do desvio padrão relativo (RSD %).

A repetitividade avaliada a partir de 7 medições sucessivas da amostra de cenoura teve valor igual a 9,72% e a concentração de Cd encontrada foi de 79,0 ± 0,8 ng g^{-1}. Já a precisão intermediária das amostras foi avaliada em diferentes períodos e os valores encontrados estão expressos na Tabela 10.

Tabela 10. Precisão intermediária para a determinação de Cd em amostras de cenouras.

Período	Concentração (ng g^{-1})	RSD (%)
01 dia	59,1 ± 0,2	3,34
30 dias	60,2 ± 0,3	5,54
60 dias	62,7 ± 0,5	7,28

Em métodos de análise de traços ou impurezas são aceitos RSD de até 20%, dependendo da complexidade da amostra (Ribani *et al.*, 2004). Como os resultados obtidos estão na faixa de 3,34 a 9,72% o método proposto mostrou-se preciso e adequado para a determinação de Cd em amostras de cenouras.

5.5.4. Exatidão

A exatidão do método desenvolvido foi verificada por meio da adição padrão para avaliar a recuperação. A Tabela 11 mostra que os resultados obtidos na recuperação apresentaram valores aceitáveis na faixa de 94,0 a 100,7% como citado por Ribani *et al.* (2004).

Tabela 11. Avaliação da exatidão através das recuperações obtidas para Cd em amostras de cenouras.

Concentração de Cd (ng g^{-1})		Rec (%)
Adicionada	Encontrada	
0,0	40,8 ± 0,2	---
50	89,3 ± 0,1	97,0
80	116,0 ± 0,1	94,0
120	161,6 ± 0,1	100,7

A análise do material de referência certificado de folhas de maçã (NIST SRM 1515 Apple leaves) e folhas de tomate (NIST SRM 1573a Tomato leaves) também foi verificada. A massa do material de referência foi pesada de forma que o valor encontrado estivesse na faixa da concentração estudada. As amostras foram preparadas em triplicata utilizando o procedimento desenvolvido e as mesmas condições otimizadas neste trabalho. Os valores das concentrações de Cd encontrados estão em concordância com os valores de referência, ainda assim foi aplicado o teste t ao nível de 95% de confiança para comprovar a exatidão do método. Conforme mostra a Tabela 12 os valores de t calculado foram menores que o t tabelado confirmando que não houve diferença significativa entre os resultados obtidos.

Tabela 12. Avaliação da exatidão através da determinação de Cd em material certificado.

Material certificado	Valor certificado ($mg\ Kg^{-1}$)	Valor obtido ($mg\ Kg^{-1}$)	$T_{calculado}$	$T_{tabelado}$
SRM 1515 Apple leaves	0,013 ± 0,002	0,012 ± 0,001	0,77	2,78
SRM 1573a Tomato leaves	1,52 ± 0,04	1,58 ± 0,44	0,069	2,78

5.5.5. Sensibilidade

Nos métodos que utilizam à técnica da GF AAS, a sensibilidade pode ser indicada pelos valores obtidos para a massa característica (m_o).

O método proposto para determinação de Cd em amostras de cenouras apresentou sensibilidade adequada, uma vez que a m_o determinada para um volume de 20 µL da amostra injetada no tubo de grafite foi igual a 0,48 pg. O valor encontrado é inferior àqueles obtidos na determinação de Cd utilizando outros modificadores, como pode ser visto na Tabela 13.

Tabela 13. Características analíticas para a determinação de Cd por GF AAS empregando diferentes modificadores.

