

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos
Programa de Pós-Graduação em Química



Dissertação de Mestrado

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS PARA A DETERMINAÇÃO DE
HALOGÊNIO E ENXOFRE EM GRÃOS**

Filipe Soares Rondan

PELOTAS, 2018

Filipe Soares Rondan

**DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS PARA A DETERMINAÇÃO DE
HALOGÊNIOS E ENXOFRE EM GRÃOS**

Dissertação de Mestrado
apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Química, da
Universidade Federal de Pelotas,
como requisito parcial para
obtenção do título de Mestre em
Química (Área: Química Analítica).

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Márcia Foster Mesko

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Paola de Azevedo Mello

PELOTAS, 2018

Dedico este trabalho aos meus pais, Alceu, Elza e Vidal, pela criação e ensinamentos que foram fundamentais para alcançar os meus objetivos.

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-Graduação em Química (PPGQ), da Universidade Federal de Pelotas, pela possibilidade de execução deste trabalho.

À Coordenação de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo financiamento da bolsa de mestrado.

À Prof^a. Dr^a. **Márcia Foster Mesko**, pela orientação e paciência, pela amizade construída e pelas oportunidades a mim concedidas, que me fizeram crescer pessoalmente e profissionalmente.

À Dr^a. **Carla de Andrade Hartwig**, pela amizade, pela participação na banca examinadora e pelas importantes sugestões para o aperfeiçoamento do trabalho.

Ao Prof. Dr. **Maurício de Oliveira**, pela participação na banca examinadora e pelas contribuições para o trabalho.

Ao Prof. Dr. **Érico Marlon de Moraes Flores**, coordenador do Laboratório de Análises Químicas Industriais e Ambientais (LAQIA, UFSM), por ter disponibilizado laboratórios, equipamentos e pessoal qualificado para a realização de experimentos. Ainda, aos integrantes do LAQIA, em especial à **Alessandra Schneider Henn**, pela realização dos experimentos de grande relevância neste trabalho, e ao **Rafael Francisco dos Santos** pela estadia em Santa Maria sempre que necessária.

Aos integrantes e ex-integrantes do Laboratório de Controle de Contaminantes em Biomateriais (LCCBio, UFPel), **Camila Pacheco**, **Diogo Novo**, **Fernanda Balbinot**, **Janaína Brum**, **Julia Mello**, **Luan Passos**, **Natália Bielemann**, **Priscila Scaglioni**, **Rodrigo Pereira**, **Tainá Oliveira** e **Vanize Costa**, pela amizade, colaboração e apoio prestados durante a realização deste trabalho. Em especial para meu grande amigo **Gilberto Coelho Junior** pelos mais de seis anos de irmandade dentro e fora da UFPel.

À **Djanira Maciel**, secretária do PPGQ, por toda prestatividade.

À minha família, em especial à minha mãe, **Elza Maria Soares Rondan**, por todo apoio, carinho, incentivo e compreensão; aos meus pais **Alceu Rondan** e **Vidal Rodrigues da Silva**, por todo cuidado, criação e ensinamentos, enquanto vivos; às minhas irmãs, **Ivana Soares Rondan Almeida** e **Paula Soares Rondan**, pela ajuda, carinho, incentivo e parceria desde sempre. À minha companheira **Camila de Oliveira Pacheco**, pelo companheirismo, compreensão, carinho, incentivo, paciência e apoio nos momentos mais difíceis. Também a todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

“Sabemos o que somos, mas não sabemos o que poderemos ser.”

(William Shakespeare)

RESUMO

Título: Desenvolvimento de métodos para a determinação de halogênios e enxofre em grãos

Autor: Filipe Soares Rondan

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Márcia Foster Mesko

Neste estudo, a combustão iniciada por micro-ondas (MIC) foi avaliada para o preparo de amostras de diferentes cereais e leguminosas (arroz, milho, trigo, feijão, lentilha e soja) visando a subsequente determinação de cloro e enxofre por cromatografia de íons (IC) e de bromo e iodo por espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS). Amostras provenientes de diferentes países (Alemanha, Brasil, Chile, EUA, Índia e Uruguai) foram utilizadas neste estudo. As amostras foram moídas e secas previamente aos estudos iniciais. Para tanto, alguns parâmetros como a massa de amostra e a solução absorvedora mais adequada (H_2O e NH_4OH 25, 50 ou 100 mmol L^{-1}) para os analitos e para as técnicas de determinação utilizadas foram avaliados. A massa de amostra otimizada para ambos métodos foi de 500 mg. Para o método desenvolvido visando à determinação de cloro e enxofre, água ultrapura foi escolhida como solução absorvedora, enquanto que para a determinação de bromo e iodo, NH_4OH 50 mmol L^{-1} se mostrou eficaz para esta finalidade. A avaliação da exatidão de ambos métodos foi realizada através de ensaios de recuperação, bem como através da utilização de materiais de referência com matriz semelhante às amostras. Assim, recuperações adequadas foram obtidas para todos os analitos avaliados (halogênios: 97 a 105% e enxofre: 98 a 109%) com desvios padrão relativos que foram sempre inferiores a 16%. Baixos limites de detecção (LODs) foram obtidos (Br: 0,012 mg kg^{-1} ; Cl: 9,2 mg kg^{-1} ; I: 0,006 mg kg^{-1} e S: 8,3 mg kg^{-1}). Nesse sentido, baixos limites de quantificação (LOQs) também foram obtidos (Br: 0,032 mg kg^{-1} ; Cl: 16,1 mg kg^{-1} ; I: 0,009 mg kg^{-1} e S: 16,5 mg kg^{-1}). As concentrações de bromo, cloro e enxofre variaram em uma ampla faixa (Br: 0,231 a 55,7 mg kg^{-1} ; Cl: 33 a 909 mg kg^{-1} ; S: 640 a 4990 mg kg^{-1}), enquanto as concentrações de iodo não apresentaram uma grande variação (0,005 a 0,031 mg kg^{-1}).

Palavras-chave: Cereais, leguminosas, MIC, IC, ICP-MS.

ABSTRACT

Title: Development of methods for the halogens and sulfur determination in grains

Author: Filipe Soares Rondan

Supervisor: Prof^a. Dr^a. Márcia Foster Mesko

In this study, the microwave-induced combustion (MIC) was evaluated for the sample preparation of different cereals and legumes (rice, maize, wheat, bean, lentil and soybean) and further chlorine and sulfur determination by ion chromatography (IC), and bromine and iodine by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). Samples from different countries (Germany, Brazil, Chile, USA, Indian and Uruguay) were decomposed in this study. The samples were ground and dried previous to the initial studies. For this, some parameters such as sample mass and the absorbing solution more suitable (H_2O and 25, 50 or 100 mmol L^{-1} NH_4OH) for the analytes and for the determination techniques were evaluated. For the developed method for chlorine and sulfur determination, ultrapure water was chosen as absorbing solution, while for bromine and iodine determination, 50 mmol L^{-1} NH_4OH was efficient for this purpose. The accuracy evaluation for both methods was carried out by recovery tests, as well as by the use of reference material with similar matrix to the samples. Thus, suitable recoveries were obtained for all evaluated analytes (halogens: 97 to 105% and sulfur: 98 to 109%) with relative standard deviations always less than 16%. Low limits of detection (LODs) were obtained (Br: 0.012 mg kg^{-1} ; Cl: 9.2 mg kg^{-1} ; I: 0.006 mg kg^{-1} e S: 8.3 mg kg^{-1}). In this sense, low limits of quantification (LOQs) were also obtained (Br: 0.032 mg kg^{-1} ; Cl: 16.1 mg kg^{-1} ; I: 0.009 mg kg^{-1} e S: 16.5 mg kg^{-1}). The bromine, chlorine and sulfur concentrations varied in a wide range (Br: 0.231 a 55.7 mg kg^{-1} ; Cl: 33 a 909 mg kg^{-1} ; S: 640 a 4990 mg kg^{-1}), while iodine concentrations did not present a wide variation (0.005 to 0.031 mg kg^{-1}).

Keywords: Cereals, legumes, MIC, IC, ICP-MS.

LISTA DE FIGURAS

		Página
Figura 1 -	Representação de um grão de trigo indicando as três principais partes de um cereal	20
Figura 2 -	Representação de uma semente de soja indicando as três principais partes de uma leguminosa	20
Figura 3 -	Sequência operacional em um frasco de Schöniger. Fonte: KRUG; ROCHA, 2016	28
Figura 4 -	Representação esquemática de uma bomba de combustão. Fonte: KRUG; ROCHA, 2016	30
Figura 5 -	Suportes de quartzo utilizados no procedimento de MIC: a) suporte não comercial e b) suporte comercial.	32
Figura 6 -	Sistema utilizado para o preparo das amostras de cereais e leguminosas: A) forno de micro-ondas Multiwave 3000®; B) rotor equipado com oito frascos e C) frasco de quartzo e dispositivo de quartzo para MIC (adaptado de Microwave Reaction System: Multiwave 3000®)	38
Figura 7 -	Invólucro contendo 500 mg de arroz	42
Figura 8 -	Aspectos das soluções após a decomposição por MIC de diferentes massas de milho, utilizando água como solução absorvedora: (a) 900 mg (aspecto límpido – adequado) e (b) 1000 mg (aspecto amarelado – não adequado)	51
Figura 9 -	Recuperações de cloro (■) e enxofre (■) obtidas por IC em ensaios realizados a partir da decomposição de 500 mg de amostras variadas por MIC, utilizando água ultrapura como solução absorvedora (n=3)	54
Figura 10 -	Recuperações de bromo (■) e iodo (■) obtidas por ICP-MS em ensaios realizados a partir da decomposição de 500 mg de amostras variadas por MIC, utilizando NH ₄ OH 50 mmol L ⁻¹ como solução absorvedora (n=3)	57

LISTA DE TABELAS

		Página
Tabela 1 -	Parâmetros operacionais para a determinação de cloro e enxofre por IC	44
Tabela 2 -	Parâmetros operacionais para a determinação de bromo e iodo por ICP-MS	45
Tabela 3 -	Massa máxima de amostra eficientemente decomposta por MIC e composição majoritária dos cereais e leguminosas informada nos rótulos dos produtos	50
Tabela 4 -	Concentrações de cloro e enxofre em grãos obtidas por IC após a decomposição por MIC utilizando diferentes soluções absorvedoras (média \pm desvio padrão, n=3)	53
Tabela 5 -	Concentrações de bromo e iodo em diferentes grãos obtidas por ICP-MS após a decomposição por MIC utilizando diferentes soluções absorvedoras (média \pm desvio padrão, n=3)	56
Tabela 6 -	Concentrações de cloro e enxofre em diversas espécies e subgrupos de cereais e leguminosas provenientes de diferentes países, determinadas por IC após decomposição por MIC (média \pm desvio padrão, n=3)	60
Tabela 7 -	Estimativa da quantidade das amostras avaliadas que precisaria ser ingerida para suprir a ingestão diária recomendada para cloro e enxofre	64
Tabela 8 -	Concentrações de bromo e iodo em diversas espécies e subgrupos de cereais e leguminosas provenientes de diferentes países, determinadas por ICP-MS após decomposição por MIC (média \pm desvio padrão, n=3)	66

Tabela 9 -	Estimativa da quantidade das amostras que precisaria ser ingerida para suprir a ingestão diária recomendada para bromo e iodo	70
Tabela 10 -	Comparação entre os resultados obtidos para cloro e enxofre em cereais e leguminosas reportados na literatura e os obtidos neste trabalho	72
Tabela 11 -	Comparação entre os resultados obtidos para bromo e iodo em cereais e leguminosas reportados na literatura e os obtidos neste trabalho	75
Tabela 12 -	Comparação entre os limites de detecção obtidos para bromo, cloro, iodo e enxofre em cereais e leguminosas reportados na literatura e os obtidos neste trabalho	78

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

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

EUA – Estados Unidos da América

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IC – Cromatografia de íons, do inglês *ion chromatography*

ICCIDD – Conselho Internacional do Controle de Desordens de Deficiência de Iodo, do inglês *International Council for the Control of Iodine Deficiency Disorders*

ICP OES – Espectrometria de emissão óptica, do inglês *inductively coupled plasma optical emission spectrometry*

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

INAA – Análise por ativação com nêutrons instrumental, do inglês *instrumental neutron activation analysis*

INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia

IR – Infravermelho, do inglês *infrared*

LDPE – Polietileno de baixa densidade, do inglês *low-density polyethylene*

LOD – Limite de detecção, do inglês *limit of detection*

LOQ – Limite de quantificação, do inglês *limit of quantification*

MIC – Combustão iniciada por micro-ondas, do inglês *microwave-induced combustion*

NIST – Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia, do inglês *National Institute of Standards and Technology*

PTFE – Politetrafluoretileno

RM – Material de referência, do inglês *reference material*

RSD – Desvio padrão relativo, do inglês *relative standard deviation*

SD – Desvio padrão, do inglês *standard deviation*

UNICEF – Fundo das Nações Unidas para a Infância, do inglês *The United Nations Children's Fund*

UV-Vis – Ultravioleta e visível

WHO – Organização Mundial da Saúde, do inglês *World Health Organization*

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE TABELAS.....	x
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	xii
1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
2.1 CEREAIS E LEGUMINOSAS.....	19
2.2 HALOGÊNIOS E ENXOFRE.....	21
2.3 PREPARO DE AMOSTRAS	25
2.3.1 Preparo de amostra para a posterior determinação de halogênios e enxofre	26
2.3.2 Métodos de combustão em sistema fechado	27
2.4 TÉCNICAS PARA A DETERMINAÇÃO DE HALOGÊNIOS E DE ENXOFRE	33
3 MATERIAIS E MÉTODOS	36
3.2 REAGENTES.....	39
3.3 PROCEDIMENTOS DE DESCONTAMINAÇÃO	40
3.4 DESCARTE DE ÁCIDOS UTILIZADOS PARA DESCONTAMINAÇÃO	41
3.5 AMOSTRAS.....	41
3.6 COMBUSTÃO INICIADA POR MICRO-ONDAS (MIC)	42
3.6.1 Avaliação da massa de amostra e da solução absorvedora	43
3.7 DETERMINAÇÃO DE CLORO E ENXOFRE POR IC.....	44
3.8 DETERMINAÇÃO DE BROMO E IODO POR ICP-MS	44
3.9 PARÂMETROS DE MÉRITO	45
3.9.1 Limite de detecção	45
3.9.2 Limite de quantificação	46
3.9.3 Avaliação da exatidão	46
3.9.3 Avaliação da precisão	47
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
4.1.1 Avaliação da massa máxima de amostra	49
4.1.2 Escolha da solução absorvedora	52
4.1.3 Avaliação da exatidão	57
4.2 APLICAÇÃO DOS MÉTODOS.....	59
4.2.1 Determinação de cloro e enxofre em cereais e leguminosas	59
4.2.2 Determinação de bromo e iodo em cereais e leguminosas	65
4.3 COMPARAÇÃO ENTRE OS RESULTADOS OBTIDOS E OUTROS ESTUDOS.....	71

5	CONCLUSÃO.....	79
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	80

1 INTRODUÇÃO

Os primeiros indícios do cultivo de plantas datam da era pré-histórica, na época neolítica (cerca de 10000 a.C.). Neste período, houve uma transição da dependência do homem pela caça de animais mais acessíveis e pela colheita de alimentos disponíveis no ambiente, para a dependência da agricultura. Esta transição é conhecida como revolução neolítica ou revolução agrícola. A revolução agrícola é um marco na história humana, uma vez que a partir dela, foi observado um aumento das populações (MAZOYER; ROUDART, 2010).

Dentre os principais cultivos em nível mundial, grande parte é proveniente dos cereais, seguido pelo cultivo de leguminosas. Cereais e leguminosas são importantes tanto para a economia mundial, como para processos industriais, produção de combustível e, principalmente, para alimentação humana e animal (WRIGLEY et al., 2016). Estes alimentos estão na dieta de mais da metade da população, sendo consumidos em diferentes formas como, por exemplo, *in natura*, bolos, farinhas, pães, bebidas alcóolicas, etc. Nesse sentido, cabe ressaltar que grãos em geral apresentam características diferentes em relação às quantidades de nutrientes, como vitaminas, proteínas, carboidratos, fibras, ácidos graxos e minerais. Assim, em muitos países em desenvolvimento, os cereais e leguminosas são consumidos como principal fonte alimentar, a fim de suprir as necessidades dos nutrientes citados, principalmente de carboidratos e proteínas, uma vez que nesses países, o consumo de carnes, para pessoas de classe baixa, é muitas vezes difícil devido ao elevado custo (BROUGHTON et al., 2003).

Ainda, é válido destacar que alguns estudos mostram que o consumo de grãos integrais ajuda no combate e/ou prevenção de algumas doenças, como doenças do coração, diabetes e alguns tipos de câncer (SLAVIN, 2000; MONTONEN et al., 2003; TOPPING, 2007; SHARMA; SHEEHY; KOLONEL, 2013). Por outro lado, deve ser mencionado que durante o cultivo desses alimentos, fertilizantes e agrotóxicos são utilizados, a fim de evitar perdas da produção e assim, atender à elevada demanda do consumo desses alimentos. Assim, os produtos químicos utilizados durante o cultivo, bem como a composição do solo onde ocorre o cultivo podem disponibilizar elementos

essenciais para o crescimento das plantas, e como consequência, serem repassados para os consumidores (seres humanos e animais). Entretanto, dependendo da concentração destes elementos presente nos grãos, estes podem atuar de forma benéfica aos consumidores, ou de forma danosa, quando os limites máximos dessas concentrações são extrapolados. Dentre os elementos que podem migrar do solo, bem como dos agrotóxicos para os grãos, podem ser citados os halogênios e o enxofre.

Apesar de não existir legislação limitando as concentrações desses elementos em alimentos, é de extrema importância o desenvolvimento de métodos quantitativos que possibilitem a determinação de halogênios e enxofre, tendo em vista a grande relevância da investigação elementar em grãos, levando em conta o elevado consumo desses alimentos. Nesse sentido, técnicas instrumentais sensíveis para a determinação desses elementos em baixas concentrações em amostras diversas têm sido utilizadas. Dentre estas, técnicas cromatográficas, como a cromatografia de íons (IC) bem como técnicas espectrométricas, como a espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) geralmente são utilizadas (HARTWIG et al., 2014; COSTA et al., 2015; COELHO JUNIOR et al., 2017). Para tanto, a maioria das técnicas analíticas de determinação, como as citadas, geralmente necessitam que seja realizada uma prévia etapa de preparo de amostra, a fim de eliminar a matriz da amostra, e assim obter uma solução que contenha os analitos e seja adequada à técnica de determinação.

No que diz respeito aos métodos de preparo de amostras para estes tipos de matrizes, geralmente são utilizados os métodos de digestão por via seca e via úmida ácida. Entretanto, a utilização destes métodos pode acarretar na perda de halogênios e de enxofre devido à formação de suas respectivas formas voláteis (HX, X₂, SO₂ e SO₃). Além disso, o uso de soluções ácidas pode causar interferências, como efeitos de memória (determinação por ICP-MS) e sobreposição de picos (determinação por IC) durante a etapa de determinação, bem como danos aos equipamentos utilizados (ANTES et al., 2012; MELLO et al., 2013).

Nesse sentido, um método que apresenta características que suprimem as possíveis desvantagens citadas é a combustão iniciada por micro-ondas (MIC), uma vez que este permite a eliminação total da matéria orgânica. Além

disso, este método não necessita do uso de ácidos, e o procedimento é realizado em um sistema fechado, portanto, os riscos de perdas por volatilização são minimizados e os digeridos obtidos ao final do procedimento são compatíveis com diversas técnicas de determinação, dentre elas, a IC e a ICP-MS (FLORES et al., 2008).

Assim, este trabalho teve por objetivo o desenvolvimento de métodos que possibilitassem a determinação de bromo (Br), cloro (Cl), iodo (I) e enxofre (S) em variadas espécies e subgrupos de cereais e de leguminosas. Para isso, foi avaliada a decomposição das amostras utilizando o método de MIC e posterior análise por IC e ICP-MS.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Esta revisão bibliográfica está dividida em quatro partes principais. Na primeira delas, são abordados alguns aspectos gerais dos cereais e leguminosas, relacionados à evolução da agricultura, produção, composição química e principais utilizações. Na segunda parte, são discutidos alguns aspectos gerais sobre os halogênios e enxofre, principalmente quanto às suas funções fisiológicas e à necessidade de determinação das concentrações destes elementos em alimentos. Em uma terceira parte, é feita uma breve descrição sobre os métodos de preparo de amostras empregados para a determinação de halogênios e enxofre, sendo dada maior atenção àqueles que poderiam ser aplicados para o preparo das amostras utilizadas neste trabalho. Na quarta e última parte, são abordados aspectos relacionados à determinação de bromo, cloro, iodo e enxofre por IC e/ou ICP-MS.

