

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS

Programa de Pós-Graduação em Química



Dissertação

**Desenvolvimento de método analítico para
determinação de Mn, Zn, Cu e Fe em amostras de arroz
por Espectrometria de Absorção Atômica com Chama**

Aline Colvara de Almeida Pinheiro

Pelotas, fevereiro de 2013.

Aline Colvara de Almeida Pinheiro

Desenvolvimento de método analítico para determinação de Mn, Zn,
Cu e Fe em amostras de arroz por Espectrometria de Absorção
Atômica com Chama

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

Orientadora: Prof^a. Dra Alzira Yamasaki
Co- Orientadora: Prof^a. Dra Adriane Medeiros Nunes

Pelotas, Fevereiro de 2013.

A banca examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação de Mestrado intitulada “Desenvolvimento de método analítico para determinação de Mn, Zn, Cu e Fe em amostras de arroz por Espectrometria de Absorção Atômica com Chama”, de autoria de Aline Colvara de Almeida Pinheiro.

Banca examinadora:

.....
Prof^a Dra Alzira Yamasaki (Orientadora)

.....
Prof^a Dra Emilene Mendes Becker

.....
Prof^a Dra Angelita da Silveira Moreira

O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis."

(José de Alencar)

Dedico esse trabalho ao meu marido Paulo Otávio, aos meus pais Marcos e Laura, às minhas irmãs Jaqueline e Yasmin, e à minha sogra Naura, pois o apoio e o incentivo de todos vocês foram fundamentais para a conclusão de mais esta etapa na minha vida. Amo muito todos vocês! Muito Obrigada!

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por todas as bênçãos concedidas e que me acompanha em toda a caminhada até aqui.

Agradeço a minha família por sempre me apoiar em todas as etapas da minha vida, inclusive esta.

Em especial ao meu marido Paulo Otávio, que é meu companheiro e amigo de todas as horas, e que esteve sempre comigo em todos os momentos me apoiando para seguir em frente, mesmo nas horas difíceis. Te Amo!

A minha sogra Naura, que mesmo não estando mais aqui entre nós, sempre me incentivou a estudar, por todo apoio e dedicação que ela sempre esteve comigo, dedico a ela também este diploma de mestre.

Agradeço a CAPES pelo suporte financeiro.

A minha orientadora Prof^ª. Dra Alzira Yamasaki, por ter me ajudado a realizar este trabalho sob sua orientação, pelos ensinamentos transmitidos, correções e observações acerca do meu trabalho! Muito obrigada!

A minha Co-orientadora Prof^ª. Dra Adriane Medeiros Nunes por toda contribuição e conselhos acerca do trabalho, e que sempre se colocou a disposição para qualquer ajuda referente ao mesmo, pela confiança em mim depositada, e pelas inúmeras contribuições dadas a cerca deste trabalho! Muito obrigada!

Ao Prof. Dr. Anderson Schwingel Ribeiro, pelo espaço concedido no seu grupo de pesquisa para a realização deste trabalho, em especial a todos do grupo Labmequi, onde fui muito bem recebida. Obrigada!

A minha amiga e colega de mestrado Valéria Dias de Oliveira Bareño pela amizade desde a graduação até hoje, por todos os momentos que passamos juntas, bons e ruins, por ser esta companheira de todas as horas. Por todos os conselhos dados durante esta etapa, às conversas de todos os dias que me ajudaram muito nesta etapa da vida. Muito Obrigada amiga!

A minha amiga e colega de laboratório Meibel Lisboa, que me ajudou na realização deste trabalho, passando seus ensinamentos e sempre disposta a ajudar no que for e a hora que precisar, e pelos conselhos durante esta etapa, e acima de tudo pela amizade. Obrigada por tudo!

Aos colegas de laboratório e de mestrado, Eliézer Orestes e Eliane Freire, pelas conversas e conselhos, pelos diversos ensinamentos e momentos de descontração e acima de tudo pela amizade, obrigada!

Ao colega de mestrado Eduardo Pereira, pelas conversas e amizade durante todos os momentos do mestrado, disciplinas, aulas, enfim, obrigada!

Aos colegas de laboratório, Helen, Marta, Ana Clara, Mariana, Richard, Camila Oliz, Camila Pereira, Alexander, Carol, Eliete, Michele, Rodrigo, pela amizade, pelas risadas e conversas, e pelos bons momentos vividos.

E a todos que contribuíram de uma forma ou outra com a realização deste trabalho. Muito Obrigado!

RESUMO

Título: Desenvolvimento de método analítico para determinação de Mn, Zn, Cu e Fe em amostras de arroz por Espectrometria de Absorção Atômica com Chama.

Autora: Aline Colvara de Almeida Pinheiro

Orientadora: Prof^a Dra Alzira Yamasaki

Co-orientadora: Prof^a Dra Adriane Medeiros Nunes

O desenvolvimento de novas metodologias analíticas vem sendo estudados, para a determinação de metais em arroz, métodos estes que envolvem mais praticidade, com um custo relativamente mais baixo do que os convencionais já existentes de preparo de amostra. Assim, neste trabalho, foi desenvolvido um método de preparo de amostra para determinação de metais por Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (FAAS), visando à quantificação de Mn, Zn, Cu e Fe através do uso de um dedo frio como auxílio na digestão das amostras. Obtiveram-se valores de limites de detecção na amostra (LD), em mg kg^{-1} de 2,12; 0,16; 0,36 e 1,84 para Mn, Zn, Cu e Fe respectivamente. Os limites de quantificação instrumental (LQ) foram de 0,179; 0,015; 0,030 e 0,150, em mg L^{-1} para Mn, Zn, Cu e Fe respectivamente. A exatidão do método proposto para a determinação desses metais foi verificada através da comparação dos resultados com dois outros métodos de preparo de amostras (métodos convencionais 1 e 2), e também foi checada através do uso de Material de Referência Certificada NIST CRM 1568a de farinha de arroz e uma amostra controle de casca de arroz proveniente de um laboratório de análises vegetais de São Paulo. Através da comparação dos resultados obtidos para Mn, Zn, Cu e Fe entre o método proposto de dedo frio e os métodos convencionais 1 e 2, foi verificado que estes não apresentaram diferenças significativas a um nível de confiança de 95% com a aplicação do teste t-student pareado. Para os resultados da amostra controle e o material de referência, foram encontradas concentrações que apresentaram valores com 95% de concordância com os valores certificados, com exceção do elemento Fe para a amostra controle. A metodologia proposta de dedo frio se mostrou