Modificador	Pirólise (°C)	m_o (pg)	LD (ng g^{-1})	Referência
Pd	450	0,48	8	Este trabalho
Mo	600	1,50	30	Chaves, E. S., et al.,2010
Ir	600	1,30	20	Chaves, E. S., et al., 2010
Ru	600	1,30	20	Chaves, E. S., et al., 2010
Mo-Ir	700	1,10	10	Chaves, E. S., et al., 2010
Mo-Ru	700	1,10	10	Chaves, E. S., et al., 2010
Pd-Mg	800	2,10	50	Chaves, E. S., et al., 2010
V	550	1,30	11	Acar, O., 2005
Ir	600	1,20	7	Silva, P.T., et al., 2006
V-Ir	650	1,00	3	Silva, P.T., et al., 2006
V-Ru	650	1,00	4	Silva, P.T., et al., 2006
W-V	650	1,00	4	Silva, P.T., et al., 2006
W-Ir	700	0,90	0,6	Dos Santos, L. M. G., 2009
Pd	600	1,00	0,5	Chaves, E. S., et al., 2010
Pd-Mg	700	1,60	0,82	Korn, M. G. A., et al., 2010

5.6. Aplicação do método proposto

O método proposto para a determinação de Cd por GF AAS foi aplicado em amostras de cenouras adquiridas ao longo do ano de 2015 nas feiras livres dos bairros Centro, Jequiezinho e Joaquim Romão na cidade de Jequié, Bahia, Brasil. As cenouras das feiras de Caetité, Maracás e Vitória da Conquista também foram analisadas.

Os resultados para a concentração de Cd em amostras de cenouras cruas e cozidas das diferentes cidades são apresentados na Tabela 14.

Tabela 14. Concentração de Cd em amostras de cenouras das diferentes cidades.

Amostra	Procedência	Conc. (ng g^{-1}) cenoura crua	Conc. (ng g^{-1}) cenoura cozida
01	Jequié (Centro)	78,7 ± 0,7	54,2 ± 0,3
02	Jequié (Jequiezinho)	47,1 ± 0,5	42,6 ± 0,2
03	Jequié (Joaquim Romão)	48,0 ± 0,3	43,5 ± 0,6
04	Caetité	56,6 ± 0,4	48,1 ± 0,7
05	Maracás	37,9 ± 0,7	33,6 ± 0,9
06	Vitória da Conquista	30,7 ± 0,4	28,4 ± 0,4

De acordo com os valores obtidos a faixa de concentração de Cd nas amostras de cenouras cruas foi de 30,7 a 78,7 ng g^{-1} para uma média de 49,83 ng g^{-1}. Todos os resultados obtidos apresentaram-se acima do limite de quantificação.

Os resultados obtidos para as amostras de cenouras previamente cozidas demonstraram uma significativa redução de Cd, indicando uma perda de aproximadamente 15% em alguns casos. Esse fato pode ser explicado pela volatilização do Cd através do efeito da cocção ou pela extração desse elemento para a água de cozimento.

A contaminação das amostras de cenouras por Cd pode ser proveniente de várias fontes, dentre elas a poluição atmosférica, acumulação no solo, aplicação de fertilizantes, corretivos, agrotóxicos, água de irrigação e resíduos industriais.

Ainda assim, as concentrações encontradas não fornecem risco à saúde dos consumidores, uma vez que os valores obtidos são inferiores aos níveis de Cd em legumes permitido pelo Ministério da Saúde e pela ANVISA (100 ng g^{-1}).

6. CONCLUSÃO

O estudo dos modificadores de matriz mostrou que o Pd apresentou as melhores características para determinação de Cd em cenouras, visto que este modificador de matriz teve maior intensidade da absorvância integrada, absorvâncias reprodutíveis e sinal de fundo baixo e corrigido.

As decomposições realizadas com o HNO_3 diluído e H_2O_2 em bombas de alta pressão foram eficientes. Com isso as vantagens de trabalhar com sistema fechado e HNO_3 diluído são comprovadas e reforçadas, pois não há perdas por volatilização dos elementos e há redução das quantidades dos reagentes.

O melhor tempo de digestão para as amostras de cenouras foi de 4 horas e a acidez residual obtida nessas amostras diminuíram. Isso comprova que o uso do HNO_3 diluído torna os digeridos mais apropriados para análises espectrométricas.

A razão entre os coeficientes angulares das curvas por padronização externa e por adição padrão e os testes estatísticos mostraram que o efeito da matriz não foi significativo. Além disso, a curva analítica apresentou linearidade satisfatória com o coeficiente de correlação superior a 0,99.