2.1 CEREAIS E LEGUMINOSAS

O termo grão é derivado do latim *granum*, que significa semente. São considerados grãos aqueles gerados por plantas que produzem sementes pequenas, duras e secas ou frutas utilizadas para alimentação humana ou de animais domesticados, ou como produto processado para fins alimentares ou industriais. Nesse sentido, as plantas que produzem grãos úteis para os fins mencionados evoluíram durante o passar do tempo em diferentes famílias. Cabe salientar que os grãos de cereais são formados de uma fruta inteira (cariopse), enquanto que outros grãos, como as leguminosas são formados por sementes secas (WRIGLEY et al., 2016).

Os cereais pertencem à família das Gramíneas, que é composta basicamente de arroz, milho, trigo, aveia, cevada e sorgo. Estes grãos contêm macronutrientes requeridos pelo organismo humano para o crescimento e desenvolvimento, como proteínas, lipídios e principalmente carboidratos. Assim, os cereais contribuem com aproximadamente 70% do total de calorias necessárias para o ser humano. Além disso, os cereais fornecem também importantes vitaminas, minerais e micronutrientes, que são essenciais para uma alimentação saudável (WRIGLEY et al., 2016).

Para uma melhor compreensão em relação à estrutura de um grão de cereal, na Figura 1 é apresentada a estrutura de um grão de trigo, onde pode ser observado os três principais tecidos: o embrião (ou germe), o endosperma e a camada de aleurona em torno do endosperma. A partir da Figura 1, pode ser observado que a maior porção do grão é o endosperma, o qual é composto majoritariamente de amido. Sendo assim, os cereais são compostos principalmente de carboidratos (60 a 70%) e proteínas (10 a 15%) (WRIGLEY et al., 2016).

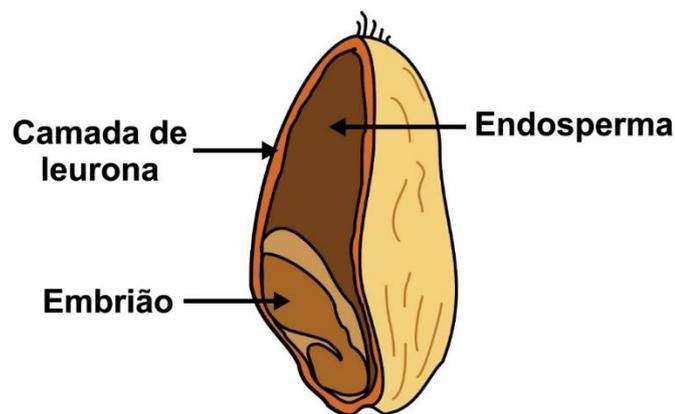


Figura 1. Representação de um grão de trigo indicando as três principais partes de um cereal.

Por outro lado, as leguminosas pertencem à família Leguminosae (ou Fabaceae), a qual é composta por mais de 13000 espécies. Embora existam tantas espécies, apenas algumas são amplamente cultivadas mundialmente, como a soja, o amendoim, o feijão, a ervilha, o feijão-fava, o grão de bico e a lentilha. Estes alimentos são muito conhecidos pelo alto teor de proteínas contido em suas sementes. Na Figura 2 é apresentada a estrutura de uma semente de soja, a qual também é dividida em três partes principais: o tegumento da semente, o embrião e o endosperma. Nesse sentido, em geral as leguminosas apresentam um teor de proteínas entre 15 e 45%, com exceção de algumas sojas que apresentam mais de 50% de proteína. Ao passo que o conteúdo de carboidratos varia entre 24 e 68% e, esta porção é inversamente relacionada com o teor de lipídios (WRIGLEY et al., 2016; DE RON, 2015).

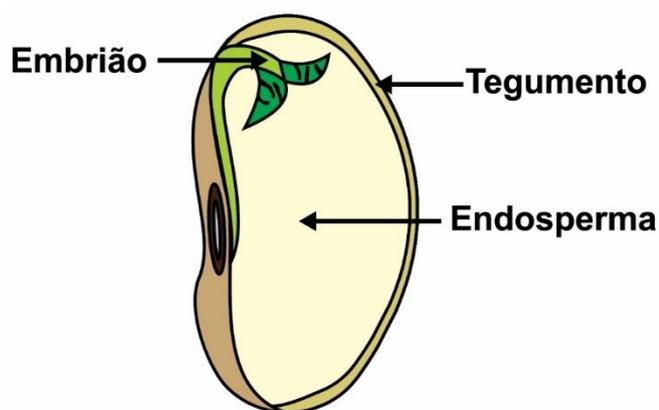


Figura 2. Representação de uma semente de soja indicando as três principais partes de uma leguminosa.

Cabe ressaltar que os cereais e leguminosas representam mais da metade dos alimentos consumidos pelos seres humanos em nível mundial e, também, são considerados como uma das principais fontes de carboidratos, proteínas e minerais a partir da alimentação. No Brasil, estes alimentos além de serem de grande importância para a alimentação da população, são também importantes para a economia do país, uma vez que a agropecuária representa cerca de 20% do PIB nacional, dos quais 16% são provenientes de atividades agrícolas como, por exemplo, o cultivo de grãos (PORTAL PLANALTO, 2015). Nesse sentido, o estado do Rio Grande do Sul é o terceiro principal estado que contribui para a produção destes alimentos, sendo esta contribuição nos últimos anos de aproximadamente 15% da produção nacional (IBGE, 2013, 2014, 2015, 2016, 2017).

É importante destacar que durante o cultivo de grãos, o uso de fertilizantes e agrotóxicos é bastante comum, uma vez que estes auxiliam na redução de perdas e, conseqüentemente, em uma produção adequada capaz de atender à crescente demanda por esses alimentos. Os agentes químicos muitas vezes apresentam em suas fórmulas elementos essenciais para o crescimento das plantas, como os halogênios e o enxofre. Entretanto, o uso excessivo de agrotóxicos pode resultar no acúmulo e elevadas concentrações destes elementos nos grãos, o que pode causar malefícios à saúde. Apesar disso, são poucos os trabalhos que relatam a determinação de halogênios e/ou enxofre em grãos. Além disso, os métodos utilizados apresentam uma série de desvantagens que os tornam praticamente inutilizáveis em laboratórios para a análise de rotina (BALAJI et al., 2000; MIYAMOTO et al., 2000; AL-DAYEL et al., 2002; NYARKO et al., 2006; SINGH et al., 2006; LAURSEN et al., 2009; ANTOINE et al., 2012; LAOHAROJANAPHAND et al., 2012; WANG & LI, 2012; BARBOSA et al., 2013; KONGSRI et al., 2016).

2.2 HALOGÊNIOS E ENXOFRE

Diversos elementos podem estar presentes em alimentos de forma natural e/ou devido a atividades antropogênicas. A ingestão de alimentos que contenham halogênios e enxofre em concentrações adequadas pode ser

benéfica para a saúde, pois esses elementos desempenham diversas e importantes funções para um bom funcionamento do metabolismo.

O bromo, por exemplo, está presente em diversos alimentos, como alimentos marinhos, nozes, grãos, entre outros (KOHLMEIER, 2003). Cabe destacar que, embora o bromo esteja presente naturalmente nos alimentos, alguns compostos comumente adicionados durante processos industriais podem contribuir para o aumento da concentração deste elemento.

Apesar do bromo não ter um mecanismo de ação muito conhecido, alguns autores relatam que dependendo da sua forma química, pode apresentar efeito carcinogênico, acarretando na formação de células tumorais em diferentes órgãos (VOBECKY et al., 1996; DEANGELO et al., 1998; DELKER et al., 2006). Ainda, alguns autores relatam que a presença de bromo no organismo pode interferir no transporte de iodo para a glândula tireoide, causando um decréscimo na produção de hormônios tireoidianos (VOBECKY et al., 1996; FAO/WHO, 2004). Por outro lado, McCall e colaboradores (2014) realizaram um estudo em que demonstram a essencialidade do bromo para o organismo humano, o qual atua como cofator na formação oxidativa de ligações cruzadas de sulfilimina, durante a formação do colágeno tipo IV. Este procedimento é fundamental para a produção de tecidos no corpo humano (MCCALL et al., 2014).

Ainda, a deficiência de bromo no organismo pode acarretar em malefícios à saúde, como insônia e retardo no crescimento (KOHLMEIER et al., 2003). Em contrapartida, o excesso de bromo encontra-se relacionado a dores de cabeça, broncoespasmos, distúrbios gastrointestinais e fadiga. Nesse sentido, Van Dokkum e colaboradores (1989) relatam que a ingestão de doses de 8 mg dia^{-1} de Br parece ser adequada para jovens e adultos, enquanto que a Organização Mundial da Saúde (WHO) recomenda uma ingestão diária de bromo de 4 mg kg^{-1} de peso corporal, para que não haja prejuízo para o organismo (VAN DOKKUM et al., 1989; WHO, 2009).

Por sua vez, o cloro atua na manutenção da pressão osmótica, bem como no equilíbrio ácido-base, mantendo o pH sanguíneo em valores adequados. Entretanto, quando ingerido em excesso, o cloro pode acarretar em alguns distúrbios, como hipertensão, acidose metabólica e cefaleia. Ademais, este elemento quando ingerido na forma de compostos

organoclorados, pode causar problemas no neurodesenvolvimento do cérebro (RIBAS-FITÓ et al., 2003).

Nesse sentido, uma vez que o cloro também é ingerido na forma de sal, este elemento está presente em diversos alimentos, como frutas, pescados, produtos lácteos, grãos, etc. De acordo com o *Institute of Medicine of the National Academies*, dos Estados Unidos da América (EUA), a concentração média de cloro que deve ser ingerida para manter um bom funcionamento do organismo é cerca de 2300 mg dia⁻¹, para adultos com idades entre 19 e 50 anos (OTTEN; HELLWIG; MEYERS, 2006).

O iodo, assim como o bromo, também está presente em alimentos marinhos, como peixes, mariscos, e também em sal iodado e algumas plantas. Este elemento é essencial para o organismo humano, uma vez que, na glândula tireoide, participa da síntese dos hormônios triiodotironina (T3) e tiroxina (T4), os quais são responsáveis pelo crescimento e desenvolvimento dos seres humanos (ECKHOFF; MAAGE, 1997; KOHLMEIER, 2003; ROMARIS-HORTAS et al., 2011). Nesse sentido, distúrbios devido à deficiência de iodo podem ser observados em todas as fases de desenvolvimento. Assim, estes são mais severos em fetos, recém-nascidos e crianças, tendo em vista que se encontram em fases de desenvolvimento rápido. A deficiência de iodo no organismo pode levar a distúrbios, como bócio endêmico, infertilidade, aborto, cretinismo endêmico, retardo mental, problemas neuromusculares, nanismo, mortalidade infantil, entre outros (ROSE et al., 2001, KOHLMEIER, 2003; CRESSEY, 2003).

Devido à carência da ingestão de alimentos que contenham iodo pela grande maioria da população, bem como os malefícios de sua deficiência no organismo, medidas governamentais foram adotadas. Nesse sentido, o iodo na forma de sal foi adicionado no sal de cozinha, visando o acesso deste elemento para toda a população.

Embora a ingestão deste elemento proporcione diversos benefícios para o organismo, a ingestão em excesso acarreta em hipertireoidismo e bócio endêmico (WHO, 1996). Assim, órgãos como a WHO, o Fundo das Nações Unidas para a Infância (UNICEF) e o *International Council for the Control of Iodine Deficiency Disorders* (ICCIDD), recomendam uma ingestão diária de iodo de 90 µg para crianças e de 150 µg para adolescentes e adultos,

enquanto que para lactantes e gestantes, a ingestão recomendada é de 200 µg (WHO, 2007; COZZOLINO, 2012).

Com relação ao enxofre, assim como os halogênios anteriormente citados, este é um elemento essencial para o organismo humano, desempenhando um papel importante no metabolismo. Sua atuação está diretamente relacionada à síntese de proteínas, carboidratos, gorduras e algumas vitaminas. Uma dieta contendo quantidades variadas de carne, lácteos, peixes, ovos, cereais, leguminosas e vegetais pode ser considerada uma fonte ideal de enxofre para o organismo, uma vez que são alimentos ricos em proteínas (COZZOLINO, 2012). Além desses alimentos, bebidas como sucos, vinhos e cervejas podem também ser fontes de enxofre. Assim, tendo em vista a ampla variedade de alimentos que são fontes deste elemento, geralmente a maioria das pessoas consome quantidades adequadas de proteínas, que são capazes de fornecer a quantidade necessária de enxofre para manter o bom funcionamento do organismo (BLAKE; MUNOZ; VOLPE, 2009).

Diferente dos halogênios citados, não existem recomendações de ingestão diária de enxofre. Contudo, alguns autores relatam que, baseado na ingestão recomendada de proteínas, a quantidade de enxofre que deve ser ingerida diariamente é de 850 mg. Também é importante mencionar que compostos contendo enxofre têm sido relacionados com a colite ulcerativa (OTTEN; HELLWIG; MEYERS, 2006).

Nesse contexto, a obtenção de informações acerca de bromo, cloro, iodo e enxofre em alimentos é de extrema importância e necessidade, com vistas à manutenção de uma dieta equilibrada, baseada nos limites recomendados de ingestão para estes elementos, uma vez que estes alimentos (grãos) são amplamente consumidos em nível mundial. Além disso, esta avaliação é importante levando em consideração que cloro, bromo, iodo e enxofre estão presentes em diversos alimentos e, desta forma, podem suprir as necessidades do organismo para as diferentes funções citadas, como também desenvolver doenças, se ingeridos em concentrações inadequadas.

Assim, existem alguns trabalhos na literatura que realizaram a determinação destes elementos em diversos alimentos, como pães, produtos cárneos, peixes, ovos, mel, farinha de trigo, bebidas, entre outros alimentos

(ROSE et al., 2001; MESKO et al., 2014; HARTWIG et al., 2014; COSTA et al., 2015; COELHO JUNIOR et al., 2017). Com relação à determinação de bromo, cloro, iodo e enxofre em cereais e leguminosas, existem poucos trabalhos relatados na literatura com esse intuito. Ademais, os trabalhos que existem, geralmente utilizam métodos de preparo de amostras que necessitam da utilização de ácidos concentrados e/ou empregam técnicas de determinação pouco acessíveis e de alto custo (SOLIMAN; ZIKOVSKY, 1999; BALAJI et al., 2000; MIYAMOTO et al., 2000; AL-DAYEL et al., 2002; NYARKO et al., 2006; SINGH; GARG, 2006; LAURSEN et al., 2009; ANTOINE et al., 2012; LAOHAROJANAPHAND et al., 2012; WANG; LI, 2012; BARBOSA et al., 2013; KONGSRI et al., 2016).

2.3 PREPARO DE AMOSTRAS

A etapa de preparo de amostras, na maioria das vezes é necessária previamente à etapa de determinação, uma vez que a maioria das técnicas de determinação necessita que a amostra seja convertida em uma solução compatível com estas, e que contenha os analitos disponíveis para serem determinados (BARNES; SANTOS JÚNIOR; KRUG, 2014). Nesse sentido, cabe salientar que não existe um método de preparo universal para todas as amostras e que, durante a escolha do método de preparo a ser utilizado, alguns fatores devem ser considerados, como a matriz da amostra, o analito que se pretende determinar, bem como também a técnica de determinação a ser utilizada (KRUG; NÓBREGA, 2016).

Desta forma, a etapa de preparo de amostras é considerada a etapa principal durante a sequência analítica, tendo em vista que é durante o preparo que podem ocorrer os principais erros, relacionados à contaminação e à perda dos analitos, os quais podem acarretar em resultados inexatos, comprometendo toda a análise. Além disso, geralmente esta etapa requer um maior tempo e maior custo. Nesse contexto, considerando o avanço tecnológico com relação às técnicas analíticas, faz-se necessário também o desenvolvimento de novos métodos que possibilitem a determinação de elementos em concentrações cada vez menores e em diferentes matrizes (KRATOCHVIL, 2003).

2.3.1 Preparo de amostra para a posterior determinação de halogênios e enxofre

Tendo em vista que a determinação de não metais em alimentos tem grande relevância, é necessário o desenvolvimento de métodos adequados para este fim. Nesse sentido, o preparo de amostras visando a posterior determinação de não metais, principalmente de halogênios, é considerado um desafio, pois durante o preparo podem ocorrer contaminações, bem como perda dos analitos. Além disso, a maioria dos métodos de preparo envolve a utilização de ácidos para a decomposição de amostras, como por exemplo, cereais e leguminosas e assim, podem promover a formação de espécies voláteis desses elementos, as quais podem ser perdidas durante o preparo (ANTES et al., 2012). Ainda, o uso de ácidos concentrados, geralmente, torna necessária a realização de uma etapa de diluição previamente às determinações, a fim de diminuir a acidez do meio, reduzindo a possibilidade da ocorrência de problemas de incompatibilidade com a técnica de determinação (MELLO et al., 2013). Esta etapa de diluição é necessária, por exemplo, quando se pretende utilizar a cromatografia de íons (IC), técnica amplamente utilizada para a determinação de halogênios e enxofre.

Assim, a fim de evitar ou minimizar a ocorrência dos problemas mencionados, é abordada na literatura a utilização de alguns parâmetros alternativos durante o preparo das amostras, como o uso de sistemas fechados, o uso de soluções alcalinas, bem como métodos que garantam a total decomposição da amostra, como métodos de combustão (FLORES et al., 2004; NÓBREGA et al., 2006). Os métodos de decomposição que envolvem a combustão podem ser classificados em sistemas abertos, sistemas fechados ou sistemas dinâmicos. Dentre os métodos que utilizam sistemas fechados, pode-se citar o frasco de Schöniger, a bomba de combustão e a MIC, os quais são os mais indicados quando se pretende realizar a posterior determinação de não metais (FLORES et al., 2007).

Diante disso, nesta revisão, serão abordados mais detalhadamente os métodos de combustão que empregam sistemas fechados, em especial a MIC,

uma vez que este método foi utilizado durante o desenvolvimento deste trabalho.

2.3.2 Métodos de combustão em sistema fechado

2.3.2.1 Frasco de Schöniger

Os estudos iniciais que posteriormente deram origem ao frasco de combustão de Schöniger foram primeiramente desenvolvidos em 1892 para a realização de macro análises. Porém, em 1955, Schöniger adaptou a ideia inicial a fim de decompor amostras orgânicas e biológicas visando posterior determinação de analitos em baixas concentrações (SCHÖNIGER, 1955). O método baseia-se na decomposição da amostra (envolvida em um papel) no interior de um frasco fechado, preenchido com oxigênio e com uma solução absorvedora. Para melhor compreensão do método, na Figura 3 é demonstrada a sequência operacional utilizada para a decomposição de uma amostra.

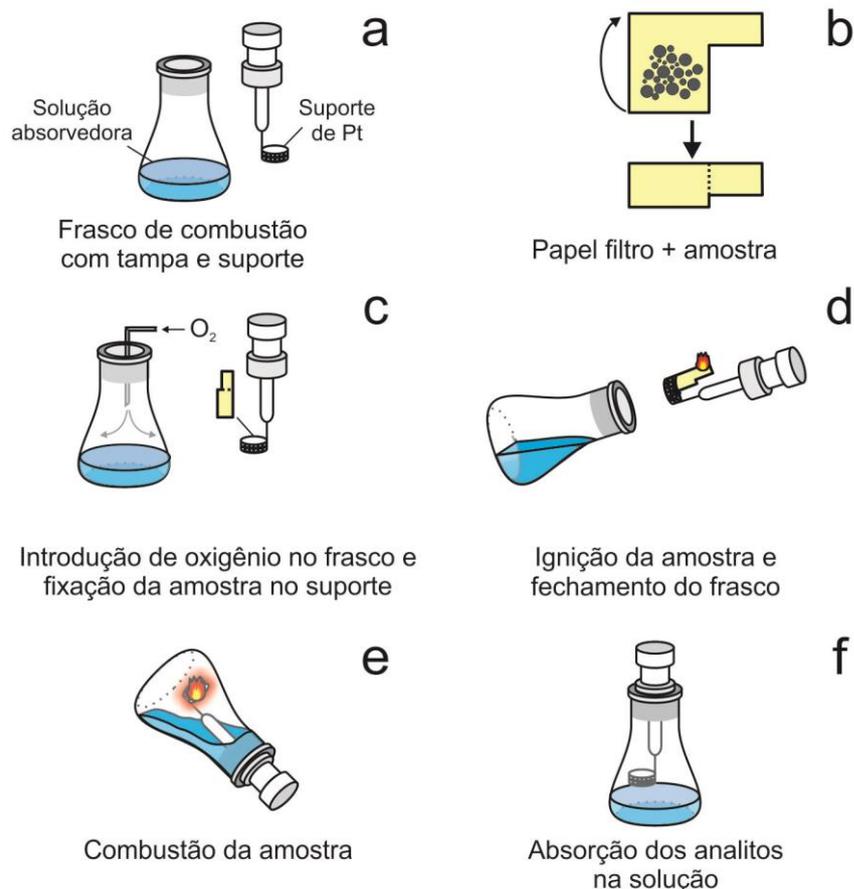


Figura 3. Sequência operacional em um frasco de Schöniger. Fonte: KRUG; ROCHA, 2016

Inicialmente, a solução absorvedora (geralmente soluções ácidas ou alcalinas diluídas) é adicionada ao frasco de combustão em um volume adequado. A amostra é pesada, envolvida em papel filtro com baixo teor de cinzas, de forma que fique uma saliência de papel e então é disposta em um suporte de platina (Pt), o qual está ligado a tampa do frasco. Em seguida, o ar presente no frasco é expulso com a adição de oxigênio gasoso, a fim de deixar a atmosfera do frasco majoritariamente composta de oxigênio. Imediatamente, a saliência do papel filtro é ascendida, a fim de dar ignição a combustão e a amostra é inserida no frasco, ao mesmo tempo em que este é tampado. Cabe salientar que a ignição da combustão também pode ser realizada através de eletricidade, bem como a partir da utilização de lâmpadas de emissão na região do infravermelho.