eficiente, pois os valores encontrados de desvio padrão relativos (RSD) para as diferentes amostras de arroz mostraram uma boa reprodutibilidade entre as medidas (RSD<10%). Se comparado com as metodologias convencionais 1 e 2, os RSDs foram melhores para a maioria das amostras de arroz, com destaque para os elementos Fe e Cu que apresentaram valores mais baixos de RSDs, mostrando que o método proposto obteve uma melhor precisão na análise. Com isto, a metodologia proposta mostrou ser simples, com pouca quantidade de reagente, pois somente o HNO₃ foi utilizado para a digestão da amostra, provando ser um método adequado para o preparo das amostras.

Palavras-chave: arroz, preparo de amostra, metais, Espectrometria de Absorção Atômica com Chama.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
Dissertação de Mestrado em Química
Pelotas, Fevereiro, 2013.

ABSTRACT

Title: Development of analytical method for determination of Mn, Zn, Cu and Fe in rice samples by Atomic Absorption Spectrometry Flame.

Author: Aline Colvara de Almeida Pinheiro

Academic Advisor: Prof. Dra. Alzira Yamasaki

Academic Co-advisor: Prof. Dra. Adriane Medeiros Nunes

The development of new analytical methodologies have been studied for the determination of metals in rice, these methods involving more practicality, with a relatively lower cost than existing conventional sample preparation. In this work, we developed a method of sample preparation for determination of metals by atomic absorption spectrometry with flame (FAAS), aiming at the quantification of Mn, Zn, Cu and Fe through the use of a cold finger as aid in digestion the samples. Values were obtained from the sample detection limit (LD), in mg kg⁻¹ of 2.12, 0.16, 0.36 and 1.84 for Mn, Zn, Cu and Fe respectively. The instrumental limits of quantification (LOQ) were 0.179, 0.015, 0.030 and 0.150 in mg L⁻¹ for Mn, Zn, Cu and Fe respectively. The accuracy of the proposed method for the determination of these metals was verified by comparing the results with two other methods of sample preparation (conventional methods 1 and 2), and was also checked by using Certified Reference Material NIST 1568a CRM flour rice and a control sample of rice husk from a laboratory plant in São Paulo. By comparing the results obtained for Mn, Zn, Cu and Fe between the cold finger of the proposed method and the conventional methods 1 and 2, it was found that these were not significantly different at a level of 95% with the application of the paired Student t-test. For the results of the control sample and the reference material were found in concentrations that averaged 95% agreement with the certified values, except for the element Fe to the control sample. The methodology proposed is efficient cold finger, because the values for relative standard deviation (RSD) for the different rice samples showed good reproducibility between measurements (RSD <10%). Compared with conventional methods 1 and 2, the RSDs were better for most rice samples, highlighting the elements Fe and Cu showed that lower values of

RSDs, showing that the proposed method achieved better accuracy in analysis. With this, the proposed method has proved to be simple, with little amount of reagent because only the HNO_3 was used for digestion of the sample, proving to be a suitable method for preparing the samples.

Keywords: rice, sample preparation, metals, atomic absorption spectrometry with flame.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
Master Dissertation in Chemistry
Pelotas, February, 2013.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Esquema do sistema de dedo frio com circulação de água.....	28
Figura 2	(1) Bloco digestor com auxílio do dedo frio, e (2) liberação de vapores NOX durante o processo de digestão.....	28
Figura 3	Curvas de calibração em meio ácido (■) e aquoso (●): (a) Mn e (b) Zn.....	34
Figura 4	Curvas de calibração em meio ácido (■) e aquoso (●): (c) Cu e (d) Fe.....	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Composição de constituintes e concentrações de alguns minerais do arroz branco polido e do arroz integral.....	05
Tabela 2	Ingestão Diária Recomendada (IDR) de Mn, Zn, Cu e Fe no arroz polido, e a contribuição do arroz de acordo com o consumo médio diário.....	06
Tabela 3	Ponto de Ebulição e concentração dos ácidos.....	20
Tabela 4	Parâmetros operacionais utilizados no Espectrômetro de Absorção Atômica com Chama.....	27
Tabela 5	Teor de umidade encontrado nas diferentes amostras.....	33
Tabela 6	Parâmetros da sensibilidade (a) e do coeficiente de correlação linear (r), para Mn, Zn, Cu e Fe por FAAS.....	35
Tabela 7	Parâmetros de mérito para determinação de Mn, Zn, Cu e Fe em amostras de arroz, através dos métodos utilizados por FAAS...	37
Tabela 8	Comparações dos resultados de Mn, Zn, Cu e Fe com uma amostra controle de casca de arroz.....	39
Tabela 9	Exatidão do método proposto para Mn, Zn, Cu e Fe usando material de referência certificada NIST (CRM 1568a).....	40
Tabela 10	Concentrações de Mn, Zn, Cu e Fe em amostras de arroz utilizando diferentes procedimentos de digestão ácida (n=3).....	41

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

FAAS	Espectrometria de absorção atômica com chama
ICPOES	Espectrometria de emissão óptica com plasma de argônio indutivamente acoplado
ha	Hectares
IDR	Ingestão Diária Recomendada
ppm	Partes por Milhão
HDL	Bom colesterol
AAS	Espectrometria de absorção atômica
EDTA	Ácido Etilenodiaminotetracético
TMAH	Hidróxido de tetrametilamônio
PVC	Cloreto de Polivinila
ETAAS	Espectrometria de Absorção Atômica Eletrotérmica
HG-FAAS	Espectrometria de absorção atômica com geração de vapor
AA	Absorção Atômica
PTFE	Teflon
PP	Polipropileno
CRM	Material de Referência Certificado
LD	Limite de Detecção
LQ	Limite de Quantificação
RSD	Desvio Padrão Relativo