A precisão intermediária, a repetitividade e a sensibilidade foram adequadas mostrando que o método desenvolvido pode ser utilizado para a determinação de Cd em amostras de cenouras.

A exatidão avaliada através da adição de diferentes concentrações de Cd nas amostras de cenouras apresentou valores aceitáveis de recuperação na faixa de 94,0 a 100,7%. A análise dos materiais de referência mediante a aplicação do teste t ao nível de 95% de confiança também comprovou a exatidão do método.

A aplicação do método proposto em amostras de cenouras de diferentes cidades do estado da Bahia mostrou que cenouras cruas tem maior concentração de Cd que as cenouras cozidas. Além disso, a concentração de Cd presente nas amostras de cenouras está abaixo dos níveis estabelecidos pelo Ministério da Saúde e pela ANVISA.

7. REFERÊNCIAS

Acar, O. **Evaluation of V, Ir, Ru, V–Ir, V–Ru, and W–V as permanent chemical modifiers for the determination of cadmium, lead, and zinc in botanic and biological slurries by electrothermal atomic absorption spectrometry.** Analytica Chimica Acta, v. 545, p. 244-251, 2005.

Agrawal, M.; Sharma, R. K.; Marshall, F. M. **Heavy metal (Cu, Zn, Cd and Pb) contamination of vegetables in urban India: A case study in Varanasi.** Environmental Pollution, v. 154, p. 254-263, 2008.

Akinyele, I.O.; Shokunbi, O.S**. Concentrations of Mn, Fe, Cu, Zn, Cr, Cd, Pb, Ni in selected Nigerian tubers, legumes and cereals and estimates of the adult daily intakes.** Food Chemistry, v. 173, p. 702-708, 2015.

Araujo, G. C.L.; Gonzalez, M. H.; Ferreira, A. G.; Nogueira, A. R. A; Nóbrega, J. A. **Effect of acid concentration on closed-vessel microwaveassisted digestion of plant materials**. Spectrochimica Acta Part B, v. 57, p. 2121-2132, 2002.

Arruda, M. A. Z.; Santelli, R. E. **Mecanização no preparo de amostras por microondas: O estado da arte.** Química Nova, v. 20, p. 6, 1997.

Azevedo, S. V.; Moreira, F. R.; Campos, R. C. **Direct determination of tin in whole blood and urine by G FAAS.** Clinical Biochemistry, v. 46, p. 123-127, 2013.

Baranski, R.; Kaul, A. M.; Nothnagel, T.; Cavagnaro, P. F.; Simon, P. W.; Grzebelus, D**. Genetic diversity of carrot (Daucus carota L.) cultivars revealed by analysis of SSR loci**. Genetic Resources and Crop Evolution, v. 59, p. 163-170, 2012.

Baird, C. Química Ambiental. 2ª ed. Porto Alegre: Bookman, p. 432, 2002.

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, v. 175, p. 212-217, 2015.

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, v. 99, p. 193-196, 2011.

Bizzi, C. A.; Flores, E. L. M.; Nóbrega, J. A.; Oliveira, J. S. S.; Schmidta, L.; Mortarid, S. R. **Evaluation of a digestion procedure based on the use of diluted nitric acid solutions and H2O2 for the multielement determination of whole milk poder and bovine liver by ICP-based techniques.** Journal Analytical Atomic Spectrometry, v. 29, 332-338, 2014.

Cassiano, N. M.; Barreiro, J. C.; Martins, L. R. R.; Oliveira, R. V.; Cass, Q. B. **Validação em métodos cromatográficos para análises de pequenas moléculas em matrizes biológicas.** Química Nova, v. 32, p. 1021-1030, 2009.

Castro, J. T.; Santos, E. C.; Santos, W. P. C.; Costa, L. M.; Korn, M.; Nobrega, 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, v. 78, p. 1378-1382, 2009.

CEPEA - Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada (ESALQ/USP) disponível em http://www.cepea.esalq.usp.br/. Acesso em 14 de junho de 2015.