Após a ignição da combustão e fechamento do frasco, este é invertido com o intuito de a própria solução absorvedora realizar a vedação da tampa. Após o fim da combustão da amostra, espera-se o resfriamento do frasco e é realizada a agitação, a fim de garantir a total absorção dos analitos, bem como a dissolução das cinzas remanescentes. Por fim, o frasco é aberto e é feita a coleta do digerido.

Geralmente, frascos erlenmeyers são utilizados neste método e o volume destes varia de acordo com a massa de amostra a ser decomposta. Por exemplo, para decompor uma massa de amostra de 100 mg, é necessário utilizar um frasco com volume de 1000 mL (FLORES et al., 2007).

Como vantagens deste método, podem ser citados a rápida combustão das amostras que ocorre entre 5 e 15 s, o baixo risco de perdas e contaminação por se tratar de um sistema fechado, bem como a simplicidade do método. Além disso, o custo dos materiais é relativamente baixo e pode ser montado em qualquer laboratório. Entretanto, as desvantagens deste método são, principalmente, a utilização de pequenas massas de amostra dificulta a determinação de elementos em nível de traço, e a frequência analítica, a qual é afetada pela possibilidade de decompor apenas uma amostra por frasco.

Este método é utilizado para a decomposição de diversos tipos de amostras, incluindo amostras biológicas, polímeros, compostos orgânicos, bem como plantas, visando a posterior determinação de metais e não metais, incluindo os halogênios e o enxofre (FLORES et al., 2007; FLORES et al., 2016). Entretanto não existem relatos na literatura do emprego desta técnica para a decomposição de cereais e leguminosas visando à posterior determinação destes elementos.

2.3.2.2 Bomba de combustão

A decomposição de amostras utilizando esse método ocorre em um frasco, confeccionado em aço, com excesso de oxigênio, onde os produtos de combustão gerados são absorvidos em uma solução absorvedora. Na Figura 4 são apresentados os principais componentes de uma bomba de combustão.

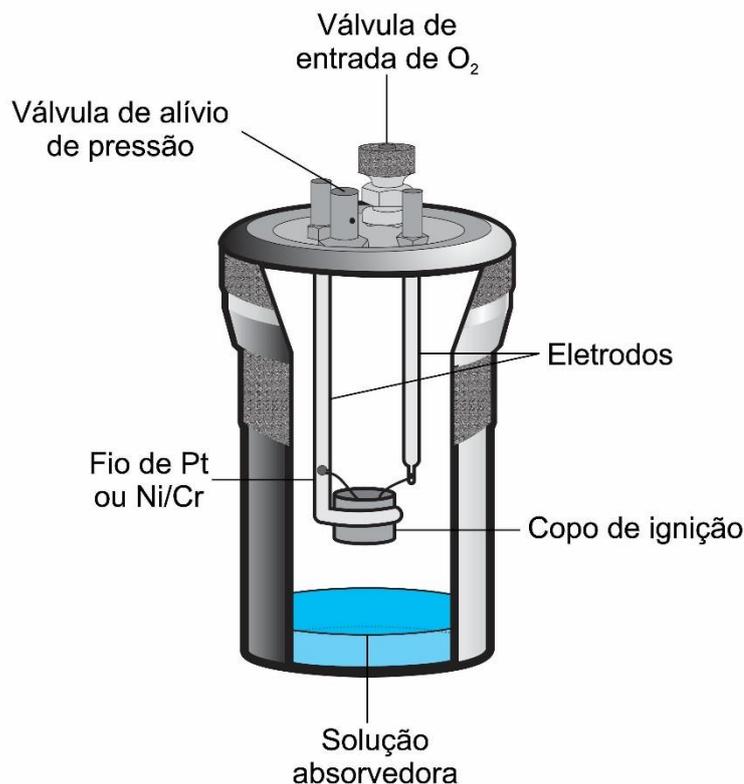


Figura 4. Representação esquemática de uma bomba de combustão. Fonte: KRUG; ROCHA, 2016.

Neste sistema, a amostra (geralmente na forma de comprimido) é posicionada no copo de ignição, o qual fica em contato com dois eletrodos de Pt que são responsáveis pela ignição da combustão. Previamente a decomposição, são adicionados de 5 a 15 mL de solução absorvedora ao frasco de aço, que geralmente tem volume de 300 mL. Após a adição da solução, a bomba é fechada e preenchida com oxigênio, com pressões que variam de 20 a 30 atm. A ignição da combustão é realizada a partir do contato elétrico dos eletrodos com a amostra. Após a decomposição da amostra, que ocorre em poucos minutos, ocorre o resfriamento do frasco que pode ser acelerado pela imersão da bomba de combustão em água ou em banho de gelo. Por fim, a bomba é aberta e a solução absorvedora contendo os analitos é recolhida para posterior determinação.

Desta forma, a principal vantagem deste método está relacionada à possibilidade de decompor massas de amostra relativamente altas (geralmente superiores a 500 mg). Além disso, os teores de carbono residual são

extremamente baixos quando comparados aos sistemas de decomposição por via úmida. Por outro lado, a composição do frasco impossibilita a determinação de alguns metais. Além disso, a descontaminação do sistema com ácido também é prejudicada devido a sua composição. Ademais, assim como o frasco de Schöniger, a frequência analítica da bomba de combustão é uma desvantagem, considerando que para decompor apenas uma amostra, pode levar de 2 a 3 horas, considerando a etapa de resfriamento.

Com relação a aplicações, a bomba de combustão foi utilizada visando à posterior determinação de halogênios e/ou enxofre em diferentes matrizes, como materiais biológicos, brinquedos, embalagens, carvão, combustíveis, farelo de milho, petróleo, entre outros (FLORES et al., 2007). Todavia, com exceção do trabalho de Souza e colaboradores (2002) o qual avaliou um material de referência certificado (CRM) de farelo de milho, não foram encontradas outras aplicações da bomba de combustão para o preparo de amostras para futura avaliação das concentrações de halogênios e enxofre em cereais e leguminosas (SOUZA et al., 2002).

2.3.2.3 Combustão iniciada por micro-ondas

O método de combustão iniciada por micro-ondas (MIC) foi proposto por Flores e colaboradores (2004) com o intuito de unir as vantagens da digestão por via úmida, do aquecimento por radiação micro-ondas e da combustão em sistemas fechados, como os métodos citados nos itens 2.3.2.1 e 2.3.2.2. Na MIC, a decomposição das amostras ocorre sobre suportes de quartzo, no interior de frascos de quartzo fechados, preenchidos com uma solução absorvedora e pressurizados com oxigênio. A ignição da combustão ocorre a partir da interação da radiação micro-ondas com uma solução oxidante presente em um papel filtro disposto entre o suporte e a amostra. Durante a combustão das amostras, temperaturas acima de 1000 °C são atingidas, o que garante a conversão de praticamente toda matéria orgânica em gás carbônico e água (FLORES et al., 2004).

Durante a combustão da amostra, os analitos são absorvidos por uma solução adequada. Após a etapa de combustão, pode ser utilizada uma etapa de refluxo a fim de absorver os analitos aderidos nas paredes dos frascos e

nos suportes, com o objetivo de promover uma recuperação quantitativa dos analitos. Por fim, após o resfriamento dos frascos, as amostras são coletadas para futura análise (FLORES et al., 2004).

Neste sistema, as amostras em pó, em grânulos e demais amostras sólidas e prensáveis são inseridas geralmente na forma de comprimido, enquanto amostras semissólidas ou líquidas são inseridas em cápsulas ou envolvidas em filmes de polietileno de baixa densidade (LDPE), na forma de invólucros (PEREIRA et al., 2008; COSTA et al., 2015). Estas, são inseridas sobre a base de um suporte de quartzo, contendo um disco de papel filtro previamente umedecido com 50 μL de solução nitrato de amônio na concentração de 6 mol L^{-1} , a qual atua como solução ignitora da combustão. Com relação aos suportes de quartzo utilizados durante este procedimento, existem dois modelos. O modelo representado na Figura 5a fica suspenso na parte superior do frasco, enquanto o modelo representado na Figura 5b fica disposto no fundo do frasco, sustentado pela haste situada na parte inferior do suporte.

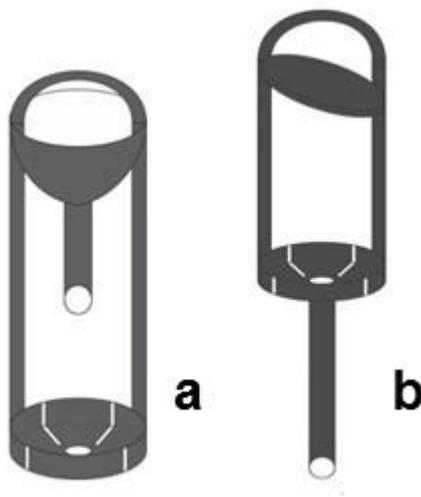


Figura 5. Suportes de quartzo utilizados no procedimento de MIC: a) suporte não comercial e b) suporte comercial.

Apesar dos dois modelos serem utilizados com o mesmo intuito durante o método de MIC, o modelo da Figura 5a é mais adequado para este procedimento, uma vez que este apresenta um funil na parte superior que permite que ocorra a lavagem, durante o refluxo, da base do suporte onde fica

disposta a amostra. Além disso, o funil também atua como protetor da tampa do frasco, evitando que a chama produzida durante a combustão atinja a tampa.

Com relação às vantagens apresentadas por este método, podem ser citadas a obtenção de baixos valores de brancos analíticos; a elevada frequência de análise, uma vez que em torno de 25 minutos é possível realizar o preparo de 8 amostras; a utilização de materiais inertes (quartzo e politetrafluoretileno – PTFE), o que possibilita o preparo de amostras visando a posterior determinação de metais e não-metais. Ademais, este método utiliza frascos que suportam altas temperaturas e pressões, além de permitir um mínimo consumo de reagentes, visto que é possível realizar o procedimento utilizando apenas 6 mL de solução, a qual pode ser escolhida de acordo com os elementos a serem determinados.

As vantagens citadas vão ao encontro do que é necessário para realizar a determinação de halogênios, pois trata-se de um sistema fechado e permite a utilização de água ou soluções alcalinas, que são recomendadas para a absorção desses analitos, uma vez que não formam espécies voláteis (NÓBREGA et al., 2006). Nesse sentido, o método de MIC tem sido aplicado para o preparo de diferentes tipos de amostras visando à posterior determinação de halogênios e/ou enxofre, como camarão, algas marinhas, ração animal, ovos, mel, coque de petróleo, nanotubos de carbono, leite em pó, farelo de milho, fígado bovino, entre outros (HARTWIG et al., 2014; COSTA et al., 2015; CRIZEL et al., 2015; MESKO et al., 2016; COELHO JUNIOR et al., 2017). No entanto, este método ainda não foi avaliado para a decomposição de diversas espécies e subgrupos de cereais e leguminosas.

2.4 TÉCNICAS PARA A DETERMINAÇÃO DE HALOGÊNIOS E DE ENXOFRE

Muitas técnicas analíticas vêm sendo empregadas para a determinação de halogênios e enxofre e, para selecionar a técnica a ser aplicada, alguns fatores devem ser levados em consideração, como o tipo de amostra, o método de preparo empregado, a concentração do analito a ser determinado, bem como a disponibilidade de equipamentos (KNAPP et al., 1998; VARGA, 2007).

Dentre as técnicas empregadas para a determinação desses elementos, pode-se citar a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES), a espectrofotometria de absorção molecular na região do ultravioleta e visível (UV-Vis), a espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS), a análise por ativação com nêutrons instrumental (INAA), a cromatografia de íons (IC), as técnicas potenciométricas, bem como os métodos titrimétricos e gravimétricos (MELLO et al., 2013).

A cromatografia de íons quando comparada a técnicas espectrométricas, apresenta um baixo custo no que diz respeito a aquisição e manutenção do equipamento, bem como quanto as análises, visto que não é necessária a utilização de gases durante esta etapa (MELLO et al., 2013). Em contrapartida, quando pretende-se realizar a determinação de bromo e iodo em baixas concentrações, em alguns casos a IC pode não ter sensibilidade adequada para este fim. Nesse sentido, a ICP-MS torna-se uma alternativa, visto que esta tem sido muito utilizada para a determinação destes analitos, apresentando seletividade e sensibilidade adequadas, além de baixos limites de detecção (KNAPP et al., 1998).

Todavia, apesar das técnicas mencionadas apresentarem uma série de vantagens, ambas são passíveis de interferência durante as análises. A IC, por exemplo, quando utilizada com detectores de condutividade, sofre interferências devido a presença de alguns íons que apresentam elevada condutividade, como o sódio. Desta forma a presença deste elemento impossibilita a quantificação de outros íons quando estes estão em baixas concentrações. Para tanto, este problema pode ser contornado a partir da utilização de um sistema de supressão, o qual faz a troca de íons presentes tanto no eluente como nas amostras por espécies que contribuam para uma condutância relativamente baixa ou nula (COLLINS; BRAGA; BONATO, 2006; EITH et al., 2007). Além disso, a presença de compostos orgânicos não decompostos pode também causar interferências durante as análises, como por exemplo, a sobreposição de picos (TORALLES et al., 2015).

Com relação às limitações da ICP-MS, pode ser citada a possibilidade da ocorrência de interferências poliatômicas no plasma, o que pode levar a resultados inexatos. Nesse sentido, especial atenção deve ser dada a determinação de halogênios e enxofre, uma vez que estes elementos podem

sofrer estes tipos de interferências (JARVIS; GRAY; HOUSE, 1992; MARTÍNEZ-SIERRA et al., 2015). Além disso, a presença de um elevado teor de carbono nas soluções analisadas pode ocasionar interferências na ionização dos analitos, bem como provocar o acúmulo deste elemento na interface do equipamento, resultando em prejuízos a sensibilidade durante as análises. Isso ocorre devido à alta energia necessária para atomizar moléculas orgânicas, o que acarreta na diminuição de energia para a ionização dos elementos, provocando assim a diminuição da intensidade dos sinais obtidos para alguns analitos, como por exemplo, o iodo, uma vez que este elemento apresenta uma alta energia de ionização (GRINDLAY et al., 2013). Assim, se evidencia a necessidade da utilização de métodos de preparo eficientes no que diz respeito à decomposição da matéria orgânica.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Neste capítulo são descritos os equipamentos, os reagentes e as amostras utilizadas para o desenvolvimento deste trabalho, bem como os procedimentos empregados para o preparo e análise das amostras. O método de preparo de amostra avaliado para a subsequente determinação de bromo, cloro, iodo e enxofre por IC e de bromo e iodo por ICP-MS em cereais e leguminosas foi a combustão iniciada por micro-ondas (MIC). No procedimento de decomposição por MIC, foram avaliadas as massas máximas de amostras que poderiam ser utilizadas sem o risco de um aumento excessivo de pressão durante as etapas de combustão. Adicionalmente, foram avaliadas diferentes soluções absorvedoras, com o intuito de selecionar a solução mais adequada para absorver os analitos.

3.1 INSTRUMENTAÇÃO

Para o preparo das amostras de cereais e leguminosas avaliados neste estudo, foi utilizado um forno micro-ondas (modelo Multiwave 3000[®], Anton Paar, Áustria) equipado com um rotor que permite utilizar até oito frascos, dispondo de sensores que permitem medir, em tempo real, a pressão média dos frascos. Além disso, o forno micro-ondas, através de um sensor de infravermelho (IR) é capaz de medir a temperatura individual de cada frasco através de fendas contidas no rotor e capas dos frascos. Durante este trabalho, frascos de quartzo foram utilizados, os quais apresentam volume interno de 80 mL e suportam pressão e temperatura máxima de 80 bar e 300 °C, respectivamente. Estes frascos foram utilizados uma vez que são necessários para a aplicação do método empregado durante este estudo.

Para realizar as decomposições das amostras por MIC, além dos frascos, é necessária também a utilização de dispositivos de quartzo, que servem como suportes para as amostras, para que estas não entrem em contato com a solução utilizada. Para tanto, estes dispositivos foram inseridos no interior de cada frasco. As condições máximas de temperatura, pressão e potência de operações fixadas no programa no forno micro-ondas utilizado para a decomposição das amostras por MIC foram, respectivamente, 280 °C, 80 bar e 1400 W. Para melhor entendimento acerca do sistema de decomposição utilizado, na Figura 6 são ilustrados todos os componentes utilizados no sistema.

Durante os procedimentos de descontaminação de filmes de polietileno de baixa densidade (KL Embalagens, Brasil) e de papéis filtro (C40, Unifil, Alemanha), empregados para filtragem de amostras e também como auxiliares durante o procedimento de combustão, um banho ultrassônico com frequência de 40 kHz (modelo USC – 2800 A, Unique, Brasil) foi utilizado. A degaseificação dos eluentes utilizados para a determinação dos analitos por cromatografia de íons também foi realizada utilizando o banho ultrassônico. A secagem dos materiais utilizados durante os procedimentos de preparo das amostras, como papéis filtro, filmes de polietileno e outros materiais que não podiam ser secos em estufa, foi realizada em uma capela de fluxo laminar classe 100 (modelo CSLH-12, Veco, Brasil). Os reagentes sólidos, vidrarias em geral e as amostras foram secas em estufa convencional (modelo 400/2ND, De Leo, Brasil).

Para o enxágue de vidrarias e materiais descontaminados, bem como para o preparo de soluções, foi utilizado água ultrapura obtida através de um purificador de água (modelo Mega Up, Megapurity, Coréia do Sul). Para a medição de massas de reagentes e amostras, uma balança analítica (modelo AY220, Marte, Brasil) com carga máxima de 220 g e resolução de 0,0001 g foi utilizada.

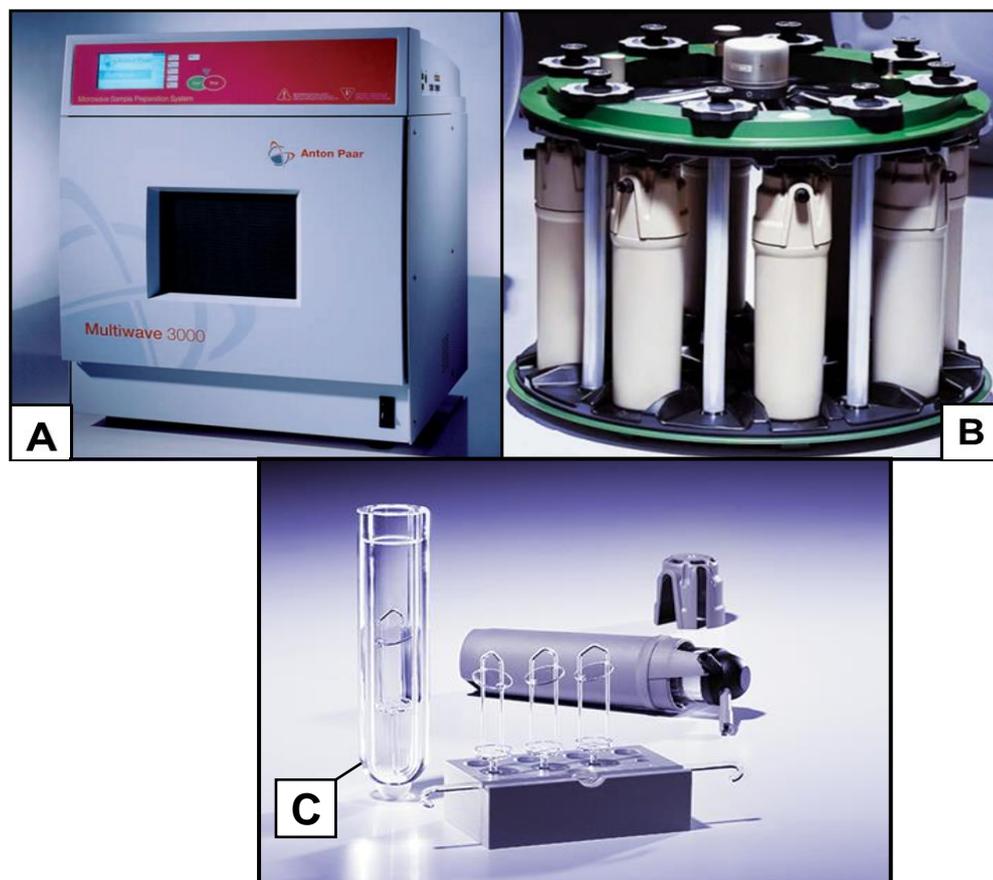


Figura 6. Sistema utilizado para o preparo das amostras de cereais e leguminosas: A) forno de micro-ondas Multiwave 3000®; B) rotor equipado com oito frascos e C) frasco de quartzo e dispositivo de quartzo para MIC (adaptado de *Microwave Reaction System: Multiwave 3000®*).