SUMÁRIO

RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	x
LISTA DE FIGURAS.....	xii
LISTA DE TABELAS.....	xiii
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	xiv
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	03
2.1. Arroz: Importância como alimento e composição mineral.....	03
2.2. Processamento do arroz: Perdas e ganhos de nutrientes.....	07
2.3. Técnicas Analíticas utilizadas para determinação de metais em amostras de alimentos.....	16
2.3.1. Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (FAAS).....	16
2.4. Preparo da amostra: importância e métodos de preparo.....	19
2.4.1. Métodos Convencionais e alternativos utilizados para o preparo da amostra de arroz.....	21
2.4.2. Uso do dedo frio para o preparo das amostras.....	24
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	27
3.1. Instrumentação.....	27
3.2. Reagentes e Materiais.....	29
3.3. Amostras: Determinação de umidade e acondicionamento.....	29
3.4. Preparo das amostras.....	30
3.4.1. Procedimento 1 - Método Convencional 1.....	30
3.4.2. Procedimento 2 - Método Convencional 2.....	31

3.4.3. Procedimento 3 – Método Proposto.....	31
3.4.4. Exatidão.....	32
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	33
4.1. Teor de umidade das amostras.....	33
4.2. Influência do meio ácido na calibração e sensibilidade dos analitos Mn, Zn Cu e Fe.....	34
4.3. Parâmetros de mérito.....	37
4.3.1. Exatidão do Método Proposto.....	39
4.3.2. Resultados Analíticos.....	41
4.3.3. Avaliação dos Resultados.....	43
5. CONCLUSÕES.....	45
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	46

1. INTRODUÇÃO

O arroz (*Oryza sativa*) é um dos cereais mais produzidos e consumidos do mundo, caracterizando-se como principal alimento para mais da metade da população mundial. Sua importância é destacada, principalmente, em países em desenvolvimento como o Brasil. Dentro desse contexto, o Brasil é considerado um dos maiores produtores de arroz e seu consumo per capita é estimado em cerca de 108 g por dia [1,2].

Considerando que a população de menor renda não tem condições de comprar e consumir alimentos mais nutritivos, e que a população nos dias de hoje consome mais alimentos industrializados, sem o grau de nutrientes apropriados, o arroz se torna uma alternativa importante como fonte de nutrientes como, por exemplo, os minerais, pois apresenta baixo custo e é de fácil e rápido preparo. Portanto, a qualidade nutricional do arroz pode afetar diretamente a saúde humana, por ser um alimento básico de ingestão diário para a população em geral [3]. Porém, apesar de ser considerado um alimento importante na alimentação humana, o arroz ainda é pouco reconhecido pelas suas características nutricionais. Diversos fatores influenciam a qualidade nutricional do arroz, como o tipo de cultivar; o processamento no qual cada tipo de arroz é submetido; podendo ser comercializado na forma de arroz branco polido, parboilizado e integral [4,5].

Para a determinação de nutrientes inorgânicos tais como Mn, Zn, Cu e Fe em alimentos, as técnicas analíticas mais adequadas, são as que envolvem Espectrometria Atômica. Dentro dessas técnicas, pode-se dizer que as mais utilizadas são a Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (FAAS) e a Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma de Argônio Indutivamente Acoplado (ICP OES), sendo a Espectrometria de Absorção Atômica (AAS), uma das técnicas mais utilizada para a determinação de metais em alimentos, pois tem como vantagem o baixo custo, simplicidade e uma boa sensibilidade [6,7].

A etapa de preparo de amostras é muito importante para que ocorra a quantificação desses nutrientes, pois as amostras devem estar em condições

ideais e compatíveis para ser introduzidas no equipamento de análise. Essa etapa é, geralmente, a mais demorada, de maior custo e mais sujeita a erros, devido às diversas etapas que ocorrem dentro do processo, as quais frequentemente limitam a exatidão do método de análise [8]. Com isto, é necessário que sejam desenvolvidos métodos de preparo que incluam simplicidade, baixo custo, uso de menor quantidade de reagentes, rapidez e segurança, visto que os métodos oficiais fazem uso da digestão em sistemas abertos, os quais normalmente utilizam mais de um reagente, sendo estes oxidantes fortes; considerados perigosos e tóxicos. Além disso, esses métodos são muito demorados, e, como trabalham em sistemas abertos, são mais propensos a perdas de analito por volatilização, estando sujeito a possíveis contaminações durante esta etapa.

Sendo assim, esse trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de uma metodologia alternativa de preparo de amostras em diferentes tipos de arroz para a quantificação de elementos essenciais como Mn, Zn, Cu e Fe, buscando diminuir consideravelmente as quantidades de reagentes utilizados durante esta etapa. Neste sentido, também se procura aliar a mínima manipulação das amostras e a duração do tempo de análise. Para este propósito investigou-se neste trabalho um sistema de dedo frio para a etapa de preparo de amostra e o uso da FAAS para determinação dos analitos.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Arroz: Importância como alimento e composição mineral

Cultivado e consumido em todos os continentes, o arroz destaca-se pela produção e cultivo, com papel estratégico tanto no aspecto econômico quanto social. Aproximadamente 90% de todo o arroz do mundo é cultivado e consumido na Ásia. A América Latina ocupa o segundo lugar em produção e o terceiro em consumo. Assim como na Ásia, o arroz é um produto importante na economia de muitos dos países latino americanos por ser considerado um item básico na dieta da população, como é o caso do Brasil [2].

A produção anual de arroz é de aproximadamente 606 milhões de toneladas. Nesse cenário, o Brasil destaca-se como único país não asiático entre os 10 maiores produtores, ocupando o nono lugar na produção mundial onde colheu 11,26 milhões de toneladas na safra 2009/2010. As projeções de produção e consumo de arroz, avaliadas pela Assessoria de Gestão Estratégica do Mapa (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento), mostram que o Brasil vai colher 14,12 milhões de toneladas de arroz na safra 2019/2020, e equivalem ao aumento anual da produção de 1,15% nos próximos dez anos. O consumo também deverá crescer a uma taxa média anual de 0,86%. Assim, a importação projetada para o final do período é de 652,85 mil toneladas [9,10].