Chaves, E. S.; Santos, E. J.; Saint'pierre, T. D.; Frescura, V. L. A.; Curtius, A. J. **Calibration techniques and modifiers for the determination of Cd, Pb and Tl in biodiesel as microemulsion by graphite furnace atomic absorption spectrometry.** Journal of the Brazilian Chemical Society, v. 21, p. 620-626, 2010.

Chen, Y.; Guo, Z.; Wang, X.; Qiu, C. **Sample preparation**. Journal of Chromatography A, v. 1184, p. 191-219, 2008.

Correia, P. R. M.; Oliveira, P. V.; Neto, J. A. G.; Nóbrega, J. A. **Silver as internal standard for simultaneous determination of Cd and Pb in whole blood by electrothermal atomic absorption spectrometry.** Journal of Analytical Atomic Spectrometry, v. 19, p. 917-922, 2004.

Dos Santos, L. M. G.; Araujo, R. G. O.; Welz, B.; Jacob, S. D. C.; M. Vale, G. R.; Becker-Ross, H**. Simultaneous determination of Cd and Fe in grain products using direct solid sampling and high-resolution continuum source electrothermal atomic absorption spectrometry.** Talanta, v. 78, p. 577-583, 2009.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária disponível em: http://www.cnph.embrapa.br/hortalicasnaweb/cenoura.html. Acesso em 22 de agosto de 2015.

EMBRAPA **-** Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, disponível em: http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Cenoura/Cenoura_Daucus_Carota/apresentacao.html. Acesso 22 de agosto de 2015.

Evangelista, J. **Alimentos: um estudo abrangente.** São Paulo: editora Atheneu, p. 289-291, 2005.

FAEP - Fundação de Amparo ao Ensino e Pesquisa, disponível em: http://www.faep.com.br/comissoes/frutas/cartilhas/hortalicas/cenoura.htm. Acesso em 25 de agosto de 2015.

FAO - Food and Agricultural Organization, disponível em: www.faostat.fao.org. Acesso em 09 de agosto de 2015.

Freschi, G. P. G.; Freschi, C . D.; Gomes Neto, J. A. **Evaluation of Ir, Ru and W as permanent modifiers for the simultaneous determination of As, Bi, Pb, Sb,**

and Se in natural water by electrothermal atomic absorption spectrometry. Atomic Spectroscopy, v. 27, p. 1-6, 2006.

Freschi, G. P. G.; Dakuzaku, C. S.; Neto, J. A. G.; Moraes, M. **Espectrometria de absorção atômica multielementar simultânea com atomização eletrotérmica em forno de grafite – uma revisão da técnica e aplicações.** Eclética Química, v. 25, p. 213-226, 2000.

Froes, R. E. F.; Windmöller, C. C.; Silva, J. B. B. **Emprego da modificação química permanente para a determinação de metais em matrizes diversas por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite.** Revista Analytica, p. 32-43, 2006.

Giinzler, H.; Williams, A. **Handbook of Analytical Techniques.** Wiley-VCH: Weinheim, 2001.

Gonzalez, M. H.; Souza, G. B.; Oliveira, R. V.; Forato, L. A.; Nóbrega, J. A.; Nogueira, A. R. A. **Microwave-assisted digestion procedures for biological samples with diluted nitric acid: Identification of reaction products.** Talanta, v. 79, p. 396-401, 2009.

Guia de Validação e Controle de Qualidade Analítica, disponível em: http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Laboratorio/Guia-de-validacaocontrole-de-qualidade-analitica.pdf. Acesso em 22 de outubro de 2015.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pof/2008_2009/POFpublicacao.pdf. Acesso em 12 de agosto de 2015.

Korn, M. G. A.; Dos Santos, G. L.; Rosa, S. M., Teixeira, L. S. G.; De Oliveira, P. V. **Determination of cadmium and lead in Cetacean Dolphinidae tissue from the coast of Bahia state in Brazil by GFAAS.** Microchemical Journal, v. 12, p. 96, 2010.