A determinação de cloro e enxofre nas amostras foi efetuada em um cromatógrafo de íons (modelo 861 Advanced Compact IC, Metrohm, Suíça) com detector de condutividade. Para a separação dos analitos no sistema cromatográfico, utilizou-se uma coluna de troca aniônica composta de álcool polivinílico com grupos de amônio quaternário, com comprimento e diâmetro de 250 x 4 mm e diâmetro de partícula de 5 µm (modelo Metrosep A Supp 5, Metrohm) e

uma pré-coluna com comprimento e diâmetro de 5 x 4 mm, composta do mesmo material de preenchimento da coluna (modelo Metrosep A Supp 5, Metrohm).

A determinação de bromo e iodo foi realizada em um espectrômetro de massa com plasma indutivamente acoplado (modelo NexION 300X, PerkinElmer, Canadá), equipado com uma câmara de nebulização do tipo ciclônica (Glass Expansion, Inc., Austrália), e uma tocha de quartzo (Glass Expansion, Inc.) com um tubo injetor também de quartzo (2 mm d.i.). A otimização dos parâmetros instrumentais utilizados para as determinações foi feita de acordo com as recomendações do fabricante.

Todos os resultados foram estatisticamente avaliados pela análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste de Tukey ou teste t de *Student* (com nível de confiança de 95%) utilizando o software GraphPad InStat versão 3.00 (GraphPad, San Diego, EUA).

3.2 REAGENTES

Todas as soluções foram preparadas utilizando água ultrapura (18,3 MΩ cm). Adicionalmente, todos os reagentes utilizados neste trabalho eram de grau analítico ou apresentavam elevada pureza.

As soluções de ácido nítrico (HNO₃, 10% v/v) foram utilizadas para a descontaminação de materiais em geral. Este mesmo reagente, em sua forma concentrada, foi utilizado para a descontaminação do sistema do forno micro-ondas, foram preparados a partir de HNO₃ p.a. 65% (m/m, Neon, Brasil). Além disso, uma solução de nitrato de amônio (NH₄NO₃, 6 mol L⁻¹), utilizada como solução iniciadora de combustão durante o procedimento de combustão para o preparo das amostras, foi preparada a partir da dissolução do sal correspondente (Merck) em água ultrapura. Para a pressurização dos frascos de quartzo utilizados para o preparo das amostras por MIC, foi utilizado oxigênio com pureza de 99,6% (White Martins, Brasil).

Soluções de hidróxido de amônio, utilizadas como solução absorvedora durante as avaliações, foram preparadas a partir da diluição de uma solução concentrada (27% m/m de NH₃ em água, Synth, Brasil). Para as determinações por IC, as soluções de calibração de Br⁻, Cl⁻, I⁻ e de SO₄²⁻ foram preparadas pela diluição de soluções estoque padrão (1000 mg L⁻¹) em água ultrapura. Por sua vez, as

soluções estoques padrão foram preparadas pela dissolução dos sais de cloreto de potássio (KCl, Merk), brometo de potássio (KBr, Merk), iodeto de potássio (KI, Merk) e sulfato de sódio (Na_2SO_4 , Merk) em água ultrapura. A partir destas soluções, também foram preparadas as soluções utilizadas para realizar os ensaios de recuperação durante a avaliação das soluções absorvedoras. A fase móvel utilizada durante as determinações por IC foi uma solução de mistura de sais (carbonato de sódio $3,2 \text{ mmol L}^{-1}$ e bicarbonato de sódio $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$), a qual foi preparada a partir da dissolução dos respectivos sais (Merk). Ainda, como solução regeneradora, foi utilizado ácido sulfúrico 200 mmol L^{-1} , o qual foi preparado a partir da diluição do ácido concentrado (Proquímios, Brasil). Para as determinações por ICP-MS, as soluções de calibração de Br e I foram preparadas pela diluição de soluções estoque padrão em NH_4OH 10 mmol L^{-1} . Estas soluções foram preparadas a partir da respectiva dissolução dos sais KBr (Merk) e KI (Merk) em água ultrapura. Estas mesmas soluções foram também utilizadas nas avaliações de recuperações realizadas durante a escolha da solução absorvedora.

Para os procedimentos de descontaminação de vidrarias e materiais utilizados durante este trabalho, foi utilizada uma solução de 10% (v/v) de HNO_3 , que foi preparada a partir da diluição do ácido concentrado (Vetec, Brasil). Além disso, álcool etílico absoluto (Vetec) foi utilizado em alguns procedimentos de descontaminação.

3.3 PROCEDIMENTOS DE DESCONTAMINAÇÃO

Os materiais comumente utilizados no laboratório, bem como as vidrarias utilizadas foram descontaminadas por imersão em HNO_3 10% (v/v), por um período de 24 horas. Por outro lado, os papéis filtro utilizados para a filtragem de soluções, bem como os utilizados como auxiliares durante o processo de combustão, foram descontaminados por imersão em HNO_3 10% (v/v) por 10 min, seguido por imersão em álcool etílico 20% (v/v) por 20 min, ambos em banho ultrassônico, a temperatura ambiente. Este mesmo procedimento foi aplicado aos filmes LDPE utilizados para envolver as amostras durante o processo de decomposição por MIC. Após os procedimentos de descontaminação, todos os materiais foram lavados com água ultrapura e secos em capela de fluxo laminar.

Todos os componentes utilizados no sistema de MIC, como frascos e dispositivos de quartzo, bem como as tampas de PTFE, foram descontaminados com 6 mL de HNO₃ concentrado, sob aquecimento em forno de micro-ondas. O programa de irradiação micro-ondas utilizado nesse procedimento consistiu no aquecimento da solução a 1400 W por 10 min seguido de uma etapa de resfriamento (0 W por 20 min). Após isso, este mesmo procedimento foi repetido, utilizando 6 mL de água ultrapura como solução.

3.4 DESCARTE DE ÁCIDOS UTILIZADOS PARA DESCONTAMINAÇÃO

O ácido nítrico utilizado para a descontaminação de materiais, bem como do sistema de decomposição foi neutralizado com hidróxido de sódio (Synth), até atingir potencial hidrogeniônico (pH) igual a 7. Após a neutralização dos resíduos, estes foram destinados à coleta de resíduos da Universidade Federal de Pelotas.

3.5 AMOSTRAS

Inicialmente, 34 amostras de cereais (arroz, milho e trigo) e leguminosas (feijão, lentilha e soja) foram adquiridas em diferentes países, como Alemanha, Brasil, Chile, EUA, Índia e Uruguai. Essas amostras foram classificadas de acordo com as diferentes espécies e subgrupos em: arroz branco, arroz parboilizado, arroz integral, canjica de milho amarelo, canjica de milho branco, milho de pipoca, canjica de trigo, trigo, feijão preto, feijão branco, feijão carioca, lentilha e soja. Todas as amostras foram moídas em moinho de facas e secas em estufa por 4 h a 60 ± 5 °C. Após este procedimento, para a realização dos estudos iniciais, foi selecionada, aleatoriamente, uma amostra de cada espécie.

Para a avaliação da exatidão, foi realizada a decomposição de dois materiais de referência provenientes do *National Institute of Standards and Technology* (NIST), CRM NIST 1568a (farinha de arroz) e RM NIST 8433 (farelo de milho).

3.6 COMBUSTÃO INICIADA POR MICRO-ONDAS (MIC)

Para a decomposição das amostras por MIC, estas foram preparadas na forma de invólucros. Para tanto, foram utilizados filmes de LDPE (com dimensões de 8 x 8 cm, massa de aproximadamente 50 mg), sobre os quais foram dispostas as amostras. Em seguida, os invólucros foram fechados com o auxílio de uma pinça e selados por meio de aquecimento, sendo o excesso de LDPE removido e descartado. Na figura 7 é demonstrado um invólucro contendo 500 mg de arroz.



Figura 7. Invólucro contendo 500 mg de arroz.

Esses invólucros, contendo as amostras, foram dispostos na base de um dispositivo de quartzo, contendo um disco de papel filtro (com diâmetro de 2 cm e massa de aproximadamente 12 mg) umedecido com 50 μL de uma solução de NH_4NO_3 6 mol L^{-1} . Posteriormente, o dispositivo foi introduzido em frascos de quartzo contendo 6 mL de solução absorvedora em seu interior. Os frascos foram tampados, colocados em capas protetoras, fixados no rotor e pressurizados com 20 bar de O_2 durante 50 segundos. Em seguida, o rotor foi inserido no forno micro-ondas e as amostras foram submetidas ao seguinte programa de aquecimento: *i*) 1400 W por 5 min (etapa de combustão e refluxo) e *ii*) 0 W por 20 min (etapa de resfriamento). Após o procedimento de decomposição, os digeridos foram coletados em frascos volumétricos de 25 mL e o volume final foi aferido com água ultrapura. Este mesmo procedimento foi empregado para a decomposição dos CRMs (250 mg), os quais foram utilizados para verificar a exatidão do método. Para tanto, previamente às decomposições, os CRMs foram secos de acordo com a recomendação do fabricante e, após as decomposições, os resultados obtidos foram comparados com os valores informados e/ou certificados pelo fabricante.

Cabe destacar que algumas condições, como a concentração e o volume de solução oxidante utilizada como iniciadora da combustão, a pressão de O₂ utilizada e o programa de irradiação com micro-ondas utilizados nos experimentos, visando o desenvolvimento deste método, foram baseados em trabalhos anteriores (FLORES et al., 2004; MESKO, 2008).

3.6.1 Avaliação da massa de amostra e da solução absorvedora

A MIC tem sido aplicada para a decomposição de diversas amostras sólidas e, embora exista um protocolo geral sobre os procedimentos para a decomposição de amostras por MIC, a avaliação de alguns parâmetros deve ser realizada cuidadosamente, como a massa de amostra a ser decomposta e a solução absorvedora mais adequada para os analitos a serem determinados. Isso se deve ao fato de que o comportamento das amostras durante a queima varia de acordo com a sua composição. Além disso, uma incompleta decomposição ou até mesmo o uso de uma solução absorvedora inadequada, promoverá a obtenção de resultados errôneos.

Desta forma, as amostras foram avaliadas a partir da decomposição por MIC de massas entre 100 e 1400 mg, utilizando o programa de irradiação com micro-ondas previamente descrito e água ultrapura como solução absorvedora, uma vez que a avaliação da absorção dos analitos na solução não foi realizada nesta etapa. Durante as decomposições, a pressão máxima atingida pelo sistema, bem como o aspecto dos digeridos foram avaliados. A pressão do sistema foi avaliada através de sensores presentes no sistema, a fim de verificar a massa máxima de amostra que poderia ser decomposta sem o risco de um aumento excessivo durante a etapa de combustão.

Posteriormente, foi realizada a avaliação da solução mais adequada para absorver os analitos. Para tanto, as amostras foram decompostas por MIC utilizando água ou soluções de hidróxido de amônio (25, 50 ou 100 mmol L⁻¹) como solução absorvedora. A avaliação destas soluções foi realizada baseada em trabalhos prévios (HARTWIG et al., 2014; COSTA et al., 2015), os quais demonstraram a eficiência destas soluções para a absorção de halogênios e enxofre durante o preparo de amostras por MIC.

3.7 DETERMINAÇÃO DE BROMO, CLORO, IODO E ENXOFRE POR IC

Os digeridos, obtidos após o procedimento de MIC ser aplicado para amostras de cereais e leguminosas, foram analisados por IC para a determinação de cloro e enxofre. Na Tabela 1 são apresentados alguns dos parâmetros que foram utilizados para a determinação destes elementos. Esses parâmetros foram utilizados de acordo com o que é recomendado pelo fabricante e baseado em trabalhos na literatura (CRIZEL et al., 2015; NOVO et al., 2018).

Tabela 1. Parâmetros operacionais para a determinação de bromo, cloro, iodo e enxofre por IC.

Parâmetros	IC
Eluente	3,2 mmol L ⁻¹ Na ₂ CO ₃ /1,0 mmol L ⁻¹ NaHCO ₃
Vazão de eluente (mL min ⁻¹)	0,7
Volume de injeção (µL)	20
Modo de integração de sinal	Área do pico
Modo de detecção	Condutividade

As curvas de calibração utilizadas foram preparadas na faixa de concentração de 0,1 a 1 mg L⁻¹ de Br⁻, de 0,1 a 2,0 mg L⁻¹ para Cl⁻, de 0,1 a 1 mg L⁻¹ de I⁻ e de 5 a 15 mg L⁻¹ para SO₄²⁻. As diluições necessárias durante as determinações foram realizadas com água ultrapura.

3.8 DETERMINAÇÃO DE BROMO E IODO POR ICP-MS

Os digeridos, obtidos após a decomposição de amostras de cereais e leguminosas por MIC, foram analisados por ICP-MS para a determinação de bromo e iodo. As curvas de calibração utilizadas foram preparadas na faixa de concentração de 1 a 10 µg L⁻¹ para Br⁻ e de 0,05 a 1 µg L⁻¹ para I⁻. As diluições necessárias durante as determinações também foram realizadas com água ultrapura. Os principais parâmetros utilizados na determinação dos elementos por ICP-MS foram baseados em um outro estudo (COSTA et al., 2015) e de acordo com o que é recomendado pelo fabricante. Os parâmetros estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Parâmetros operacionais para a determinação de bromo e iodo por ICP-MS.

Parâmetros	ICP-MS
Potência do gerador de RF (W)	1400
Vazão de argônio (L min ⁻¹)	
Plasma	15
Auxiliar	1,20
Nebulizador	1,10
Câmara de nebulização	Ciclônica
Nebulizador	Concêntrico
Cones de amostragem (<i>sampler e skimmer</i>)	Pt
Lente iônica	<i>Auto lens "on"</i>
Isótopo (m/z)	⁷⁹ Br, ¹²⁷ I

3.9 PARÂMETROS DE MÉRITO

3.9.1 Limite de detecção

Os limites de detecção (LODs) de ambos métodos desenvolvidos foram calculados de acordo com o método sugerido pelo Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO, 2010). A Equação 1 demonstra os fatores utilizados para a realização do cálculo, os quais empregam valores provenientes da concentração em solução do branco da amostra.

$$LOD = \bar{x} + t_{(n-1,1-\alpha)} \times s \quad \text{Equação 1.}$$

Nessa equação, \bar{x} representa a média dos valores de dez medidas dos brancos da amostra, t é a distribuição de *Student*, que é dependente do tamanho da amostra e do grau de confiança, e s representa o desvio-padrão amostral dos brancos da amostra. Neste trabalho, como mencionado, foram utilizadas dez medidas dos brancos e, assim o valor de t aplicado foi de 2,821, considerando um

grau de confiança de 99%. Posteriormente, para obter o resultado em massa (mg kg^{-1}), foram considerados os volumes de aferição das amostras, as massas de amostras e diluições, quando necessárias.

3.9.2 Limite de quantificação

Com relação aos limites de quantificação (LOQs), estes também foram calculados de acordo com o método sugerido pelo INMETRO. A Equação 2 mostra os fatores utilizados para a realização do cálculo, os quais empregam valores provenientes da concentração em solução do branco da amostra.

$$LOQ = \bar{x} + 10s \quad \text{Equação 2.}$$

Da mesma forma que para o LOD, a obtenção do resultado em massa (mg kg^{-1}) foi realizada considerando os volumes de aferição das amostras e as massas de amostras.

3.9.3 Avaliação da exatidão

Para realizar a avaliação da exatidão dos métodos, ensaios de recuperação para os analitos avaliados foram realizados. Desta forma, concentrações conhecidas dos analitos foram adicionadas às amostras previamente às decomposições. A avaliação da exatidão foi realizada a partir da comparação entre os resultados obtidos e os valores adicionados às amostras.

Além disso, também com o intuito de avaliar a exatidão dos métodos, estes foram aplicados para os materiais de referência (RMs) RM NIST 8433 (Farelo de milho) contendo concentrações conhecidas de bromo e iodo, e o CRM NIST 1568a (Farinha de arroz) contendo concentrações conhecidas de cloro e enxofre nas amostras. Para tanto, os RMs foram decompostos utilizando os parâmetros otimizados para os respectivos métodos, e a avaliação ocorreu a partir da comparação dos valores certificados ou informados com os valores obtidos após as análises, utilizando IC ou ICP-MS.

3.9.3 Avaliação da precisão

Para avaliar a precisão dos métodos, foram realizados os cálculos de desvio padrão (SD) e desvio padrão relativo (RSD) entre as replicatas utilizadas em cada medida, a fim de calcular a dispersão dos resultados obtidos. As equações utilizadas para a realização destes cálculos são demonstradas abaixo.

$$SD = \sqrt{\frac{(\bar{x} - x_1)^2 + (\bar{x} - x_2)^2 + \dots + (\bar{x} - x_n)^2}{n - 1}}$$

Equação 3.

$$RSD = \frac{SD \times 100}{\bar{x}}$$

Equação 4.

Onde \bar{x} representa a média das medidas; x_1 , x_2 e x_n representam o valor das medidas 1, 2 e 3, respectivamente, e n representa o número de replicatas utilizadas.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo são apresentados e discutidos os resultados obtidos nas análises descritas no capítulo 3 (Materiais e Métodos). A discussão dos resultados foi subdividida de acordo com os diferentes procedimentos executados. Na primeira parte, é feita uma discussão a respeito dos parâmetros avaliados com relação à etapa de preparo de amostra. Na segunda parte serão apresentados os resultados obtidos para a determinação de bromo, cloro, iodo e enxofre por IC e de bromo e iodo por ICP-MS em cereais e leguminosas. Na terceira parte, é realizada uma comparação entre os resultados obtidos utilizando os diferentes métodos desenvolvidos e os resultados relatados por outros autores.

4.1 DECOMPOSIÇÃO POR MIC

As decomposições realizadas por MIC foram conduzidas conforme descrito no item 3.5 (*Materiais e Métodos*). No decorrer do desenvolvimento dos diferentes métodos, alguns parâmetros foram avaliados, como a massa de amostra máxima que poderia ser decomposta no sistema, sem o risco de um excessivo aumento da pressão durante o procedimento de combustão. Além deste parâmetro, também foi avaliada a solução absorvedora mais adequada para a absorção dos analitos. Os resultados obtidos a partir destas avaliações serão apresentados nos itens a seguir. Cabe salientar que a partir do próximo item serão realizadas subdivisões para descrever os dois métodos desenvolvidos durante a realização deste trabalho.

4.1.1 Avaliação da massa máxima de amostra

Considerando que os LODs estão diretamente relacionados às condições utilizadas durante a aplicação do método e, que a massa de amostra empregada é inversamente proporcional aos valores de LOD obtidos, estudos a fim de avaliar a maior massa de amostra a ser decomposta foram realizados. Assim, como mencionado anteriormente, a massa de amostra a ser utilizada na MIC foi um parâmetro avaliado durante o desenvolvimento dos métodos para a decomposição de cereais e leguminosas visando à determinação de bromo, cloro, iodo e enxofre.

Para este estudo, diferentes massas das seis espécies de amostras foram avaliadas. Assim, inicialmente, massas que variaram de 100 a 1400 mg foram avaliadas a partir de incrementos de 100 mg. As pressões máximas atingidas durante as decomposições das maiores massas de amostra foram sempre inferiores (cerca de 50%) à pressão máxima de trabalho recomendada pelo fabricante (80 bar). As pressões atingidas podem ser consideradas pressões de trabalho seguras, ou seja, utilizando as massas de amostra avaliadas, a pressão não foi um fator limitante da quantidade de amostra utilizada nos experimentos. Assim, a massa de amostra foi selecionada com base no aspecto visual dos digeridos.