Os estados de maior produção de arroz no Brasil são o Rio Grande do sul, Santa Catarina e Mato grosso. No estado do Rio Grande do Sul, principal centro de produção de arroz no Brasil, o cultivo é realizado em um clima subtropical, em grandes fazendas com área em torno de 200 ha. Já no estado de Santa Catarina, a dimensão média de exploração é de apenas 10 ha e o uso do trabalho manual em família é muito comum [9,10].

A forma mais consumida do arroz no Brasil é o arroz branco polido. Outras formas também consumidas, porém em menor quantidade, são o arroz parboilizado e arroz integral. Mesmo o arroz integral sendo o mais rico em nutrientes, devido a sua forma de beneficiamento, onde apenas a casca é retirada, este tipo de arroz ainda é menos consumido no Brasil que o polido

[11,12]. A explicação para este fato poderia ser que o consumidor leva em consideração outros aspectos que não os valores nutricionais deste alimento, como o custo comercial. Sendo que o arroz integral é um pouco mais caro que os outros tipos, e como também o sabor do arroz é considerado pelo consumidor [3,13].

Por ser um alimento onde o seu cultivo pode ser realizado em diferentes climas e solos, o arroz é considerado uma das maiores alternativas para o combate a fome no mundo. Ele é um alimento muito importante, pois possui um balanceamento nutricional, fornecendo 20% da energia e 15% de proteína per capita necessária ao homem. Por ser um produto de origem vegetal, o arroz é um alimento isento de colesterol, com baixo teor de gordura [2,14].

Apesar da considerável importância deste cereal na dieta da população, muito pouco se conhece sobre o seu valor nutricional em termos de componentes minerais, e isto está relacionado a diversos fatores tais como o processamento, que influenciam na composição e no valor nutricional do arroz [4].

O arroz branco, por exemplo, é composto basicamente de amido, e neste sentido, os países que apresentam este cereal como principal alimento, como por exemplo, o Brasil, frequentemente são observadas deficiências nutricionais, principalmente as relacionadas à falta de proteína, ferro, iodo e vitamina A [13].

O arroz é constituído de amido, seguido de proteína, e pequenas quantidades de lipídeos, minerais e vitaminas. Entretanto, as proporções de cada uma dessas composições são bastante sensíveis a diversos fatores, tais como variação genotípica, condições do clima, fertilizantes, qualidade do solo, processamento e armazenamento, o que pode levar a grãos com características nutricionais diferentes [1,3,13,15].

Na Tabela 1 encontram-se valores dos principais constituintes, bem como macro e micro minerais do arroz branco polido e do arroz integral.

Tabela 1 – Composição de constituintes e concentrações de alguns minerais do arroz branco polido e do arroz integral.

Constituintes e Minerais	Arroz Branco Polido	Arroz Integral
<u>Constituintes (%)</u>		
Amido Total	87,58	74,12
Proteínas	8,40	10,46
Lipídios	0,36	2,52
<u>Macrominerais (mg/g⁻¹)</u>		
Cálcio	0,1-0,3	0,1-0,5
Magnésio	0,2-0,5	0,2-1,5
Fósforo	0,8-1,5	1,7-4,3
Potássio	0,7-1,3	0,6-2,8
<u>Microminerais(mg/kg⁻¹)</u>		
Manganês	6-17	2-36
Zinco	6-23	6-28
Cobre	2-3	1-6
Ferro	2-28	2-52

Fonte: Adaptado de Walter *et al.* (2008); [1].

Como pode ser observado, de acordo com cada tipo de arroz, neste caso o polido e o integral, podem-se ter diferentes valores de nutrientes, devido ao processo que sofre cada grão [1,15]. Encontram-se mais proteínas e lipídeos no arroz integral do que o polido e em contrapartida mais amido total no polido do que no integral. Isso pode ser explicado pelo fato do arroz ser constituído principalmente de amido, localizado no centro com as camadas externas apresentando concentrações maiores de proteínas e lipídios. Com isto o polimento reduz o teor de nutrientes, com exceção do amido [1].

Os minerais de uma forma geral são influenciados pelas condições de cultivo, fertilização, condições do solo e também pelo processamento. Eles apresentam-se em maior concentração nas camadas externas do grão, com aproximadamente 72% no farelo e 28% no grão polido [1]. No entanto, segundo Itani *et al.* [16], alguns minerais possuem uma distribuição mais uniforme,

como o sódio e cálcio, apresentando no arroz branco polido 63% de sódio e 74% de cálcio no arroz integral. Embora o arroz integral tenha maior concentração de minerais do que o polido, isso não significa uma maior concentração de minerais absorvidos pelo organismo, já que a biodisponibilidade pode ser afetada pela presença de maiores teores de fibra e ácido fítico no arroz integral [3,13,17].

Mesmo o arroz não sendo uma das fontes mais ricas em micronutrientes, de acordo com seu consumo diário, o arroz pode contribuir significativamente na Ingestão Diária Recomendada (IDR) de alguns nutrientes. Considerando o consumo médio anual, *per capita*, de arroz no Brasil de 39,6 kg/ano no período de 1964 a 2000, o que conduz a uma ingestão diária superior a 100 gramas [18,19].

A Tabela 2 mostra os valores com a IDR para os micronutrientes Mn, Zn, Cu e Fe, para o arroz polido, que é considerado o mais consumido pela população. A Tabela também inclui a estimativa da contribuição do arroz às IDRs destes nutrientes, tomando como base a porção como 50 gramas, estabelecida pela Anvisa- Agência Nacional de Vigilância Sanitária na Resolução nº 359 de 2003, e também o consumo médio aproximado diário de 108 gramas de arroz no Brasil [19,20].

Tabela 2- Ingestão Diária Recomendada (IDR) de Mn, Zn, Cu e Fe no arroz polido, e a contribuição do arroz de acordo com o consumo médio diário.

Nutriente	IDR adultos(mg)	Contribuição do arroz na IDR	
		Porção (50g)(%)	Consumo Médio (108g)(%)
Mn	2,3	23,0	49,8
Zn	7,0	8,9	19,1
Cu	0,9	12,2	26,4
Fe	14,0	1,1	2,5

Fonte: Adaptado de Okada *et al.* (2007); [6].