Krug, F. J. **Métodos de preparo de amostras: fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar.** 1ª ed., Piracicaba, p. 261-264; 308-309, 2008.

Lima, E. C.; Krug, F. J.; Jackson, K. W. **Evaluation of tungsten–rhodium coating on an integrated platform as a permanent chemical modifier for cadmium, lead, and selenium determination by electrothermal atomic absorption spectrometry.** Spectrochimica Acta Part B, v. 53, p. 1791-1804, 1998.

Luis, G.; Hernández, C.; Rubio, C.; González-Weller, D.; Gutiérrez, A.; Revert, C.; Hardisson, A.. **Trace elements and toxic metals in intensively produced tomatões (lycopersicom esculentum).** Nutrición Hospitalaria, v. 27, p. 1605-1609, 2012.

Luo, Y.; Zhang, H.; Song, J.; Zhang, H.; Xia, J.; Zhao, Q. **Predicting As, Cd and Pb uptake by rice and vegetables using field data from China.** Journal of Environmental Sciences, v. 23, p. 70-78, 2011.

Magna, G. A. M.; Machado, S. L.; Portella, R. B.; Carvalho, M. F. **Chumbo e cádmio detectados em alimentos vegetais e gramíneas no município de Santo Amaro-Bahia.** Química Nova, v. 36, p. 989-997, 2013.

Manning, D. C.; Slavin, W. **Determination of lead in a chloride matrix with the grafite furnace.** Analytical Chemistry, v. 50, p. 1234-1238, 1978.

Ministério da Saúde e ANVISA - Regulamento técnico MERCOSUL sobre limites máximos de contaminantes inorgânicos em alimentos. Resolução - RDC nº 42, de 29 de agosto de 2013.

Oliveira, E. **Sample Preparation for Atomic Spectroscopy: Evolution and Future Trends.** Journal Brazilian Chemical Society, v. 14, p. 174-182, 2003.

Oliveira, R. M.; Antunes, A. C.; Vieira, N. M. A.; Medina, A. L.; Ribeiro, A. S. **Evaluation of sample preparation methods for the determination of As, Cd,**

Pb, and Se in rice samples by GF AAS. Microchemical Journal, v. 124, p. 402-409, 2016.

Oliveira, R. F.; Windmöller, C. C.; Neto, W. b.; Beinner, M. A.; Silva, J. B. B. **Methods for the Determination of As, Cd, and Pb in Potato Slurry Using Multivariate Optimization and Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry.** Atomic Spectroscopy, v. 36, p. 273-285, 2015.

Oliveira, R. F.; Windmöller, C. C.; Neto, W. b.; Souza, C. C. ; Beinner, M. A.; Silva, J. B. B. **Determination of cadmium and lead in cassava employing slurry sampling and graphite furnace atomic absorption spectrometry after multivariate optimization.** Analytical Methods, v. 5, p. 5746, 2013.

Parengam, M.; Judprasong, K.; Srianujata, S.; Jittinandana, S.; Laoharojanaphand, S.; Busamongko, A. **Study of nutrients and toxic minerals in rice and legumes by instrumental nêutron activation analysis and graphite furnace atomic absorption spectrophotometry.** Journal of Food Composition and Analysis, v. 23, p. 340-345, 2010.

Ribani, M.; Bottoli, C. B. G.; Collins, C. H.; Jardim, I. C. S. F. **Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos.** Química Nova, v. 27, p. 771-780, 2004.

Ribeiro, A. S.; Arruda, M. A. Z.; Cadore, S. **Espectrometria de Absorção Atômica com Atomização Eletrotérmica em Filamento de Tungstênio. Uma Re-Visão Crítica.** Química Nova, v. 25, p. 396-405, 2002.

SamplePrep Web, disponível em: http://www.sampleprep.duq.edu/. Acesso em 10 de novembro de 2015.

Santos, C. E. **Anuário brasileiro de hortaliças 2015.** Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta Santa Cruz, 2015.

Seminis, disponível em: http://www.seminis.com/global/br/products/Pages/Cenoura.aspx. Acesso em 03 de dezembro de 2015.