Como era esperado, cada espécie de amostra apresentou um comportamento distinto das demais durante as combustões. Além disso, as massas máximas decompostas eficientemente também variaram para as diferentes amostras, e estas

massas, bem como a composição majoritária das amostras informadas nos rótulos dos produtos estão apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3. Massa máxima de amostra eficientemente decomposta por MIC e composição majoritária dos cereais e leguminosas informada nos rótulos dos produtos.

Amostra	Massa máxima				
	de amostra eficientemente decomposta (mg)	Carboidratos (% m/m)	Proteínas (% m/m)	Fibras (% m/m)	Lipídeos (% m/m)
Arroz branco	1200	78	7,2	1,6	0
Arroz parboilizado	1200	78	7,2	1,6	0
Arroz integral	1000	78	7,2	4,8	2
Milho	900	74	6,4	5,4	0
Trigo	600	57	10	10	2
Feijão	600	53	23	27	2
Lentilha	600	60	23	4,0	0
Soja	500	22	40	8,3	20

A massa máxima de amostra foi estabelecida de acordo com o aspecto visual das soluções obtidas após as decomposições. Dessa forma, massas de amostra maiores que as apresentadas na Tabela 3 resultaram em soluções com aspectos amarelados ou com uma significativa quantidade de resíduos, evidenciando uma decomposição incompleta das amostras. A diferença do aspecto visual considerado adequado e não adequado são apresentados na Figura 8.

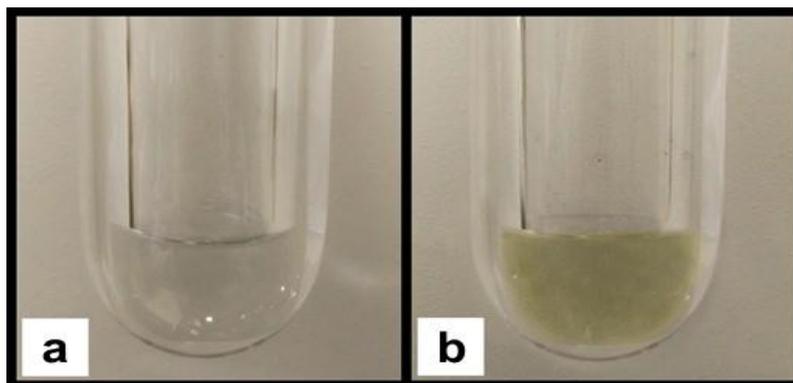


Figura 8. Aspectos das soluções após a decomposição por MIC de diferentes massas de milho, utilizando água como solução absorvedora: (a) 900 mg (aspecto límpido – adequado) e (b) 1000 mg (aspecto amarelado – não adequado).

Como pode ser observado na Tabela 3, massas de até 1200 mg de arroz (branco e parboilizado) foram eficientemente decompostas, enquanto apenas 500 mg de soja foram completamente decompostas. Esta diferença está provavelmente associada à composição majoritária das amostras, uma vez que a eficiente decomposição de uma amostra por MIC sempre depende da complexidade da matéria orgânica (SCHMIDT et al., 2017). Assim, para os diferentes subgrupos de arroz e o milho, que têm composição similar, puderam ser decompostas massas de 1200, 1000 e 900 mg, respectivamente.

De forma geral, pode-se perceber que os teores de carboidratos, bem como de proteínas são proporcionalmente relacionadas com as massas de amostras decompostas apresentadas na Tabela 3. Ainda, com relação à soja, é importante destacar que esta leguminosa contém a menor quantidade de carboidratos e a maior quantidade de proteínas e lipídios quando comparada às outras amostras avaliadas, o que dificulta ainda mais a sua decomposição. Desta forma, baseado nos resultados obtidos neste estudo, a massa de 500 mg de amostra foi selecionada para os subsequentes experimentos, uma vez que utilizando esta massa foi possível decompor eficientemente todas as espécies de amostras avaliadas.

4.1.2 Escolha da solução absorvedora

Após a seleção da massa de amostra a ser utilizada para os posteriores estudos, para ambos métodos, foi realizada a escolha da solução absorvedora mais adequada. Cabe salientar que para cada método, este estudo teve de ser realizado individualmente, uma vez que cada método visa à determinação de analitos diferentes.

4.1.2.1 Bromo, cloro, iodo e enxofre em cereais e leguminosas

Para este estudo, água ultrapura e soluções de hidróxido de amônio (25, 50 e 100 mmol L⁻¹) foram avaliadas para a absorção de bromo, cloro, iodo e enxofre. Estas soluções foram selecionadas devido ao seu uso durante o procedimento de MIC para a absorção de halogênios em outras amostras (HARTWIG et al., 2014; COSTA et al., 2015). Assim, a decomposição de 500 mg de cada amostra (arroz, milho, trigo, feijão, lentilha e soja) por MIC, utilizando as diferentes soluções citadas, bem como a realização de ensaios de recuperação foram efetuados com o intuito de avaliar a solução absorvedora mais adequada para a absorção de cloro e enxofre. As concentrações de cloro e enxofre obtidas destes elementos, nas diferentes amostras, por IC encontram-se apresentadas na Tabela 4. Cabe salientar que não foi possível realizar a determinação de bromo e iodo utilizando a IC, uma vez que esses elementos estão contidos em baixas concentrações nas amostras. Assim, a IC não apresentou sensibilidade adequada para a determinação desses elementos.

Como pode ser observado na Tabela 4, as concentrações de cloro e enxofre não apresentaram diferenças significativas (ANOVA/teste de Tukey), para todos cereais e leguminosas avaliados quando utilizadas água ultrapura ou diferentes concentrações de soluções alcalinas. Além disso, pode-se perceber que os RSDs foram adequados, uma vez que estes variaram de 2 a 15%. A partir disso, água ultrapura foi selecionada para a realização de ensaios de recuperação para cloro e enxofre. Para tanto, soluções padrão de cloro e enxofre foram adicionadas às amostras previamente às decomposições por MIC, correspondendo a uma proporção dos analitos de 50% da concentração em massa presente nas amostras. Excepcionalmente para a amostra de soja, foi adicionado 100% da concentração de cloro presente na amostra, uma vez que esta amostra apresentava uma baixa

Tabela 4. Concentrações de cloro e enxofre em grãos obtidas por IC após a decomposição por MIC utilizando diferentes soluções absorvedoras (média \pm desvio padrão, n=3).

Solução absorvedora	Concentração (mg kg ⁻¹)	
	Cloro	Enxofre
Arroz		
Água ultrapura	196 \pm 11	927 \pm 17
NH ₄ OH 25 mmol L ⁻¹	202 \pm 15	921 \pm 65
NH ₄ OH 50 mmol L ⁻¹	202 \pm 12	929 \pm 45
NH ₄ OH 100 mmol L ⁻¹	208 \pm 20	935 \pm 68
Milho		
Água ultrapura	487 \pm 12	768 \pm 21
NH ₄ OH 25 mmol L ⁻¹	483 \pm 13	753 \pm 22
NH ₄ OH 50 mmol L ⁻¹	498 \pm 20	762 \pm 33
NH ₄ OH 100 mmol L ⁻¹	501 \pm 62	798 \pm 91
Trigo		
Água ultrapura	388 \pm 19	1300 \pm 71
NH ₄ OH 25 mmol L ⁻¹	390 \pm 18	1315 \pm 66
NH ₄ OH 50 mmol L ⁻¹	399 \pm 22	1302 \pm 88
NH ₄ OH 100 mmol L ⁻¹	393 \pm 53	1330 \pm 127
Feijão		
Água ultrapura	194 \pm 4	1875 \pm 29
NH ₄ OH 25 mmol L ⁻¹	197 \pm 3	1837 \pm 45
NH ₄ OH 50 mmol L ⁻¹	201 \pm 7	1864 \pm 62
NH ₄ OH 100 mmol L ⁻¹	199 \pm 14	1870 \pm 88
Lentilha		
Água ultrapura	899 \pm 22	1855 \pm 42
NH ₄ OH 25 mmol L ⁻¹	895 \pm 61	1842 \pm 61
NH ₄ OH 50 mmol L ⁻¹	907 \pm 29	1841 \pm 74
NH ₄ OH 100 mmol L ⁻¹	900 \pm 44	1858 \pm 101
Soja		
Água ultrapura	33 \pm 2	2806 \pm 160
NH ₄ OH 25 mmol L ⁻¹	29 \pm 4	2788 \pm 102
NH ₄ OH 50 mmol L ⁻¹	33 \pm 1	2812 \pm 187
NH ₄ OH 100 mmol L ⁻¹	35 \pm 5	2810 \pm 414

concentração desse analito. Os resultados referentes às recuperações obtidas após o estudo estão apresentados na Figura 9.

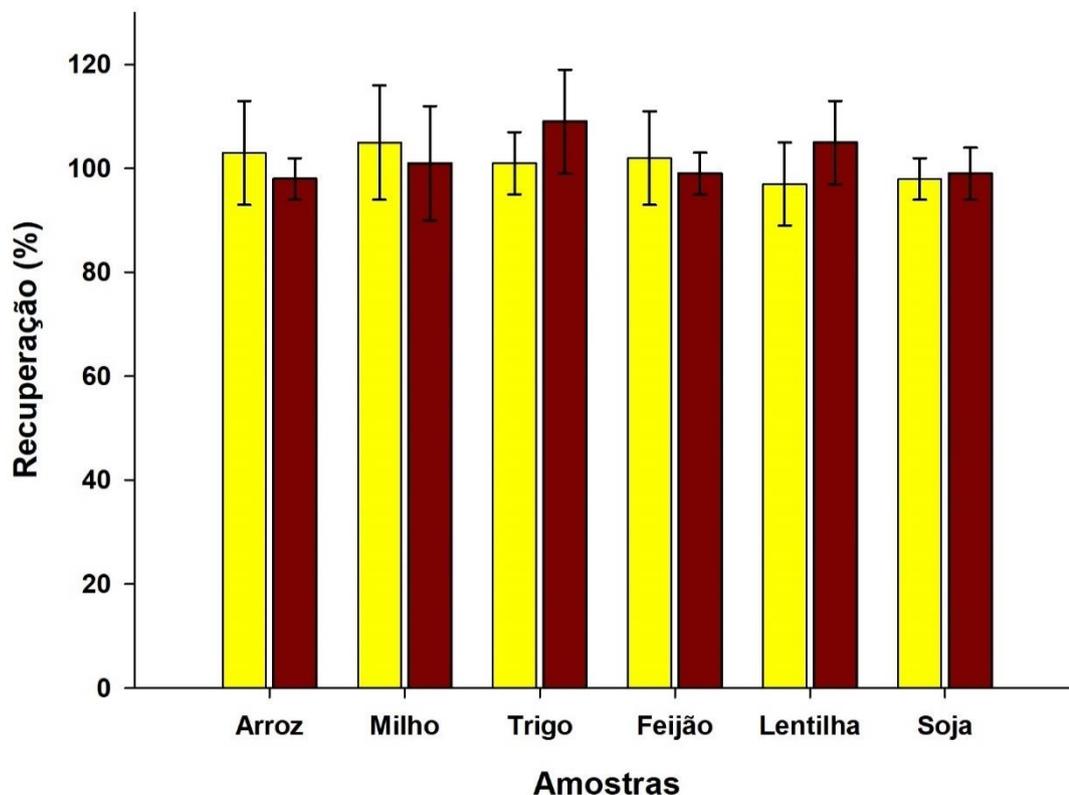


Figura 9. Recuperações de cloro (■) e enxofre (■) obtidas por IC em ensaios realizados a partir da decomposição de 500 mg de amostras variadas por MIC, utilizando água ultrapura como solução absorvedora (n=3).

Como pode ser observado na Figura 9, utilizando água ultrapura como solução absorvedora foi possível obter recuperações adequadas para todas as amostras avaliadas, sendo que as recuperações para cloro variaram de 97 a 105%, enquanto que para enxofre variaram de 98 a 109%. Além disso, cabe destacar que os RSDs obtidos (representados pelas barras) foram sempre inferiores a 12% para ambos analitos. Com base nestes resultados, pode-se perceber que a água ultrapura é adequada para a absorção quantitativa de cloro e enxofre durante o procedimento de MIC, o que está de acordo com a literatura (PEREIRA et al., 2008). Assim, a água ultrapura foi selecionada como solução absorvedora para o método, uma vez que o seu uso simplifica o método, minimizando o consumo de reagentes, bem como a geração de resíduos.

4.1.2.2 Bromo e iodo em cereais e leguminosas

Tendo em vista que a não foi possível realizar a quantificação de bromo e iodo utilizando a IC, foram avaliadas as soluções absorvedoras com o intuito de absorver estes elementos visando a posterior determinação por ICP-MS. Para este estudo foram avaliadas as mesmas soluções absorvedoras, tendo em vista a adequabilidade destas soluções para a absorção de bromo e iodo, porém estas foram analisadas por ICP-MS para a obtenção das concentrações dos analitos em cada amostra. Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 5.

De acordo com a Tabela 5, pode-se perceber que os resultados obtidos, quando as diferentes soluções foram utilizadas, não apresentaram diferenças significativas (ANOVA/teste de Tukey) para as concentrações de bromo, com exceção das amostras de milho e trigo, que quando utilizada água ultrapura como solução, resultou em concentrações de bromo inferiores às demais. Por outro lado, pode-se notar que as concentrações de iodo apresentaram diferenças entre os resultados, sendo que, geralmente, utilizando água ultrapura ou NH_4OH 25 mmol L^{-1} , os resultados não diferiram entre si (teste t de *Student*), assim como os resultados obtidos utilizando NH_4OH 50 e 100 mmol L^{-1} (teste t de *Student*). Sendo que, a utilização de NH_4OH 50 e 100 mmol L^{-1} resultou em concentrações superiores às demais. Além disso, quando estas soluções foram empregadas, RSDs adequados foram obtidos, que variaram de 1 a 13%.

Assim, a solução de NH_4OH 50 mmol L^{-1} foi escolhida para posteriores estudos, uma vez que foi a solução com menor concentração que possibilitou a absorção de ambos analitos satisfatoriamente. Desta forma, foram realizados ensaios de recuperação nas diferentes amostras, utilizando NH_4OH 50 mmol L^{-1} como solução absorvedora. Para tanto, concentrações conhecidas de bromo e iodo, correspondendo à metade da concentração em massa determinada anteriormente em cada amostra foram adicionadas às amostras, previamente às decomposições. Para avaliar a recuperação de iodo na amostra de soja, foram adicionados 1,5 vezes a concentração em massa do LOQ, ou seja, 0,014 mg kg^{-1} . Na Figura 10 são apresentadas as recuperações obtidas para bromo e iodo nas amostras, após decomposição por MIC, utilizando NH_4OH 50 mmol L^{-1} .

Tabela 5. Concentrações de bromo e iodo em diferentes grãos obtidas por ICP-MS após a decomposição por MIC utilizando diferentes soluções absorvedoras (média \pm desvio padrão, n=3).

Solução absorvedora	Concentração (mg kg ⁻¹)	
	Bromo	Iodo
Arroz		
Água ultrapura	0,401 \pm 0,038	0,014 \pm 0,004
NH ₄ OH 25 mmol L ⁻¹	0,388 \pm 0,012	0,015 \pm 0,002
NH ₄ OH 50 mmol L ⁻¹	0,398 \pm 0,004	0,021 \pm 0,001
NH ₄ OH 100 mmol L ⁻¹	0,392 \pm 0,040	0,022 \pm 0,002
Milho		
Água ultrapura	0,217 \pm 0,005	0,010 \pm 0,002
NH ₄ OH 25 mmol L ⁻¹	0,233 \pm 0,003	0,012 \pm 0,001
NH ₄ OH 50 mmol L ⁻¹	0,231 \pm 0,002	0,014 \pm 0,001
NH ₄ OH 100 mmol L ⁻¹	0,236 \pm 0,009	0,013 \pm 0,002
Trigo		
Água ultrapura	0,91 \pm 0,04	0,013 \pm 0,005
NH ₄ OH 25 mmol L ⁻¹	1,07 \pm 0,04	0,031 \pm 0,004
NH ₄ OH 50 mmol L ⁻¹	1,13 \pm 0,06	0,030 \pm 0,001
NH ₄ OH 100 mmol L ⁻¹	1,15 \pm 0,08	0,029 \pm 0,003
Feijão		
Água ultrapura	1,60 \pm 0,13	< 0,009*
NH ₄ OH 25 mmol L ⁻¹	1,49 \pm 0,07	0,009 \pm 0,001
NH ₄ OH 50 mmol L ⁻¹	1,49 \pm 0,08	0,009 \pm 0,001
NH ₄ OH 100 mmol L ⁻¹	1,48 \pm 0,10	0,009 \pm 0,001
Lentilha		
Água ultrapura	2,46 \pm 0,07	< 0,009*
NH ₄ OH 25 mmol L ⁻¹	2,54 \pm 0,09	< 0,009*
NH ₄ OH 50 mmol L ⁻¹	2,49 \pm 0,06	0,012 \pm 0,001
NH ₄ OH 100 mmol L ⁻¹	2,51 \pm 0,08	0,013 \pm 0,001
Soja		
Água ultrapura	1,28 \pm 0,15	< 0,009*
NH ₄ OH 25 mmol L ⁻¹	1,31 \pm 0,22	< 0,009*
NH ₄ OH 50 mmol L ⁻¹	1,36 \pm 0,14	< 0,009*
NH ₄ OH 100 mmol L ⁻¹	1,35 \pm 0,18	< 0,009*

*LOQ

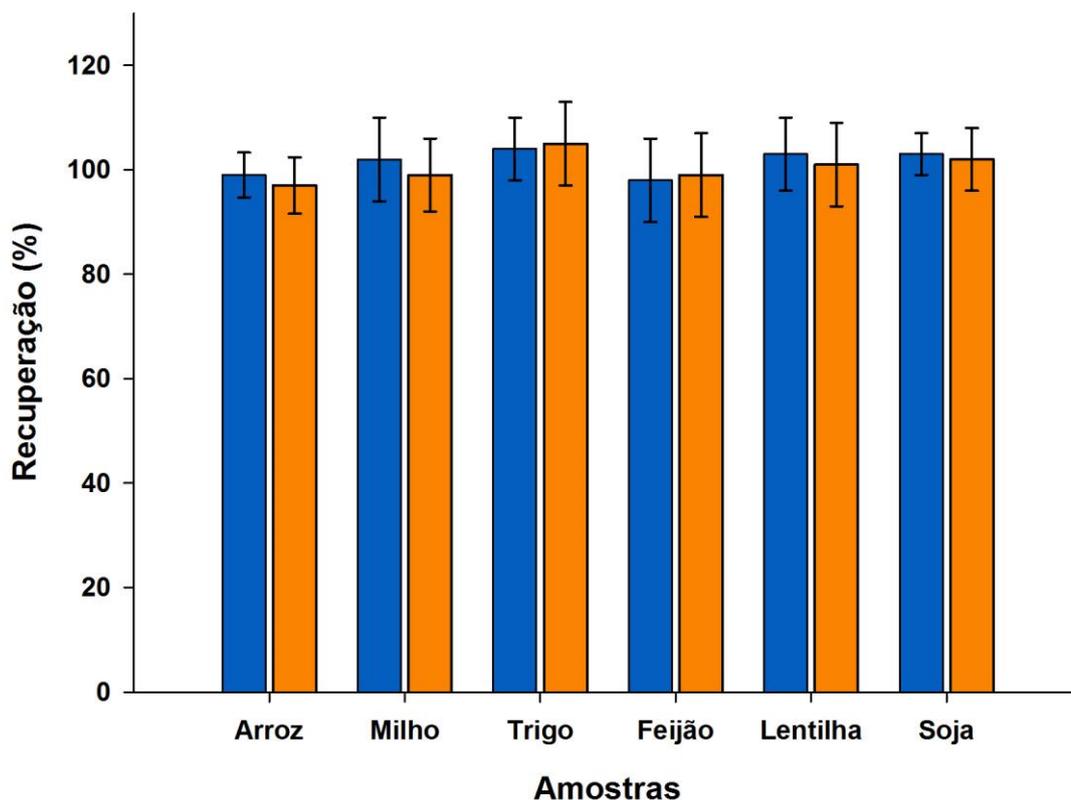


Figura 10. Recuperações de bromo (■) e iodo (■) obtidas por ICP-MS em ensaios realizados a partir da decomposição de 500 mg de amostras variadas por MIC, utilizando NH_4OH 50 mmol L^{-1} como solução absorvedora ($n=3$).