Assim, pode-se observar que, de acordo com o consumo médio diário no Brasil desses nutrientes, o arroz polido contribui significativamente com Mn, Cu e Zn na dieta da população, levando em consideração as IDRs desses

nutrientes. As contribuições do arroz nas IDRs de Mn, Zn, Cu e Fe foram observadas por Heinemann *et al* [5] e por Okada *et al*. [6]. O Fe é o único elemento que não apresenta um valor significativo no consumo de arroz polido, pois como se pode observar, é o que contém menor contribuição de IDR, estando o consumo médio, para cada 108 g, com um valor de 2,5%.

Devido à importância do arroz na alimentação, pesquisas vêm sendo desenvolvidas para aumentar a concentração de minerais no grão, principalmente ferro e zinco. Uma das maneiras utilizadas para aumentar essa concentração seria o melhoramento convencional, a partir de genótipos, com maior concentração destes minerais [1]. Outra forma que também vem sendo utilizada com este objetivo é a transgênia, onde Vasconcelos *et al*. [21] avaliaram a aplicação no arroz do gene da ferritina da soja, uma proteína armazenadora de ferro, sendo observado um aumento de até 4 vezes do valor da concentração de ferro tanto no arroz integral como no arroz polido. Segundo os autores, o consumo deste arroz pode suprir até 33% da recomendação diária de Ferro com 300 g de grãos [21]. Assim, de acordo com a Tabela 2, pode-se considerar que o arroz polido é um alimento importante para a ingestão de alguns nutrientes, considerando o consumo diário deste cereal [6].

Assim, torna-se importante salientar que devido aos diferentes tipos de arroz que são consumidos, haverá uma diversidade no valor nutricional da dieta da população Brasileira. Isto é influenciado pelos diferentes processos que passam cada tipo de grão, e que se torna imprescindível que o estudo adequado de caracterização e composição mineral seja realizado.

2.2. Processamento do arroz: Perdas e ganhos de nutrientes

O grão do arroz, antes de chegar à forma como ele é consumido, passa por um processo de beneficiamento, onde ele sofre algumas modificações, com objetivo puramente comercial. Este processo provoca algumas variações entre vantagens e desvantagens com relação ao seu valor nutricional. As três principais formas que o arroz beneficiado é consumido são o branco, parboilizado e integral, onde passam por processos diferentes, resultando em valores nutricionais também diferentes entre eles [4]. Primeiramente, para a obtenção do arroz integral, apenas a casca é retirada do grão. Este é o

principal motivo do arroz integral apresentar um maior teor de nutrientes na sua composição, quando comparado ao branco e ao parboilizado. Com relação ao seu teor de energia é menor. Apesar de possuir um valor nutricional maior que os outros tipos, a suscetibilidade à oxidação lipídica durante o armazenamento e a sua demora no cozimento diminuem sua aceitabilidade pelos consumidores. Já no arroz branco, além da casca, todas as camadas externas (pericarpo, tegumento, camada de aleurona e embrião) são retiradas durante o processo de polimento, surgindo assim o arroz branco. O polimento é realizado com o intuito de melhorar o gosto e a aparência do arroz, porém perde em valores nutricionais, uma vez que parte dos minerais, vitaminas, fibra dietética, e outras substâncias de relevância nutricional, que se encontram no embrião e no farelo, são retiradas. Alguns estudos apontam para este fato, onde perdas de alguns nutrientes devido ao polimento, são evidenciados com diminuição em torno de 53 e 75% de P, 57% e 96% de Ca, e 62% e 98% de Mg, ou ainda elimina metade de micronutrientes essenciais de Mn e 60% de Fe presentes no grão integral [3,13,22].

A parboilização é um processo que foi criado para aumentar a renda do beneficiamento, reduzir a adesividade do arroz, esterilizar o grão e aumentar a vida de prateleira. Com isso, os grãos cozidos também ficam mais soltos, menos grudentos, um pouco mais duros e resistentes à desintegração. Na parboilização, o arroz passa por um processo hidrotérmico, onde o arroz em casca é imerso em água potável, a uma temperatura em torno de 60 °C, seguido de gelatinização, total ou parcial, do amido e secagem. O arroz parboilizado, ao sofrer este beneficiamento, apresenta grãos amarelados, em decorrência do tratamento hidrotérmico. Contudo, estudos apontam mudanças durante este processo com vistas de aumentar o valor nutricional do grão, quando comparado ao arroz branco. Este aumento está relacionado principalmente ao conteúdo mineral, amido digestível, amido resistente e fibra dietética, também resultando em uma maior quantidade de proteína, matéria mineral e menor quantidade de gordura [17,23-25]. Este fato ocorre porque, durante o processo de parboilização, os minerais solúveis presentes nas camadas externas podem migrar para o endosperma amiláceo e com isso aumentar os valores destes componentes, e, conseqüentemente ocorrer um aumento considerável dos valores nutricionais deste arroz. Outro fato a ser

observado é a ocorrência de menor remoção de minerais nas camadas externas do grão do arroz parboilizado, se comparado com o arroz branco durante o polimento, pois os grãos provenientes do processo de parboilização apresentam uma consistência mais dura do que o branco [13]. Entretanto, este fato pode não ocorrer para todos os minerais, uma vez que segundo Storck *et al.* [4], existem maiores concentrações de Potássio e Fósforo no arroz parboilizado ao compará-lo com o branco polido, e menor concentração de Magnésio, Manganês, Zinco e Sódio. Estes estudos indicam que alguns minerais apresentam diferentes padrões de migração durante a parboilização, afetando diretamente seus teores no grão [4]. Segundo David *et al.* [apud; 3], isso pode ocorrer pelo fato de que parte destes minerais são solubilizados e perdidos na água que é usada para o encharcamento dos grãos, durante o processo de parboilização. O mesmo fato foi percebido por Fagundes *et al.* [apud;3], podendo isso ter ocorrido com alguma retenção do mineral, porém não uniformemente. Segundo o autor, isso pode ser explicado devido à maior ou menor migração desses minerais e pela sua fixação por variáveis ocorridas durante o processo hidrotérmico, ou ainda pela resistência oferecida ao polimento através da parboilização [3]. Heinemann *et al.* [5] também encontraram estas variações nestes mesmos minerais, Mn e Zn, em arroz parboilizado, e sugeriram que este fato era proveniente de uma difusão para as camadas mais externas do grão, sendo após removidos pelo polimento. Acredita-se segundo o autor que o padrão de retenção de alguns minerais é resultado da interação de diferentes fatores, tais como localização mineral no grão, solubilidade durante a imersão, diferentes proporções de migrações, bem como variações no processo hidrotermal, além de resistência à moagem do arroz parboilizado [5].