Sharma, H. K.; Kaur, J.; Sarkar, B. C.; Singh, C.; Singh, B. **Effect of pretreatment conditions on physicochemical parameters of carrot juice.** International Journal of Food Science and Technology, v. 44, p. 19, 2009.

Sharma, K. D.; Karki S.; Thakur, N. S.; Attri, S. **Chemical composition, functional properties and processing of carrot - a review.** Journal Food Science Technology, v. 49, p. 22-32, 2012.

Silva, D. G.; Junior, M. M. S.; Silva, L. O. B.; Portugal, L. A.; Matos, G. D.; Ferreira, S. L. C. **Determination of cadmium in rice by electrothermal atomic absorption spectrometry using aluminum as permanent modifier.** Analytical Methods, v. 3, p. 2495, 2011.

Silva, P.T, Lopes, M. L. M.; Valente-Mesquita, V. L. **Efeito de diferentes processamentos sobre o teor de ácido ascórbico em suco de laranja utilizado na elaboração de bolo, pudim e geléia.** Cienc Tecnologic Aliments, v. 26, p. 678-82. 2006.

Skoog, D. A.; Holler, F. James; Nieman, T. A. **Princípios de Análise instrumental**. 5ª ed., Porto Alegre: Bookman, p. 197-198, 2002.

Stolarczyk, J.; Janick, J. **Carrot: History and Iconography.** Chronica Horticulturae, v. 51, 2011.

Salmon, S. G.; Davis Jr, R. H; Holcombe, J. A. **Time shifts and double peaks for lead caused by chemisorbed oxigen in electrothermally heated grafite atomizers.** Analytical Chemistry, v. 53, p. 324-330, 1981.

Temmerman, L.; Ruttens, A.; Waegeneers, N. **Impact of atmospheric deposition of As, Cd and Pb on their concentration in carrot and celeriac.** Environmental Pollution, v. 166, p. 187-195, 2012.

USDA - Departamento de Agricultura dos Estados Unidos, disponível em: www.ers.usda.gov/datafiles/veg-Carrots.xls. Acesso em 18 de setembro de 2015.

Vogel, A. I.; Mendham, J.; Denney, R. C.; Barnes, J. D.; Thomas, M. J. K. **Análise Química Quantitativa.** 6ª ed., Rio de Janeiro, LTC, p. 329-330, 2002.

WHO - World Health Organization, disponível em: http://www.who.int/ipcs/assessment/public_health/cadmium/en/. Acesso em 02 de dezembro de 2015.

WHO - World Health Organization, disponível em: http://www.who.int/ipcs/features/cadmium.pdf?ua=1. Acesso em 20 de março de 2016.

Welz, B.; Schlemmer, G.; Mudakavi, J. R. **Palladium nitrate-magnesium nitrate modifier, for graphite furnace atomic absorption spectrometry. Determination of arsenic, antimony, selenium and thallium in airborneparticulate matter.** Journal of Analytical Atomic Spectrometry, v. 2, p. 45-50, 1987.

Welz, B.; Sperling, M. **Atomic Absorption Spectrometry**. 3 Ed, Wiley-VHC, Germany, 1999.

Tsalev, D. L.; Slaveykova, V. I.; Lampugnani, L.; D"Ulivo, A.; Georgieva, R. **Permanent modification in electrothermal atomic absorption spectrometry - advances, anticipations and reality.** Spectrochimica Acta Part B, v. 55, p. 473-490, 2000.

Torok, Peter; Zemberyova, Maria. **Comparison of chemical modifiers for direct determination of Cd, Cu and Zn in food stuffs by solid-sampling-ETAAS.** Food Chemistry, v. 132, p. 554-560, 2012.

Zaccari, F.; Cabrera, M. C.; Ramos, A.; Saadoun, A. **In vitro bioaccessibility of b-carotene, Ca, Mg and Zn in landrace carrots (*Daucus carota, L.).*** Food Chemistry, v. 166, p. 365-371, 2015.