Como pode ser observado na Figura 10, foram obtidas recuperações satisfatórias para ambos analitos e amostras, que variaram de 98 a 104% para bromo e de 97 a 105% para iodo, com RSDs (representados pelas barras) que variaram de 4 a 12%. Desta forma, a solução de NH_4OH 50 mmol L^{-1} foi selecionada como solução absorvedora adequada para o método.

4.1.3 Avaliação da exatidão

Após a definição das massas de amostras e das soluções absorvedoras mais adequadas para os analitos dos dois métodos, foi realizada a avaliação da exatidão destes. Para tanto, em ambos métodos, diferentes RMs foram decompostos e analisados, seguindo os mesmos procedimentos estabelecidos para as amostras.

4.1.3.1 Cloro e enxofre em cereais e leguminosas

Para avaliar este método, o CRM NIST 1568a (Farinha de arroz) foi decomposto por MIC, utilizando água ultrapura como solução absorvedora. Este CRM foi escolhido por apresentar composição majoritária semelhante a algumas amostras avaliadas e também por informar valores para cloro e enxofre. Neste caso, o CRM não foi decomposto misturado às amostras, pois seria necessária a utilização de uma elevada massa de CRM. Após a decomposição e análise do CRM, foram obtidas concordâncias de 100 e 90% para cloro e enxofre, respectivamente, com os valores informados.

Com relação aos LODs obtidos para este método, a partir da decomposição por MIC (considerando 500 mg de amostra e água ultrapura como solução absorvedora) e determinação por IC, estes foram de 9,2 e 8,3 mg kg⁻¹ para cloro e enxofre, respectivamente, enquanto que os LOQs foram de 16,1 mg kg⁻¹ para cloro e de 16,5 mg kg⁻¹ para enxofre. Assim, os baixos valores de brancos e a ausência da etapa de diluições sucessivas para as análises contribuíram para a obtenção de baixos valores de LODs e LOQs. Da mesma forma, é possível a obtenção de menores valores de LODs e LOQs, considerando a massa de amostra que poderia ser decomposta (arroz: 1000 mg e milho: 900 mg).

4.1.3.2 Bromo e iodo em cereais e leguminosas

Para avaliar a exatidão do procedimento de decomposição por MIC, utilizando NH₄OH 50 mmol L⁻¹ como solução absorvedora, foram decompostos somente o RM NIST RM 8433 (Farelo de milho), e o RM misturado a uma das amostras. Esse último procedimento foi realizado tendo em vista que o RM utilizado, apesar de apresentar uma matriz semelhante a uma das amostras, é diferente das demais. Assim, após a decomposição somente do RM e determinação dos digeridos por ICP-MS, os valores obtidos (bromo: 2,17 ± 0,08 mg kg⁻¹ e iodo: 0,025 ± 0,001 mg kg⁻¹) foram concordantes com os valores informados (bromo: 2,3 ± 0,5 mg kg⁻¹ e iodo: 0,026 ± 0,006 mg kg⁻¹) pelo RM. Além disso, quando o RM foi decomposto misturado à amostra, recuperações de 94 a 97% para ambos analitos foram obtidas.

Ainda, cabe mencionar que os LODs obtidos para este método, a partir da decomposição por MIC (considerando 500 mg de amostra e utilizando NH_4OH 50 mmol L^{-1} como solução absorvedora) e determinação por ICP-MS foram de 0,012 e 0,006 mg kg^{-1} para bromo e iodo, respectivamente, enquanto os LOQs foram de 0,032 mg kg^{-1} para bromo e de 0,009 mg kg^{-1} para iodo. Os baixos valores de LOD e LOQ obtidos estão relacionados ao fato de que não foi necessário realizar sucessivas diluições dos digeridos previamente às análises por ICP-MS. Isso se deve ao fato de a MIC promover uma eficiente decomposição das amostras. Além disso, é válido ressaltar que dependendo da amostra e a sua composição, é possível a obtenção de menores valores de LODs e LOQs, considerando a massa de amostra que poderia ser decomposta, como foi observado, por exemplo, para o arroz (1000 mg) e o milho (900 mg).

4.2 APLICAÇÃO DOS MÉTODOS

Após todos os parâmetros estabelecidos para cada método, bem como as avaliações de exatidão, os métodos foram aplicados às demais amostras. Os resultados obtidos para ambos os métodos serão demonstrados e discutidos nos subitens subsequentes.

4.2.1 Determinação de cloro e enxofre em cereais e leguminosas

O método proposto, o qual emprega 500 mg de amostra e água ultrapura como solução absorvedora foi aplicado para 34 amostras, variando a espécie, subgrupo, local e/ou marca. Dentre as amostras avaliadas, estão inclusas amostras provenientes da Alemanha, Brasil, Chile, EUA, Índia e Uruguai. Os resultados obtidos por IC para cloro e enxofre após decomposição por MIC estão apresentados na Tabela 8.

Tabela 6. Concentrações de cloro e enxofre em diversas espécies e subgrupos de cereais e leguminosas provenientes de diferentes países, determinadas por IC após decomposição por MIC (média \pm desvio padrão, n=3).

Amostra (origem)	Concentração (mg kg ⁻¹)	
	Cloro	Enxofre
Arroz branco 1 (BRA)	196 \pm 11	927 \pm 17
Arroz branco 2 (URU)	217 \pm 3	884 \pm 38
Arroz branco 3 (CHL)	218 \pm 23	790 \pm 101
Arroz branco 4 (HIM)	237 \pm 5	1177 \pm 5
Arroz branco 5 (ALE)	135 \pm 3	864 \pm 46
Arroz branco 6 (EAU)	220 \pm 21	1364 \pm 39
Arroz branco 7 (BRA)	223 \pm 5	665 \pm 17
Arroz branco 8 (EUA)	217 \pm 17	729 \pm 52
Arroz branco 9 (EUA)	279 \pm 3	1140 \pm 101
Arroz parboilizado 1 (BRA)	190 \pm 6	949 \pm 9
Arroz parboilizado 2 (ALE)	106 \pm 4	4990 \pm 458
Arroz parboilizado 3 (ALE)	99 \pm 11	640 \pm 69
Arroz parboilizado 4 (URU)	219 \pm 19	1205 \pm 68
Arroz integral 1 (BRA)	182 \pm 18	1028 \pm 32
Arroz integral 2 (BRA)	134 \pm 8	1257 \pm 79
Arroz integral 3 (ALE)	138 \pm 14	968 \pm 92
Arroz integral 4 (EUA)	215 \pm 9	968 \pm 22
Arroz integral 5 (EUA)	310 \pm 33	914 \pm 71
Arroz integral 6 (EUA)	345 \pm 30	1293 \pm 145
Arroz selvagem (BRA)	341 \pm 26	1858 \pm 173
Arroz preto 1 (BRA)	154 \pm 7	1016 \pm 58
Arroz preto 2 (EUA)	622 \pm 61	1679 \pm 167
Canjica de milho amarelo (BRA)	477 \pm 12	768 \pm 21
Milho de pipoca (BRA)	442 \pm 27	842 \pm 11
Canjica de milho branco (BRA)	791 \pm 61	1191 \pm 57
Trigo (BRA)	388 \pm 19	1300 \pm 71
Canjica de trigo (BRA)	396 \pm 20	1338 \pm 59

Tabela 6. Continuação.

Feijão preto (BRA)	194 ± 2	1875 ± 29
Feijão carioca (BRA)	152 ± 6	2086 ± 49
Feijão branco (BRA)	70 ± 2	1961 ± 79
Lentilha 1 (BRA)	909 ± 22	1855 ± 114
Lentilha 2 (BRA)	648 ± 24	1997 ± 73
Soja 1 (BRA)	33 ± 2	2806 ± 160
Soja 2 (BRA)	49 ± 4	2944 ± 130

Alemanha (ALE), Brasil (BRA), Chile (CHL), Estados Unidos da América (EUA), Índia (IND), Uruguai (URU).

Como pode ser observado na Tabela 6, as concentrações de enxofre foram sempre superiores às concentrações de cloro, de 1,6 a 85 vezes, para todas as amostras avaliadas. Esta constatação está de acordo com o que foi observado por Soliman e Zikovsky (1999). De maneira geral, pode-se perceber que as concentrações de enxofre para todas as espécies de grãos avaliados estão proporcionais aos teores de proteínas presentes em cada espécie de amostra (Tabela 3). Ainda, foi observado que as concentrações de cloro e enxofre variaram em uma ampla faixa (cloro: 33 a 909 mg kg⁻¹; enxofre: 640 a 4990 mg kg⁻¹).

Para cloro, as concentrações obtidas para as amostras de arroz branco não apresentaram uma ampla variação, e também não apresentaram um padrão nas concentrações para os diferentes subgrupos de arroz avaliados. Apesar da baixa variação, é possível observar que dentre as amostras de arroz branco, as maiores concentrações de cloro foram observadas para a amostra oriunda dos EUA, seguida pela amostra oriunda da Índia. Para o arroz parboilizado, as maiores concentrações de cloro foram observadas nas amostras provenientes do Uruguai e Brasil. Considerando o arroz integral, duas amostras provenientes dos EUA (Arroz Integral 5 e Arroz Integral 6) apresentaram as maiores concentrações de cloro quando comparadas às outras amostras deste subgrupo.

Ainda, o arroz preto, proveniente dos EUA, apresentou concentração de cloro quatro vezes maior que a amostra de arroz preto do Brasil.

Por outro lado, quando comparados o Arroz Branco 1, Arroz Parboilizado 1 e Arroz Integral 1, os quais são de uma mesma marca brasileira, foi possível observar que as concentrações de cloro nestas amostras foram similares. O mesmo

comportamento foi observado para as amostras Arroz Parboilizado 2 e 3, os quais pertencem a uma mesma marca alemã. Da mesma forma, as amostras Arroz Integral 2 e Arroz Preto 1 (mesma marca) apresentaram concentrações similares. Para as amostras Arroz branco 2 e Arroz Parboilizado 4, ambas provenientes do Uruguai, o mesmo comportamento foi observado e, embora elas não pertençam a mesma marca, elas são produzidas pela mesma indústria. Contudo, baseado nos resultados obtidos, pode-se inferir que as concentrações de cloro no arroz estão relacionadas a fatores genéticos, bem como aos métodos empregados durante o cultivo destes grãos, mas provavelmente não aos processos que o arroz é submetido, como o polimento e o encharcamento.

Dentre as três espécies de milho avaliados, a Canjica de milho amarelo e o Milho de pipoca apresentaram concentrações similares de cloro, enquanto a amostra de Canjica de milho branco apresentou a maior concentração de cloro que as outras. As duas amostras de trigo analisadas apresentaram valores similares com relação às concentrações de cloro. Cabe destacar que apesar dos rótulos destas amostras apresentarem diferentes nomes com relação ao produto (trigo e canjica de trigo), o aspecto e textura dos grãos não apresentavam nenhuma diferença visual.

Com relação às amostras de leguminosas avaliadas, foi possível observar uma considerável variação nas concentrações de cloro obtidas para as três espécies de amostras avaliadas (feijão, lentilha e soja). Dentre as amostras de feijão, o Feijão branco apresentou a menor concentração de cloro, enquanto o Feijão preto apresentou a maior concentração deste elemento. Ainda, com relação às concentrações de cloro, as amostras de lentilha, bem como as amostras de soja avaliadas, apresentaram valores distintos nas duas amostras de cada leguminosa (pertencentes a marcas diferentes) avaliadas.

No que diz respeito às concentrações de enxofre nas amostras de arroz, como observado para as concentrações de cloro, estas não apresentaram padrões com relação as diferentes espécies e subgrupos avaliados. Além disso, mesmo as amostras pertencentes a uma mesma marca não apresentaram resultados similares entre si. Isto é evidenciado pelas amostras Arroz parboilizado 2 e Arroz parboilizado 3, as quais pertencem a uma mesma marca alemã e apresentam a maior e a menor concentração de enxofre, respectivamente.

Dentre as amostras de milho, a Canjica de milho branco apresentou a maior concentração de enxofre, assim como foi observado para as concentrações de cloro

nessas amostras. A Canjica de milho amarelo apresentou a menor concentração de enxofre. A diferença na concentração entre as canjicas de milhos de diferentes colorações pode estar relacionada à composição nutricional de cada espécie de amostra no que diz respeito aos teores de proteínas (PARAGINSKI et al., 2016). Por fim, foi observado que as duas amostras de trigo avaliadas (Trigo e Canjica de trigo) apresentaram valores similares com relação às concentrações de enxofre.

Desconsiderando a amostra Arroz Parboilizado 2, as concentrações de enxofre nas amostras de leguminosas foram sempre maiores que nas amostras de cereais. Isto pode estar relacionado ao alto teor de proteínas presente nas leguminosas, como demonstrado na Tabela 3. Neste sentido, pode-se observar que as amostras de Feijão preto e de Feijão branco apresentaram valores similares com relação às concentrações de enxofre, enquanto que o Feijão carioca apresentou maior concentração deste elemento dentre as amostras de feijão. As amostras de lentilha apresentaram valores similares entre as concentrações de enxofre obtidas. Da mesma forma, as duas amostras de soja também apresentaram valores similares com relação às concentrações de enxofre.

A partir dos resultados obtidos, foi estimada a quantidade de cada cereal e leguminosa avaliada que deve ser ingerida para fornecer as quantidades recomendadas de ingestão diária de cloro e enxofre (2300 e 850 mg, respectivamente). Os valores obtidos estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 7. Estimativa da quantidade das amostras avaliadas que precisaria ser ingerida para suprir a ingestão diária recomendada para cloro e enxofre.

Amostra (origem)	Quantidade a ser ingerida (kg dia ⁻¹)	
	IDR* cloro	IDR* enxofre
Arroz branco 1 (BRA)	11,7	0,92
Arroz branco 2 (URU)	10,6	0,96
Arroz branco 3 (CHL)	10,5	1,07
Arroz branco 4 (IND)	9,7	0,72
Arroz branco 5 (ALE)	17,0	0,98
Arroz branco 6 (EAU)	10,5	0,62
Arroz branco 7 (BRA)	10,3	1,28
Arroz branco 8 (EUA)	10,6	1,16
Arroz branco 9 (EGI)	8,2	0,74
Arroz parboilizado 1 (BRA)	12,1	0,89
Arroz parboilizado 2 (ALE)	21,7	0,17
Arroz parboilizado 3 (ALE)	23,2	1,33
Arroz parboilizado 4 (URU)	10,5	0,71
Arroz integral 1 (BRA)	12,6	0,83
Arroz integral 2 (BRA)	17,2	0,68
Arroz integral 3 (ALE)	16,7	0,88
Arroz integral 4 (EUA)	10,7	0,88
Arroz integral 5 (EUA)	7,4	0,93
Arroz integral 6 (EUA)	6,7	0,66
Arroz selvagem (BRA)	6,7	0,46
Arroz preto 1 (BRA)	14,9	0,84
Arroz preto 2 (EUA)	3,7	0,51
Canjica de milho amarelo (BRA)	4,8	1,11
Milho de pipoca (BRA)	5,2	1,01
Canjica de milho branco (BRA)	2,9	0,71
Trigo (BRA)	5,9	0,65
Canjica de trigo (BRA)	5,8	0,64

Tabela 7. Continuação.

Feijão preto (BRA)	11,8	0,45
Feijão carioca (BRA)	15,1	0,41
Feijão branco (BRA)	32,8	0,43
Lentilha 1 (BRA)	2,5	0,46
Lentilha 2 (BRA)	3,5	0,43
Soja 1 (BRA)	69,7	0,30
Soja 2 (BRA)	46,9	0,29

Alemanha (ALE), Brasil (BRA), Chile (CHL), Estados Unidos da América (EUA), Índia (IND), Uruguai (URU). *Ingestão Diária Recomendada.

Como pode ser observado na Tabela 7, as quantidades a serem ingeridas variam de aproximadamente 2,5 a 70 kg por dia para obter a ingestão recomendada de cloro. Enquanto que para obter a ingestão recomendada de enxofre, a quantidade a ser ingerida variou de aproximadamente 0,2 a 1,5 kg por dia. Por fim, é importante enfatizar que esta estimativa foi realizada considerando as amostras avaliadas como a única fonte diária dos elementos citados.

4.2.2 Determinação de bromo e iodo em cereais e leguminosas

O método proposto, utilizando 500 mg de amostra e NH_4OH 50 mmol L^{-1} como solução absorvedora foi aplicado para 34 amostras, incluindo diferentes espécies e subgrupos de cereais e leguminosas. Dentre as amostras avaliadas, estão inclusas amostras provenientes da Alemanha, Brasil, Chile, EUA, Índia e Uruguai. Os resultados obtidos por ICP-MS para bromo e iodo após decomposição por MIC estão apresentados na Tabela 8.

Tabela 8. Concentrações de bromo e iodo em diversas espécies e subgrupos de cereais e leguminosas provenientes de diferentes países, determinadas por ICP-MS após decomposição por MIC (média \pm desvio padrão, n=3).

Amostra (origem)	Concentração (mg kg ⁻¹)	
	Bromo	Iodo
Arroz branco 1 (BRA)	0,398 \pm 0,018	0,021 \pm 0,001
Arroz branco 2 (URU)	0,822 \pm 0,046	0,012 \pm 0,001
Arroz branco 3 (CHL)	12,5 \pm 0,5	0,031 \pm 0,001
Arroz branco 4 (IND) [†]	24,9 \pm 0,5	0,008 \pm 0,001**
Arroz branco 5 (ALE)	0,304 \pm 0,018	0,013 \pm 0,001
Arroz branco 6 (EUA) [†]	55,7 \pm 2,5	0,005 \pm 0,001**
Arroz branco 7 (BRA)	0,662 \pm 0,036	0,005 \pm 0,001**
Arroz branco 8 (EUA)	0,321 \pm 0,023	0,009 \pm 0,001**
Arroz branco 9 (EUA)	0,408 \pm 0,015	0,007 \pm 0,001**
Arroz parboilizado 1 (BRA)	0,304 \pm 0,007	0,010 \pm 0,001
Arroz parboilizado 2 (ALE)	0,565 \pm 0,022	0,007 \pm 0,001**
Arroz parboilizado 3 (ALE)	0,557 \pm 0,042	0,007 \pm 0,001**
Arroz parboilizado 4 (URU)	0,808 \pm 0,029	0,011 \pm 0,001
Arroz parboilizado 5 (EUA)	1,04 \pm 0,03	0,012 \pm 0,001
Arroz integral 1 (BRA)	0,479 \pm 0,010	0,021 \pm 0,001
Arroz integral 2 (BRA)	0,605 \pm 0,046	0,028 \pm 0,002
Arroz integral 3 (ALE)	0,388 \pm 0,022	0,011 \pm 0,001
Arroz integral 4 (EUA)	0,878 \pm 0,047	0,005 \pm 0,001**
Arroz integral 5 (EUA)	9,64 \pm 0,82	0,006 \pm 0,001**
Arroz integral 6 (EUA)	0,764 \pm 0,024	0,010 \pm 0,001
Arroz selvagem (BRA)	2,21 \pm 0,16	0,015 \pm 0,001
Arroz preto 1 (BRA)	1,29 \pm 0,06	0,005 \pm 0,001**
Arroz preto 2 (EUA)	0,560 \pm 0,029	0,008 \pm 0,002**
Canjica de milho amarelo (BRA)	0,231 \pm 0,002	0,014 \pm 0,001
Milho de pipoca (BRA)	0,475 \pm 0,012	< 0,009*
Canjica de milho branco (BRA)	0,246 \pm 0,009	< 0,009*
Trigo (BRA)	0,799 \pm 0,028	0,022 \pm 0,001
Canjica de trigo (BRA)	1,13 \pm 0,06	0,030 \pm 0,001

Tabela 8. Continuação.

Feijão preto (BRA)	1,49 ± 0,08	< 0,009*
Feijão carioca (BRA)	0,811 ± 0,026	< 0,009*
Feijão branco (BRA)	0,423 ± 0,047	< 0,009*
Lentilha 1 (BRA)	2,49 ± 0,06	0,012 ± 0,001
Lentilha 2 (BRA)	2,07 ± 0,08	< 0,009*
Soja 1 (BRA)	1,36 ± 0,14	< 0,009*
Soja 2 (BRA)	1,17 ± 0,13	< 0,009*

Alemanha (ALE), Brasil (BRA), Chile (CHL), Estados Unidos da América (EUA), Índia (IND), Uruguai (URU); †Arroz branco *Basmati*; *LOQ; **Decomposição de 1 g de amostra.