Além da diferença existente através de processamento, não se pode descartar também a variação entre cultivares, o que acarreta em uma grande diferença entre os valores encontrados de nutrientes de um grão para outro [3,15]. Além disso, observa-se que haverá diferença no teor de nutrientes de acordo com o beneficiamento realizado no grão, com o tipo de arroz e cultivar. Com isso, observa-se que o consumo, por exemplo, de 100 g de arroz integral, pode suprir de 10,7% de ferro e 94% de magnésio no consumo diário de uma pessoa adulta. Já para o arroz parboilizado, observa-se que cada 100 g

contribuem com 7,5% de potássio e 26,5% de fósforo e para o arroz branco, essa mesma quantidade pode suprir com 2,8% de potássio e 43% de manganês [3].

Manganês (Mn)

O Mn é um elemento essencial para o homem e animais, encontrando-se presente nas células dos organismos vivos. O corpo humano, sob condições normais, possui geralmente pequenas quantidades deste metal. Porém, em altas concentrações pode ser considerado tóxico. Apesar da absorção deste elemento ser de apenas 3% a 5%, os alimentos, constituem a maior fonte de manganês para a população em geral, sendo a fonte primária do metal absorvido [26-28].

Maiores concentrações do Mn são encontradas em grãos (acima de 41 $\mu\text{g g}^{-1}$), em noz (acima de 47 $\mu\text{g g}^{-1}$) e nos cereais (acima de 41 $\mu\text{g g}^{-1}$).

O Mn é um elemento essencial também para o crescimento e o desenvolvimento das plantas. Com isto, ele apresenta efeitos expressivos na sua nutrição, podendo ocorrer fenômenos de deficiência ou excesso, com perdas significativas na produção de cultivares sob ambos os efeitos. Com isso, observa-se que o grau de toxicidade ou a tolerância ao excesso deste metal, varia de acordo com a espécie da planta e da cultivar.

O arroz é considerado como sendo altamente tolerante ao Mn e sua ocorrência pode ser explicada pela aplicação de fertilizantes, a fim de aumentar a produtividade da cultura orizícola [29-30]. O arroz integral é considerado uma das maiores fontes de Mn ao homem nos alimentos. [26].

A disponibilidade do Manganês em vegetais é diminuída na presença de fibras. Pessoas com deficiência de Ferro têm a velocidade de absorção do Manganês aumentada. Certos grupos da população geral estão mais expostos ao Manganês, como crianças, através de alguns alimentos, como as preparações infantis; populações que residem próximas a indústrias e em áreas de ocorrência natural do metal, no solo e na água. O Hazardous Substances Data Bank, refere-se como ingestão diária aceitável para o Manganês total o valor de 2,5 a 5,0 mg/dia [26].

Nos humanos, as maiores concentrações de Manganês encontradas estão nos tecidos de maior atividade metabólica como o fígado e o pâncreas. Em contrapartida, os locais onde se encontram as menores concentrações são os tecidos de baixa atividade metabólica tais como músculos esqueléticos, pele, bexiga, testículos, útero, ossos e tireóide [26]. Já os órgãos responsáveis pela sua eliminação são os rins e o intestino delgado e grosso.

O Mn é um micronutriente que também possui funções antioxidantes, além de ser essencial no desenvolvimento de ossos saudáveis e na cicatrização de feridas, ativando enzimas que participam do metabolismo dos hidratos de carbono, aminoácidos e colesterol, facilitando ainda na formação de cartilagem e ossos. A falta deste elemento no organismo humano pode causar o baixo crescimento, anormalidades no esqueleto, disfunções reprodutivas, menor tolerância à glicose e alterações no metabolismo dos hidratos de carbono e das gorduras. No entanto, a exposição em longo prazo deste elemento pode afetar principalmente os pulmões e o sistema nervoso central, ocasionando pneumonia e até em casos mais graves o mal de Parkinson [26,28].

Zinco (Zn)

O Zn é um micronutriente essencial ao organismo humano, mesmo em baixas concentrações. Além disso, sua ausência pode trazer alguns efeitos nocivos para a saúde humana. No entanto, ele pode ser considerado tóxico em altas concentrações, podendo ocasionar problemas na saúde da população.

O Zn é um dos elementos mais comuns encontrados na Terra. Ele pode ser encontrado no ar, água, solo, e está naturalmente presente nos alimentos. Ele se apresenta em maior quantidade em produtos tais como carnes, grãos, laticínios, nozes e legumes. A média de ingestão do ser humano é da ordem de 0,14 a 0,21 mg de Zinco/kg/dia. Os valores de Zn que são considerados nocivos à saúde humana são bem maiores do que os valores máximos permitidos recomendados de ingestão na dieta, que são de 15 mg por dia para o homem e de 12 mg por dia para a mulher [26].

Nos alimentos, o Zinco pode conter teores na faixa entre 2 ppm (em vegetais) a 29 ppm (em carnes, peixes e aves). Regiões onde existem indústrias, as concentrações encontradas podem ser maiores. Nos Estados Unidos, a ingestão média de Zinco através dos alimentos é de 12 a 15 mg por dia. Estudos realizados no Japão relatam que o arroz cultivado em solos não contaminados apresenta teores de Zinco de 15,5 ppm. Já em solos contaminados foram encontrados teores de 20,5 ppm [26].

No arroz, o Zinco é encontrado em níveis mais elevados em grãos de arroz integral. Entretanto, tanto no arroz branco polido como no parboilizado são encontrados em valores mais baixos [31].