Como pode ser observado na Tabela 8, para todas as amostras avaliadas, as concentrações de bromo foram sempre superiores às de iodo. Além disso, é possível observar que as concentrações de bromo variaram em uma ampla faixa (0,231 a 55,7 mg kg⁻¹), enquanto que para as concentrações de iodo o mesmo não foi observado (0,005 a 0,031 mg kg⁻¹). Três amostras de arroz branco (Arroz branco 4 e 6 (amostras de arroz *Basmati*) e Arroz branco 3) e uma amostra de arroz integral (Arroz integral 5) apresentaram concentrações de bromo de até 240 vezes maiores que as outras amostras. Esta elevada concentração obtida para o arroz *Basmati* também foi observado por Pinto e colaboradores (2016) em amostras da Espanha e de Portugal (PINTO et al., 2016). É importante mencionar que estas amostras não apresentaram comportamento semelhante no que diz respeito às concentrações de iodo. Desconsiderando as exceções (Arroz branco 3, 4 e 6, e Arroz integral 5), as maiores concentrações de bromo foram observadas nas amostras Arroz selvagem e Lentilha 1 e 2.

Considerando as espécies, subgrupos e a origem das amostras de arroz analisadas, pode-se observar que, de forma geral, não há um padrão nas concentrações do arroz cultivado no Brasil. Por outro lado, quando avaliado o arroz parboilizado, as amostras do Brasil mostraram baixas concentrações de bromo em comparação às duas amostras da Alemanha (Arroz parboilizado 2 e Arroz parboilizado 3). As concentrações de bromo nessas duas amostras da Alemanha foram similares. Para as amostras de arroz integral, a menor concentração de bromo foi observada na amostra oriunda da Alemanha, seguida pela amostra do Brasil.

Ainda, considerando os resultados obtidos para bromo nas amostras Arroz branco 1, Arroz parboilizado 1 e Arroz integral 1, as quais correspondem a uma mesma marca brasileira de arroz, é possível notar que o arroz parboilizado mostrou a menor concentração dentre os três subgrupos de arroz, enquanto o arroz integral mostrou a maior concentração entre eles. Assim, se for considerado que o arroz utilizado para a produção dos três subgrupos de arroz é proveniente do mesmo local de cultivo e, sendo submetidos às mesmas condições de cultivo, pode ser inferido que a maior parte do bromo está localizada na parte interna do grão (endosperma), enquanto a menor quantidade deste elemento está presente nas camadas externas do grão, que compõem o farelo. Isto pode ser confirmado pela diferença da concentração de bromo obtida para o arroz branco e o arroz integral, os quais têm como principal diferença durante o processo de produção, a remoção das camadas externas (processo de polimento). Nesse sentido, a menor concentração de bromo obtida para o arroz parboilizado pode estar relacionada à etapa de encharcamento que este subgrupo de arroz é submetido, o que pode ter causado a perda de bromo mais pronunciada do que quando as camadas externas são removidas pela etapa de polimento (arroz branco). Nesse contexto, o arroz integral, o qual não é submetido à etapa de encharcamento nem à etapa de polimento, mantém a concentração presente em todas as camadas, as quais não são removidas e assim, maiores concentrações são apresentadas.

Da mesma forma, para as amostras Arroz branco 9, Arroz parboilizado 5 e Arroz integral 4, as quais são pertencentes a uma mesma marca dos EUA, a maior concentração de bromo foi observada no arroz integral em comparação ao arroz branco. Contudo, o arroz parboilizado apresentou uma concentração de bromo maior que a observada para o arroz integral. Isto pode ser explicado pelo fato de que a amostra Arroz parboilizado 5 é enriquecida com algumas vitaminas, como descrito no rótulo do produto, o que pode ter causado esta diferença na concentração.

Com relação às concentrações de iodo para as amostras Arroz branco 1, Arroz parboilizado 1 e Arroz integral 1 (de uma mesma marca brasileira), é possível observar que o arroz branco e o arroz integral apresentaram concentrações similares deste elemento, enquanto que a menor concentração de iodo foi observada para o arroz parboilizado. Este comportamento pode estar também relacionado a perdas deste elemento durante a etapa de encharcamento, a qual o arroz é submetido para a obtenção do arroz parboilizado. Neste caso, os resultados

sugerem que todo o iodo presente no arroz está localizado na endosperma, uma vez que não existem diferenças significativas (teste t de *Student*) para as concentrações de iodo observadas para o arroz branco e o arroz integral. Para as amostras pertencentes a uma mesma marca dos EUA (Arroz branco 9, Arroz parboilizado 5 e Arroz integral 4), as concentrações de iodo para o arroz branco e o arroz integral não apresentaram diferenças significativas (teste t de *Student*). Entretanto, o arroz parboilizado (Arroz parboilizado 5) apresentou uma concentração superior às demais, o que pode estar relacionada ao enriquecimento realizado nesta amostra.

Ainda, é importante destacar que a variação nas concentrações de iodo para o arroz branco (0,005 a 0,031 mg kg⁻¹) foi similar a variação observada para o arroz integral (0,007 a 0,028 mg kg⁻¹). Por outro lado, o arroz parboilizado foi o subgrupo de arroz que apresentou as menores concentrações, bem como a menor variação (0,005 a 0,012 mg kg⁻¹). Em geral, as variações observadas nas amostras de arroz de diferentes subgrupos e regiões podem estar associadas a diversos fatores, como a composição do solo, processo de cultivo, os diferentes procedimentos que o arroz é submetido nas indústrias, bem como aos agrotóxicos utilizados durante o cultivo, como compostos bromados (KONGSRI et al., 2016).

Com relação às amostras de milho, a amostra Milho de pipoca apresentou maior concentração de bromo, enquanto que a amostra Canjica de milho amarelo foi a única que apresentou concentração de iodo acima do LOQ para este elemento. A amostra Canjica de trigo apresentou as maiores concentrações de ambos elementos quando comparada à amostra Trigo.

Considerando as amostras de leguminosas, pode-se perceber que as concentrações de bromo nas amostras de feijão variaram de acordo com espécie desta leguminosa. Por outro lado, todas as amostras de feijão apresentaram concentrações de iodo abaixo do LOQ. Apesar das amostras Lentilha 1 e Lentilha 2 apresentarem concentrações de bromo similares, apenas a amostra Lentilha 1 apresentou concentração de iodo acima do LOQ, sendo a única leguminosa com o valor de iodo possível de ser quantificado. As amostras de soja apresentaram concentrações de bromo semelhantes, enquanto que as concentrações de iodo ficaram abaixo do LOQ.

A partir dos resultados obtidos, estimou-se a quantidade de cada cereal ou leguminosa avaliado que deve ser ingerida para fornecer as quantidades recomendadas de ingestão diária de bromo e iodo, considerando uma pessoa adulta

de 75 kg (300 mg e 150 µg, respectivamente), que utilize estes alimentos como única fonte dos elementos citados. Os valores obtidos estão apresentados na Tabela 9.

Tabela 9. Estimativa da quantidade das amostras que precisaria ser ingerida para suprir a ingestão diária recomendada para bromo e iodo.

Amostra (origem)	Quantidade a ser ingerida (kg dia ⁻¹)	
	IDR* bromo	IDR* iodo
Arroz branco 1 (BRA)	754	7
Arroz branco 2 (URU)	365	13
Arroz branco 3 (CHL)	24	5
Arroz branco 4 (IND)	12	19
Arroz branco 5 (ALE)	987	12
Arroz branco 6 (EAU)	5	30
Arroz branco 7 (BRA)	453	30
Arroz branco 8 (EUA)	934	17
Arroz branco 9 (EUA)	735	21
Arroz parboilizado 1 (BRA)	987	15
Arroz parboilizado 2 (ALE)	531	21
Arroz parboilizado 3 (ALE)	539	21
Arroz parboilizado 4 (URU)	371	14
Arroz parboilizado 5 (EUA)	371	14
Arroz integral 1 (BRA)	626	7
Arroz integral 2 (BRA)	496	5
Arroz integral 3 (ALE)	773	14
Arroz integral 4 (EUA)	341	30
Arroz integral 5 (EUA)	31	25
Arroz integral 6 (EUA)	993	15
Arroz integral selvagem (BRA)	136	10
Arroz integral preto 1 (BRA)	232	30
Arroz integral preto 2 (EUA)	536	19

Tabela 9. Continuação.

Canjica de milho amarelo (BRA)	1300	11
Milho de pipoca (BRA)	631	-
Canjica de milho branco (BRA)	1220	-
Trigo (BRA)	375	7
Canjica de trigo (BRA)	265	5
Feijão preto (BRA)	201	-
Feijão carioca (BRA)	370	-
Feijão branco (BRA)	709	-
Lentilha 1 (BRA)	120	13
Lentilha 2 (BRA)	145	-
Soja 1 (BRA)	220	-
Soja 2 (BRA)	256	-

Alemanha (ALE), Brasil (BRA), Chile (CHL), Estados Unidos da América (EUA), Índia (IND), Uruguai (URU). *Ingestão Diária Recomendada.

Como pode ser observado na Tabela 9, as quantidades a serem ingeridas variam de aproximadamente 5 a 1300 kg por dia para obter a ingestão recomendada de bromo. Enquanto que para obter a ingestão recomendada de iodo, a quantidade a ser ingerida variou de aproximadamente 5 a 30 kg por dia.

4.3 COMPARAÇÃO ENTRE OS RESULTADOS OBTIDOS E OUTROS ESTUDOS

As concentrações de cloro e enxofre determinadas em cereais e leguminosas neste estudo foram comparadas a outros estudos e os resultados são apresentados na Tabela 10.

De acordo com os estudos apresentados na Tabela 10, para as amostras de arroz, as concentrações de cloro foram maiores nas amostras provenientes da China e do Japão (WANG; LI, 2012). Ainda, neste trabalho, pode-se perceber que a menor e a maior concentração de enxofre foram obtidas em amostras provenientes da Alemanha.

Tabela 10. Comparação entre os resultados obtidos para cloro e enxofre em cereais e leguminosas reportados na literatura e os obtidos neste trabalho.

Amostra	Origem	Concentração (mg kg ⁻¹)		Referência
		Cl	S	
Arroz	ALE	99 – 138	640 – 4990	Neste trabalho
	BRA	134 - 341	665 – 1858	
	CHL	218	790	
	EUA	215 - 622	729 – 1679	
	IND	237	1177	
	URU	217 - 219	884 – 1205	
	CAN	222 – 251	1116 – 1865	Soliman; Zikovsky, 1999
	IND	520	-	Singh; Garg, 2006
	JAM	-	912 – 1671	Antoine et al., 2012
	TAI	176 - 347	-	Laoharajanaphand et al., 2012
Milho	CHN/JAP	705 - 1299	-	Wang & Li, 2012
	JAM	-	912 – 1671	Grant et al., 2013
	BRA	442 – 791	768 – 1191	Neste trabalho
Trigo	GAN	1000	< 150	Nyarko et al., 2006
	IND	570	-	Singh & Garg, 2006
	BRA	388 – 396	1300 – 1338	Neste trabalho
Trigo	CAN	719	3040	Soliman; Zikovsky, 1999
	IND	1700	-	Balaji et al., 2000
	IND	1420	-	Singh; Garg, 2006

Tabela 10. Continuação.

Feijão	BRA	70 – 194	1875 – 2086	Neste trabalho
	CHN/EUA/JAP	95 – 180	-	Miyamoto et al., 2000
	TAI	< 5 - 640	-	Laoharajanaphand et al., 2012
Soja	BRA	33 – 49	2544 – 2806	Neste trabalho
	CHN/EUA/JAP	47 – 87	-	Miyamoto et al., 2000
	BRA	22 – 33	-	Barbosa et al., 2013
	TAI	46	-	Laoharajanaphand et al., 2012

Alemanha (ALE), Brasil (BRA), Canadá (CAN), Chile (CHL), China (CHN), Estados Unidos da América (EUA), Gana (GAN), Índia (IND), Jamaica (JAM), Japão (JAP), Tailândia (TAI), Uruguai (URU).

Com relação às amostras de trigo, Balaji e colaboradores (2000) e Singh e Garg (2006) obtiveram as maiores concentrações de cloro em amostras provenientes da Índia (BALAJI et al., 2000; SINGH; GARG, 2006). Por outro lado, a maior concentração de enxofre foi observada por Soliman e Zikovsky (1999) em amostras provenientes do Canadá (SOLIMAN; ZIKOVSKY, 1999), as quais foram cerca de duas vezes maiores que as amostras provenientes do Brasil avaliadas no presente trabalho. Por fim, em relação às amostras de leguminosas apresentadas na Tabela 10 (feijão e lentilha), estas apresentaram as menores concentrações de cloro dentre todos os grãos avaliados.

Considerando as amostras de milho, Nyarko e colaboradores (2006) obtiveram as maiores concentrações de cloro em amostras provenientes de Gana (NYARKO et al., 2006), enquanto a concentração deste elemento obtida por Singh e Garg (2006) está dentro da faixa de concentração obtida no presente estudo (amostras do Brasil).

É importante mencionar que não foram encontrados trabalhos que determinaram as concentrações de bromo e iodo em lentilha. Provavelmente isto

esteja atrelado ao fato deste alimento ser consumido em menores proporções quando comparado às demais.

Entre as amostras de milho apresentadas na Tabela 10, pode-se verificar que a amostra oriunda de Gana apresentou a maior concentração de cloro (NYARKO et al., 2006), enquanto apenas as amostras utilizadas no presente estudo (oriundas do Brasil) apresentaram concentrações possíveis de serem quantificadas.

Os resultados obtidos neste estudo para as concentrações de bromo e iodo determinadas em cereais e leguminosas também foram comparados aos de outros estudos reportados na literatura e esta comparação é apresentada na Tabela 11.

Como pode ser observado na Tabela 11, em geral, as concentrações de bromo em arroz, publicadas na literatura, variaram em uma ampla faixa, de $< 0,1$ a 201 mg kg^{-1} , considerando todas as amostras. A maior concentração (201 mg kg^{-1}) foi observada para o arroz branco proveniente do continente europeu (Espanha ou Portugal) (PINTO et al., 2016), enquanto a menor concentração de bromo foi observada no arroz proveniente da Tailândia (KONGSRI et al., 2016).

Pode-se notar que Laoharajanaphand e colaboradores (2012) e Kongsri e colaboradores (2016), que analisaram amostras de arroz provenientes da Tailândia, observaram uma similar variação nas concentrações de bromo nas amostras deste país ($< 0,1$ a $0,75 \text{ mg kg}^{-1}$) (LAOHAROJANAPHAND et al., 2012; KONGSRI et al., 2016). Ambos utilizaram a INAA como técnica de determinação e também obtiveram valores de LOD similares.

Tabela 11. Comparação entre os resultados obtidos para bromo e iodo em cereais e leguminosas reportados na literatura e os obtidos neste trabalho.

Amostra	Origem	Concentração (mg kg ⁻¹)		Referência	
		Bromo	Iodo		
Arroz	ALE	0,304 – 0,565	0,007 – 0,013	Neste trabalho	
	BRA	0,304 – 2,21	0,005 – 0,028		
	CHL	12,5	0,031		
	EUA	0,321 – 55,7	0,005 – 0,010		
	IND	24,9	0,008		
	URU	0,808 – 0,822	0,011 – 0,012		
	CAN	27 - 42	-		Soliman; Zikovsky, 1999
	IND	18	-		Singh; Garg, 2006
	JAM	0,273 - 113	-		Antoine et al. 2012
	TAI	< 0,1 – 0,75	< 0,38		Laoharojanaphand et al. 2012
	JAM	0,25 - 113	-		Grant et al., 2013
	TAI	< 0,1 – 0,75	-		Kongsri et al., 2016
	ESP/POR	0,320 - 201	-	Pinto et al., 2016	
Milho	BRA	0,231 – 0,475	< 0,009 - 0,014	Neste trabalho	
	GAN	1,4	-	Nyarko et al., 2006	
	IND	36	-	Singh; Garg, 2006	
Trigo	BRA	0,799 – 1,13	0,022 – 0,030	Neste trabalho	
	CAN	< 1	-	Soliman; Zikovsky, 1999	
	IND	2,6	-	Balaji et al., 2000	
	IND	28	-	Singh; Garg, 2006	
Feijão	BRA	0,423 – 1,49	< 0,009	Neste estudo	
	CHN/EUA/JAP	0,33 – 1,69	-	Miyamoto et al., 2000	
	TAI	0,12 – 13,5	-	Laoharojanaphand et al. 2012	

Tabela 11. Continuação.

Soja	BRA	1,17 – 1,36	< 0,009	Neste trabalho
	CHN/EUA/JAP	3,3 – 8,2	-	Miyamoto et al., 2000
	TAI	2	0,92	Laoharajanaphand et al. 2012
	BRA	3 – 10	< 0,002	Barbosa et al., 2013

Alemanha (ALE), Brasil (BRA), Canadá (CAN), Chile (CHL), China (CHN), Espanha (ESP), Estados Unidos da América (EUA), Gana (GAN), Índia (IND), Jamaica (JAM), Japão (JAP), Portugal (POR), Tailândia (TAI), Uruguai (URU).

Dentre os estudos citados, apenas Soliman e Zikovsky (1999) e Laoharajanaphand e colaboradores (2012) realizaram a determinação de iodo, contudo, em ambos os estudos, todas as amostras avaliadas apresentaram resultados abaixo dos LODs dos métodos, que foram de 0,2 e 0,38 mg kg⁻¹, respectivamente (SOLIMAN; ZIKOVSKY, 1999; LAOHAROJANAPHAND et al., 2012).

Com relação às amostras de milho, pode-se observar que as amostras provenientes da Índia apresentaram as maiores concentrações de bromo (SINGH; GARG, 2006), enquanto que as amostras provenientes do Brasil apresentaram as menores concentrações deste elemento. O mesmo comportamento pode ser observado para as amostras de trigo.

Para as amostras de feijão, pode-se observar que as concentrações obtidas no presente estudo foram similares às concentrações obtidas para as amostras provenientes da China, EUA e Japão (MIYAMOTO et al., 2000). Por fim, as amostras de soja utilizadas no presente trabalho apresentaram as menores concentrações de bromo dentre todas apresentadas na Tabela 10, ao passo que algumas amostras provenientes do Brasil (BARBOSA et al., 2013), China, EUA e Japão (MIYAMOTO et al., 2000) apresentaram as maiores concentrações deste elemento. Enquanto somente as amostras provenientes da Tailândia apresentaram concentrações de iodo acima do limite de detecção (LAOHAROJANAPHAND et al., 2012).

Ainda, com base nos resultados obtidos comparando os diferentes métodos, é possível afirmar que os métodos propostos, que consistem no preparo das amostras

por MIC e determinação por IC (cloro e enxofre) e por ICP-MS (bromo e iodo) foram adequados para a determinação de halogênios e enxofre em cereais e leguminosas. Além disso, é importante destacar que a utilização da MIC proporciona uma grande vantagem aos métodos no que diz respeito à robustez, pois permite a decomposição e análise de uma ampla variedade de cereais e leguminosas. Outra vantagem é com relação a utilização de água ultrapura ou solução alcalina diluída (NH_4OH 50 mmol L^{-1}) como solução absorvedora, o que reduz o consumo de reagentes e minimiza a geração de resíduos. As características dos métodos propostos apresentam diversas vantagens sobre os métodos existentes, que utilizam técnicas de análise de difícil acesso, elevado custo e que apresentam elevados LODs, como a INAA. Ademais, uma análise completa (irradiação, decaimento e medida da radiação) por INAA pode variar de 5 minutos a 3 meses, dependendo dos radionuclídeos usados para a determinação dos analitos, o que faz diminuir consideravelmente a frequência de análise.

Antoine e colaboradores (2012) e Wang e Li (2010) utilizaram ácidos concentrados para o preparo das amostras, o que não é recomendado quando se visa à determinação de halogênios. Ainda, em ambos os estudos, previamente ao procedimento de digestão das amostras, estas permaneciam com ácido durante a noite (ANTOINE et al., 2012; WANG; LI, 2010). Contudo, nenhum destes métodos determinou mais de um analito (cloro e enxofre ou bromo e iodo), diferente do presente estudo. Assim, o presente estudo mostrou uma grande vantagem com relação ao consumo de reagentes e geração de resíduos comparado aos trabalhos citados.

Barbosa e colaboradores (2013) utilizaram o método de MIC para a decomposição de soja e produtos derivados, e ICP-MS para a determinação de bromo, cloro e iodo. Entretanto, os autores necessitaram utilizar uma cela de reação dinâmica, com amônia como gás de arraste, a fim de minimizar as interferências para o isótopo de cloro.

Por fim, vale ressaltar que assim como para bromo e iodo, para cloro e enxofre também não foram encontrados trabalhos que determinassem esses elementos em lentilha.

Ademais, na Tabela 12 é possível observar que os LODs obtidos no presente estudo foram baixos, e na maioria das vezes inferiores aos relatados na literatura. Apesar do LOD obtido para cloro no presente estudo ser superior aos outros

métodos que relatam valores para esse elemento, cabe mencionar que utilizando o método proposto foi possível a quantificação da concentração desse elemento em todas as amostras avaliadas.

Tabela 12. Comparação entre os limites de detecção obtidos para bromo, cloro, iodo e enxofre em cereais e leguminosas reportados na literatura e os obtidos neste trabalho.

Limites de detecção (mg kg⁻¹)				Referência
Cl	S	Br	I	
9,2	8,3	0,012	0,006	Neste trabalho
-	70	1	0,2	Soliman; Zikovsky, 1999
1	150	0,05	-	Nyarko et al., 2006
-	10	0,02	-	Antoine et al., 2012
5	-	0,12	0,05	Laoharajanaphand et al., 2012
1,2	-	0,03	0,002	Barbosa et al., 2013
-	-	0,1	-	Kongsri et al., 2016
-	-	0,01	-	Pinto et al., 2016

5 CONCLUSÃO

Tendo em vista os resultados apresentados, ambos métodos propostos, os quais empregam a MIC (utilizando diferentes soluções absorvedoras para cada método) como método de preparo e posterior determinação de cloro e enxofre por IC e de bromo e iodo por ICP-MS em cereais e leguminosas foram considerados adequados para as suas finalidades. Além disso, os métodos apresentaram importantes características para a aplicação em análises de rotina, como por exemplo, a segurança e a elevada frequência de análise (ambos podem decompor 8 amostras em menos de 30 min), e precisão e exatidão adequadas. Ademais, cabe salientar que ambos métodos podem ser considerados ambientalmente amigáveis, uma vez que o consumo de reagentes é mínimo (água ultrapura ou NH_4OH 50 mmol L^{-1}) e, conseqüentemente, também é mínima a geração de resíduos, além dos digeridos serem adequados às técnicas de determinação empregadas.

Ambos os métodos, possibilitaram a obtenção de importantes informações a cerca dos valores nutricionais relativos a presença de halogênios e enxofre em diferentes espécies e subgrupos de cereais e leguminosas. Nesse contexto, cabe mencionar que ambos os métodos proporcionaram a obtenção de baixos LODs e LOQs, o que permitiu a determinação de elementos em nível traço em todos alimentos avaliados.

Baseado no que foi exposto, é importante mencionar que o objetivo do presente trabalho foi alcançado, o qual foi o desenvolvimento de métodos que possibilitassem a determinação de bromo, cloro, iodo e enxofre nas amostras utilizadas. Assim, as discussões realizadas acerca das diferentes concentrações obtidas para as diferentes espécies e subgrupos de grãos não podem confirmar com certeza a fonte desses elementos ou fatores que influenciaram para a obtenção das variações observadas.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AL-DAYEL, O. A. F.; AL-KAHTANI, S. A. Elemental content in wheat products of Al-Qusim region, Saudi Arabia using the INAA technique. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v.252, p.605-609, 2002.

ANTES, F. G.; PEREIRA, J. S. F.; ENDERS, M. S. P.; MOREIRA, C. M. M.; MULLER, E. I.; FLORES, E. M. M.; DRESSLER, V. L. Pyrohydrolysis of carbon nanotubes for Br and I determination by ICP-MS. **Microchemical Journal**, v.101, p.54-58, 2012.

ANTOINE, J. M. R.; FUNG, L. A. H.; GRANT, C. N.; DENNIS, H. T.; LALOR, G. C. Dietary intake of minerals and trace elements in rice on the Jamaican market. **Journal of Food and Composition Analysis**, v.26, p.111-121, 2012.

BALAJI, T.; ACHARYA, R. N.; NAIR, A. G. C.; REDDY, A. V. R.; RAO, K. S.; NAIDU, G. R. K.; MANOHAR, S. B. Multielement analysis in cereals and pulses by ko instrumental neutron activation analysis. **Science of the Total Environment**, v.253, p.75-79, 2000.

BARBOSA, J. T. P.; SANTOS, C. M. M.; BISPO, L. S.; LYRA, F. H.; DAVID, J. M.; KORN, M. G. A.; FLORES, E. M. M. Bromine, chlorine, and iodine determination in soyabean and its products by ICP-MS after digestion using microwave-induced combustion. **Food Analytical Methods**, v.6, p.1065-1070, 2013.

BARNES, R. M.; SANTOS JÚNIOR, D.; KRUG, F. J. Introduction to sample preparation for trace element determination. In: *Microwave-Assisted Sample Preparation for Trace Element Analysis*. Elsevier: Amsterdam, 2014. p.1-58.

BLAKE, J. S.; MUNOZ, K.; VOLPE, S. **Nutrition: from science to you**. San Francisco: Benjamin Cummings, 2009. 936 p.

BROUGHTON, W. J.; HERNÁNDEZ, G.; BLAIR, M.; BEEBE, S.; GEPTS, P.; VANDDERLEYDEN, J. Beans (*Phaseolus* spp.) – model food legumes. **Plant and Soil**, v.252, p.55-128, 2003.

COELHO JUNIOR, G. S.; PEREIRA, R. M.; HARTWIG, C. A.; TORALLES, I. G.; PEREIRA, C. M. P.; COSTA, V. C.; MESKO, M. F. Determinação de Cl e S em algas marinhas comestíveis por cromatografia de íons após decomposição por combustão iniciada por micro-ondas. **Revista Virtual de Química**, v.9, p.492-501, 2017.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Fundamentos de cromatografia**. Campinas: UNICAMP, 2006. 452 p.

COSTA, V. C.; PICOLOTO, R. S.; HARTWIG, C. A.; MELLO, P. A.; FLORES, E. M. M.; MESKO, M. F. Feasibility of ultra-trace determination of bromine and iodine in honey by ICP-MS using high sample mass in microwave-induced combustion. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v.407, p.7957-7964, 2015.

COZZOLINO, S. M. F. **Biodisponibilidade de nutrientes**. Barueri: Manole, 2012. 1368 p.

CRESSEY, P. J. Iodine content of New Zealand dairy products. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.16, p.25-36, 2003.

CRIZEL, M. G.; HARTWIG, C. A.; NOVO, D. L. R.; TORALLES, I. G.; SCHMIDT, L.; MULLER, E. I.; MESKO, M. F. A new method for chlorine determination in commercial pet food after decomposition by microwave-induced combustion. **Analytical Methods**, v.7, p.4315-4320, 2015.

DE RON, A. M. **Grain Legumes**. New York: Springer, 2015. 438 p.

DEANGELO, A. B.; GEORGE, M. H.; KILBURN, S. R.; MOORE, T. M.; WOLF, D. C. Carcinogenicity of potassium bromate administered in the drinking water to male B6C3F1 mice and F344/N rats. **Toxicologic Pathology**, v.26, p.587-594, 1998.

DELKER, D.; HATCH, G.; ALLEN, D.; CRISSMAN, B.; GEORGE, M.; GETER, D.; KILBURN, S.; MOORE, T.; NELSON, G.; ROOP, B.; SLADE, R.; SWANK, A.; WARD, W.; DEANGELO, A. Molecular biomarkers of oxidative stress associated with bromate carcinogenicity. **Toxicology**, v.221, p.158-165, 2006.

ECKHOFF, K. M.; MAAGE, A.; Iodine content in fish and other food products from east Africa analyzed by ICP-MS. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.10, p.270-282, 1997.

EITH, C.; KOLB, M.; RUMI, A.; SEUBERT, A.; VIEHWEGER, K. H. **Práticas em cromatografia de íons: uma introdução**. Herisau: Monografia Metrohm, 2007. 142 p.

FAO/WHO – **Expert consultation on human vitamin and mineral requirements**. Geneva: World health Organization & Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2004.

FLORES, E. M. M.; BARIN, J. S.; MESKO, M. F.; KNAPP, G.; Sample preparation techniques based on combustion reactions in closed vessels – a brief overview and recent applications. **Spectrochimica Acta Part B**, v.62, p.1051-1064, 2007.

FLORES, E. M. M.; BARIN, J. S.; PANIZ, J. N. G.; MEDEIROS, J. A.; KNAPP, G. Microwave-assisted sample combustion: a technique for sample preparation in trace element determination. **Analytical Chemistry**, v.76, n.13, p.3526-3529, 2004.

FLORES, E. M. M.; FLORES, E. L. M.; PANIZ, J. N. G.; BARIN, J. S.; MESKO, M. F.; KRUG, F. J. Decomposição de materiais orgânicos por combustão. In: KRUG, F. J.; ROCHA, F. R. P. **Métodos de preparo de amostras para análise elementar**. Piracicaba: EditSBQ, 2016. p. 386-472.

FLORES, E. M. M.; MESKO, M. F.; MORAES, D. P.; PEREIRA, J. S. F.; MELLO, P. A.; BARIN, J. S.; KNAPP, G. Determination of halogens in coal after digestion using microwave-induced combustion technique. **Analytical Chemistry**, v.80, p.1865-1870, 2008.

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

HARTWIG, C. A.; TORALLES, I. G.; CRIZEL, M. G.; MULLER, A. L. H.; PICOLOTO, R. S.; FLORES, E. M. M.; MESKO, M. F. Determination of bromine and iodine in shrimp and its parts by ICP-MS after decomposition using microwave-induced combustion. **Analytical Methods**, v.6, p.7540-7546, 2014.

IBGE (Instituto Nacional de Geografia e Estatística). **Indicadores IBGE - Estatística da Produção Agrícola** – 2013, 2014, 2015, 2016 e 2017. Disponível em: ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Fasciculo_Indicadores_IBGE/. Acessado em: agosto de 2017.

INMETRO (Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia). **Orientação sobre validação de métodos analíticos**. 2010. Disponível em: http://www.inmetro.gov.br/sidoq/arquivos/cgre/doq-cgcre-8_03.pdf. Acessado em: junho de 2017.

JARVIS, K. E.; GRAY, A. L.; HOUK, R. S. **Handbook of inductively coupled plasma mass spectrometry**. Glasgow: Blackie, 1992.

KNAPP, G., MAICHIN, B., FECHER, P., HASSE, S., SCHRAMEL, P. Iodine determination in biological materials - options for sample preparation and final determination. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**, v.362, p.508-513, 1998.

KOHLMEIER, M. **Nutrient metabolism**. Amsterdam: Academic Press, 2003. 829 p.

KONGSRI, S.; SRINUTTRAKUL, W. SOLA, P.; BISAMONGKOL, A. Instrumental neutron activation analysis of selected elements in Thai jasmine rice. **Energy Procedia**, v.89, p.361-365, 2016.

KRATOCHVIL, B. G. Sampling and sample preparation for trace element analysis. In: MESTER, Z.; STURGEON, R. E. **Sample preparation for trace element analysis**. Amsterdam: Elsevier, 2003. p.1-21.

KRUG, F. J.; NÓBREGA, J. A. A sequência analítica. In: KRUG, F. J.; ROCHA, F. R. P., **Métodos de preparo de amostras para análise elementar**. Piracicaba: EditSBQ, 2016. p. 16-32.

LAOHAROJANAPHAND, S.; BUSAMONGKOL, A.; PERMNAMTIP, V.; JUDPRASONG, K.; CHATT, A. A pilot study to measure levels of selected elements in Thai foods by instrumental neutron activation analysis. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v.294, p.323-327, 2012.

LAURSEN, K. H.; HANSEN, T. H.; PERSSON, D. P.; SCHJOERRING, J. K.; HUSTED, S. Multi-elemental fingerprinting of plant tissue by semi-quantitative ICP-MS and chemometrics. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v.24, p.1198-1207, 2009.

MARTÍNEZ-SIERRA, J. G.; SAN BLAS, O. G.; GAYÓN, J. M. M.; ALONSO, J. I. G. Sulfur analysis by inductively coupled plasma-mass spectrometry: A review. **Spectrochimica Acta Part B**, v.108, p.35-52, 2015.

MAZOYER, M.; ROUDART, L. **História das agriculturas no mundo: do neolítico à crise contemporânea**. São Paulo: Unesp, 2010. 568 p.

MCCALL, A. S.; CUMMINGS, C. F.; BHAVE, G.; VANACORE, R.; PAGE-MCCAW, A.; HUDSON, B. G. Bromine is an essential trace element for assembly of collagen IV scaffolds in tissue development and architecture. **Cell**, v.157, p.1380-1392, 2014.

MELLO, P. A.; BARIN, J. S.; DUARTE, F. A.; BIZZI, C. A.; DIEHL, L. O.; MULLER, E. I.; FLORES, E. M. M. Analytical methods for the determination of halogens in bioanalytical sciences: a review. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v.405, p.7615-7642, 2013.

MESKO, M. F. Determinação de halogênios em carvão, coque petroquímico e alimentos após combustão iniciada por microondas. 2008. 156f. Tese (Doutorado em Química) – Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

MESKO, M. F.; COSTA, V. C.; PICOLOTO, R. S.; BIZZI, C. A.; MELLO, P. A. Halogen determination in food and biological materials using plasma-based techniques: challenges and trends of sample preparation. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v.31, p.1243-1261, 2016.

MESKO, M. F.; TORALLES, I. G.; HARTWIG, C. A.; COELHO JR., G. S.; MULLER, A. L. H.; BIZZI, C. A.; MELLO, P. A. Bromine and iodine contents in raw and cooked shrimp and its parts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 2016, 64, 1817-1822.

MIYAMOTO, Y.; KAJIKAWA, A.; ZAIDI, J. H.; NAKANISHI, T.; SAKAMOTO, K. Minor and trace element determination of food spices and pulses of different origins by NAA and PAA. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 243, p.747-765, 2000.

MONTONEN, J.; KNEKT, P.; JÄRVINEN, R.; AROMAA, A.; REUNANEN, A. Whole-grain and fiber intake and the incidence of type 2 diabetes. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.77, p.622-629, 2003.

NÓBREGA, J. A.; SANTOS, M. C.; SOUSA, R. A.; CADORE, S.; BARNES, R. M.; TATRO, M. Review: Sample preparation in alkaline media. **Spectrochimica Acta Part B**, v.61, p.465-495, 2006.

NOVO, D. L. R.; PEREIRA, R. M.; HARTWIG, C. A.; SANTOS, C. M. M.; MESKO, M. F. A selective volatilization method for determination of chloride and sulfate in calcium carbonate pharmaceutical raw material and commercial tablets. **Talanta**, v.181, p.440-447, 2018.

NYARKO, B. J. B.; AKAHO, E. H. K.; FLETCHER, J. J.; ZWICKER, B.; CHATT, A. Simultaneous determination of short-to-medium lived nuclides in Ghanaian food items using INAA and Compton suppression counting. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v.270, p.243-248, 2006.

OTTEN, J. J.; HELLWIG, J. P.; MEYERS, L. D. **Dietary Reference Intakes: The Essential Guide to Nutrient Requirements**. Washington: National Academies Press, 2006. 1329 p.

PARAGINSKI, R. T.; SOUZA, N. L.; ALVES, G. H.; ZIEGLER, V.; OLIVEIRA, M.; ELIAS, M. C. Sensory and nutritional evaluation of popcorn kernels with yellow, white and red pericarps expanded in different ways. **Journal of Cereal Science**, v.69, p.383-391, 2016.

PEREIRA, J. S.; DIEHL, L. O.; DUARTE, F. A.; SANTOS, M. F.; GUIMARAES, R. C.; DRESSLER, V. L.; FLORES, E. M. M. Chloride determination by ion chromatography in petroleum coke after digestion by microwave-induced combustion. **Journal of Chromatography A**, v.1213, p.249-252, 2008.

PINTO, E., ALMEIDA, A., FERREIRA, I. M. P. L. V. O. (2016). Essential and non-essential/toxic elements in rice available in the Portuguese and Spanish markets. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.48, p.81-87, 2016.

PORTAL PLANALTO - Responsável por 23% do PIB, Plano Safra impulsiona agropecuária. Junho de 2015. Disponível em: <http://www2.planalto.gov.br/noticias/2015/06/responsavel-por-23-do-pib-plano-safra-impulsiona-agropecuaria>. Acessado em: agosto de 2017.

PRYSTUPA, J. Fluorine – a current literature review. An NRC and ATSDR based review of safety standards for exposure to fluorine and fluorides. **Toxicology Mechanisms Methods**, v.21, p.103-170, 2011.

RIBAS-FITÓ, N.; CARDO, E.; SALA, M.; MUGA, E.; MAZÓN, C.; VERDÚ, A.; KOGEVINAS, M.; GRIMALT, J. O.; SUNYER, J. Breastfeeding, exposure to organochlorine compounds, and neurodevelopment in infants. **Pediatrics**, v.111, p.e580-e585, 2003.

ROMARÍS–HORTAS, V.; GARCÍA-SARTAL, C.; BARCIELA-ALONSO, M. C.; DOMÍNGUEZ-GONZÁLEZ, R.; MOREDA-PIÑEIRO, A.; BERMEJO-BARRERA, P. Bioavailability study using an in-vitro method of iodine and bromine in edible seaweed. **Food Chemistry**, v.124, p.1747-1752, 2011.

ROSE, M.; MILLER, P.; BAXTER, M.; APPLETON, G.; CREWS, H.; CROASDALE, M. Bromine and iodine in 1997 UK total diet study samples. **Journal of Environmental Monitoring**, v.3, p.361-365, 2001.

SCHMIDT, L.; BIZZI, C. A.; ROSA, F. C.; CRUZ, S. M.; BARIN, J. S.; FLORES, E. M. M. Microwave-induced combustion: towards a robust and predictable sample preparation method. **New Journal of Chemistry**, v.41, p.6902-6910, 2017.

SCHÖNIGER, W. Eine mikroanalytische Schnellbestimmung von Halogen in organischen substanzen. **Microchimica Acta**, v.43, p.123-129, 1955.

SHARMA, S.; SHEEHY, T.; KOLONEL, L. N. Ethnic differences in grains consumption and their contribution to intake of B-vitamins: results of the multiethnic cohort study. **Nutrition Journal**, v.12, p.1-9, 2013.

SINGH, V.; GARG, A. N. Availability of essential trace elements in Indian cereals, vegetables and spices using INAA and the contribution of spices to daily dietary intake. **Food Chemistry**, v.94, p.81-89, 2006.

SLAVIN, J. Mechanisms for the impact of whole grain foods on cancer risk. **Journal of the American College Nutrition**, v.19, p.300S-307S, 2000.

SOLIMAN, K.; ZIKOVSKY, L. Determination of Br, Ca, Cl, Co, Cu, I, K, Mg, Mn, Na, Rb, S, Ti and V in cereals, oils, sweeteners and vegetables sold in Canada by neutron activation analysis. **Journal of Food and Composition Analysis**, v.12, p.85-89, 1999.

SOUZA, G. B.; CARRILHO, E. N. V. M.; OLIVEIRA, C. V.; NOGUEIRA, A. R. A.; NÓBREGA, J. A. Oxygen bomb combustion of biological samples for inductively coupled plasma optical emission spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v.57, p.2195-2201, 2002.

TOPPING, D. Cereal complex carbohydrates and their contribution to human health. **Journal of Cereal Science**, v.46, p.220-229, 2007.

TORALLES, I. G. **Desenvolvimento de método para a determinação de halogênios e enxofre em ovo integral desidratado e suas frações**. 2015. 113 f. Dissertação (Mestrado em Ciências – Bioquímica e Bioprospecção) – Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2015.

VAN DOKKUM, W.; DE VOS, R. H.; MUYS, T. H.; WESSTRA, J. A. Minerals and trace elements in total diets in The Netherlands. **British Journal of Nutrition**, v.61, p.7-15, 1989.

VARGA, I. Iodine determination in dietary supplement products by TXRF and ICP-AES spectrometry. **Microchemical Journal**, v.85, p.127-131, 2007.

VOBECKY, M.; BABICKY, A.; LENER, J. Effect of increased bromide intake on iodine excretion in rats. **Microchemical Trace Element Research**, v.55, p.215-219, 1996.

WAILES, E. J., CHAVEZ, E. C. World Rice Outlook: International rice baseline with deterministic and stochastic projections, 2012-2021. 2012. Disponível em: <http://ageconsearch.umn.edu/handle/123203>. Acessado em: dezembro de 2016.

WANG, X.; LI, B. Analysis of 27 mineral elements in the rice samples collected from China and Japan by using ICP-OES and ICP-MS. **Spectroscopy and Spectral Analysis**, v.30, p.2260-2264, 2012.

WHO (World Health Organization). **Assessment of iodine deficiency disorders and monitoring their elimination – A guide for programme managers**. Geneva: World Health Organization, 2007.

WHO (World Health Organization). **Bromine in drinking-water**. Background document for development of WHO Guidelines for drinking-water quality. Geneva: World Health Organization, 2009.

WHO (World Health Organization). **Trace elements in human nutrition and health**. Geneva: World Health Organization, 1996.

WRIGLEY, C. W.; CORK, H.; SEETHARAMAN, K.; FAUBION, J. **Encyclopedia of Food Grains**. Kidlington: Academic Press, 2016. 1976 p.