Pouco se fala sobre a deficiência de Zn, porém estimativas relatam que cerca de metade da população mundial corre risco de estar com insuficiência de Zn. Apesar da deficiência deste elemento ocorrer principalmente em países subdesenvolvidos, com elevado índice de pobreza nas grandes cidades, é estimado que afete cerca de um terço da população do mundo, com estimativas que variam de 4 a 73%. No Brasil, a deficiência de Zn é evidenciada, em crianças menores de cinco anos desnutridas. Ingestão deficiente deste nutriente pode causar a prevalência de anemia por deficiência de ferro. De acordo com estes fatores, o Brasil pode ser considerado como um país com risco de deficiência moderada de Zn [32].

Existem mais de 200 metaenzimas que utilizam o zinco como cofator e a sua deficiência pode gerar diversos efeitos. Estudos relatam que a deficiência de Zn afeta principalmente o sistema imunológico, ficando o organismo mais suscetível a infecções. Além disso, afeta também o crescimento das crianças, atrasos na maturidade sexual e casos mais leves tais como perda de apetite, dermatites e diarreia crônica. Já o excesso deste nutriente pode ocasionar anemia, danos pancreáticos e diminuição de HDL no sangue. Alguns estudos relatam que o excesso deste elemento poderá alterar a fertilidade bem como causar efeito ao feto quando em elevadas concentrações [26,31,32].

Cobre (Cu)

O Cu é um elemento essencial ao ser humano e animais, participando também com um papel fundamental no metabolismo das plantas. No entanto, o seu consumo a níveis elevados o torna um elemento tóxico. A ingestão diária recomendada para o Cu é de $0,5 \text{ mg kg}^{-1}$ de peso corporal. Nos sistemas biológicos e organismos vivos ele serve como cofator para, pelo menos, 30 enzimas importantes. A população pode ficar exposta ao Cu através da água, do ar, e dos alimentos. Os alimentos, muito mais que a água, contribui com a maior parte de Cu consumido. A concentração de Cu em alimentos varia de 0,2 a 44 ppm por peso seco. Porém, a maior parte dos alimentos apresenta menos de 10 mg kg^{-1} de Cu. Entretanto, a intoxicação por este elemento é difícil de ocorrer, devido aos alimentos apresentarem baixo teor de Cu na sua composição e também por ser esse elemento estar pouco presente nas dietas alimentares, fazendo com que o organismo apresente deficiência deste metal [26,33-35].

Nos vegetais em geral, a maior fonte dos metais para as plantas são o solo e água. No caso do Cu, há uma significativa contribuição dos fertilizantes empregados na agricultura [7].

No homem, em condições normais, as concentrações mais elevadas de Cu são encontradas na bile, no fígado, no coração, no cérebro e nos rins. Cerca de 20% de cobre absorvido permanece no fígado, único local de armazenamento de onde ele pode ser mobilizado. No caso de deficiência, 40% está presente no músculo e cerca de 20% no cérebro [26].

Os cereais, as carnes, os peixes e os vegetais contribuem, cada um, com 20 a 30% do total de cobre ingerido por dia e as frutas e bebidas com cerca de 10%. No entanto, a sua forma química e os teores elevados de outros elementos essenciais afetam a sua absorção. As quantidades de cobre requeridas por uma criança variam de $0,1\text{-}0,5 \text{ mg kg}^{-1}$ de peso por dia e os adultos necessitam de $0,002\text{-}0,050 \text{ mg kg}^{-1}$. As concentrações elevadas de cobre em indivíduos adultos variam de $800\text{-}1.200 \mu\text{g L}^{-1}$, e os valores para mulheres são 10% mais elevados. A necessidade de cobre nos vários órgãos ou nos sistemas do organismo é regulada por mecanismo de controle

homeostático. A toxicidade do cobre ocorre quando tais mecanismos de controle dentro de um determinado compartimento são sobrecarregados [26].

O Cu, por ser um elemento essencial, sua deficiência causa alguns problemas de saúde como, por exemplo, disfunções cardíacas, aumento de lipoproteínas de baixa densidade e elevação do colesterol de alta densidade, anemia e distúrbios ósseos. Já o excesso de cobre não é muito frequente em seres humanos, no entanto existe uma doença degenerativa do excesso deste elemento principalmente no cérebro e fígado que é a doença de Wilson. As possíveis maneiras também, que podem ocorrer este excesso seriam através da ingestão acidental ou intencional, ou ainda a contaminação de alimentos e bebidas. Os sintomas ocasionados aos seres humanos são vômitos, sensação de ardência epigástrica, diarreia, melena, letargia, anemia hemolítica aguda, danos renais e hepáticos, neurotoxicologia, aumento da pressão sanguínea e problemas respiratórios. O doseamento do cobre em alimentos é muito importante, pois ele desempenha um papel fundamental nos mecanismos intrínsecos, que regulam os processos biológicos do organismo humano [26,34,35].

Ferro (Fe)

O Fe é um elemento essencial e necessário para toda biota. Ele é também importante para o crescimento de plantas e animais. A essencialidade desse metal deve-se à sua incorporação a um grande número de enzimas e proteínas. A população está exposta a ferro, principalmente por meio dos alimentos e bebidas.. A necessidade diária de Fe para adultos é de 10 a 20 mg, podendo ser alcançada através de uma boa alimentação e uma dieta balanceada. A disponibilidade e as necessidades mínimas de Fe dependem de alguns fatores tais como idade, sexo, estados fisiológicos, composição e forma como os alimentos são consumidos [26,36].

O arroz, por ser um alimento básico e muito consumido pela população, pode ser considerado uma forma de suprir a necessidade deste nutriente. Mesmo o arroz não sendo o alimento de maior fonte de Fe, para muitos que não possuem acesso a outras fontes de alimentação mais ricas deste

micronutriente, como material vegetal, é considerado muito importante na dieta da população. A quantidade de Fe presente no arroz, em valores médios não processados é de 3.200 mg por 100g de alimento e em arroz processado 844 mg por 100g. O conteúdo de Fe numa dieta está, em média, entre 0,7 e 1,9 mg por 100 kcal. A absorção de Fe no indivíduo adulto varia de 5 a 20% em uma dieta balanceada. Em contrapartida, indivíduos com deficiência de Fe têm a absorção aumentada em 15 a 20%. A ingestão diária recomendada de 10-20 mg de Fe para adultos pode ser suprida através de uma dieta balanceada. Os níveis e padrões de exposição ambiental e humana ao Fe em arroz, frutas e vegetais é em torno de 1-10 mg kg⁻¹ [26,37].

Existem dois tipos de Fe na dieta humana que são o ferro heme e o ferro não heme. O ferro heme é constituinte da hemoglobina, da mioglobina, e se encontra exclusivamente nas carnes. Já o ferro não heme, é a principal forma do nutriente nas dietas e tem o seu potencial de absorção determinado pelas reservas do corpo humano e pelos componentes da refeição [26].

Não só a deficiência, como também o excesso de Fe é prejudicial ao organismo humano. A sua deficiência leva à anemia hipocrômica microcítica, à alteração do metabolismo muscular e à disfunção do sistema imunológico. Mesmo a anemia, sendo considerado um dos maiores problemas mundiais de saúde pública possui índice de consumo de Fe acima da média necessária para suprir o uso metabólico deste mineral, indicando que a anemia é decorrente da baixa biodisponibilidade do Fe nos alimentos, principalmente o Fe não heme [26,36]. Cabe dizer que o excesso de Fe no organismo acarreta alguns problemas de saúde tais como disfunção no sistema imunológico, falência renal, danos hepáticos e úlcera. Uma doença também relacionada a este excesso de Fe é a hemacromatose, onde altas concentrações de Fe são encontradas no fígado e podem levar ao câncer. Este excesso pode ocorrer através de ingestão de níveis elevados de Fe por alimentos e bebidas, transfusões sanguíneas e intoxicação através de medicamentos [26,36].

2.3. Técnicas Analíticas utilizadas para determinação de metais em amostras de alimentos.

No que se refere, a determinação e quantificação de metais em alimentos, das diversas técnicas analíticas existentes, a mais adequada é a de espectrometria atômica. Destas técnicas, as mais utilizadas neste sentido são a Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (FAAS), e Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma de Argônio Indutivamente Acoplado (ICP OES) [38].

Sendo a técnica analítica de Espectrometria de Absorção Atômica (AAS) bem sucedida, devido a sua sensibilidade na determinação de elementos, com baixas concentrações. A AAS é uma técnica onde possui algumas vantagens em relação à técnica de Emissão óptica, tais como menor custo do equipamento, menor custo operacional, facilidade de operação. Alguns trabalhos citam outras técnicas que também podem ser empregadas para determinação de metais em alimentos, porém AAS tem sido utilizada como a técnica padrão para determinação de metais, devido a sua boa sensibilidade e custo relativamente baixo [7,39]. Neste sentido a técnica que foi utilizada neste trabalho e que será descrita a seguir é a Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (FAAS).

2.3.1. Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (FAAS)

A Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (FAAS) é uma das técnicas mais amplamente utilizadas para determinação de metais, devido a sua simplicidade e baixo custo na análise, se comparada com outras técnicas. É uma técnica mono elementar, ou seja, necessita de uma lâmpada para cada elemento, podendo determinar cerca de 60 a 70 elementos com concentrações a níveis de ppm (partes por milhão) [38,40]. O fundamento da AAS baseia-se no espectro de absorção, onde uma fonte externa de radiação incide sobre o vapor do analito. Neste caso, se a fonte de radiação externa for de comprimento de onda apropriada, poderá ser absorvida pelos átomos do analito e promovê-los a estados excitados. A probabilidade de ocorrer o

processo de absorção é proporcional à concentração de átomos no caminho ótico e à intensidade da radiação incidente sobre estes átomos [41].

O processo de atomização é uma etapa muito importante na técnica, onde a eficiência e a reprodutibilidade nesta etapa podem influenciar na sensibilidade, precisão e exatidão do método [40,42]. No atomizador da chama, é utilizado um nebulizador pneumático como sistema de introdução da amostra, onde ela é convertida em uma névoa, consistindo de pequenas gotículas de solução denominadas aerossóis. A solução da amostra contendo os analitos de interesse é aspirada e nebulizada dentro da câmara de nebulização, por meio de injeção em fluxo de alta pressão. Após o final de um tubo capilar imerso na amostra, uma zona da amostra que varia com o tempo é nebulizada, produzindo uma névoa de aerossol chegando ao atomizador arrastado pelos gases e oxidantes. A névoa de aerossol se mistura com os gases de combustão na câmara de nebulização, antes de passar para o queimador, onde a alta temperatura da chama causa a evaporação do solvente, formando um aerossol de partículas secas, tal processo é chamado de dessolvatação. O aquecimento adicional volatiliza as partículas, produzindo espécies atômicas com elevada temperatura. Alguns desses átomos deste gás se ionizam formando cátions, elétrons e átomos livres [42].

Nos nebulizadores pneumáticos o aerossol flui para o interior de uma câmara de jato gasoso, na qual as gotas maiores são retiradas, deixando apenas as finas. Com isto a maior quantidade da amostra é coletada no fundo da câmara, onde é sugada para o recipiente de descarte. Neste nebulizador, a quantidade de solução de amostra aspirada é em torno de 2 a 5 mL por minuto. O jato gasoso da amostra é misturado com o combustível, e gás oxidante na câmara, no entanto essa mistura é rica em combustível e pode ser desejável para átomos que são facilmente oxidados. O aerossol, o oxidante e o combustível são incinerados em um queimador de fenda, o qual forma a chama que apresenta um comprimento de 5 a 10 cm. As partículas sólidas são transportadas para região central da chama, com isto nesta parte mais quente da chama, ela é vaporizada e convertida em átomos gasosos, em íons elementares e em espécies moleculares, e é quando ocorre também a excitação dos espectros de emissão atômica [40,42].

São utilizadas algumas combinações de combustíveis e oxidantes para produzir a chama, sendo que cada mistura apresenta uma faixa específica de temperatura que irá alcançar a chama. Sendo a mistura utilizada com mais frequência o ar-acetileno, e o óxido nitroso-acetileno. A temperatura da chama é considerada um parâmetro muito importante, pois ela determina a eficiência da atomização, como também determina o número de átomos excitados ou não excitados na chama. Neste caso as temperaturas mais altas, aumentam a população total de átomos da chama e assim a sensibilidade. Em uma chama onde a mistura entre um combustível e um oxidante apresentará uma razão entre o átomo excitado e o não excitado, enquanto que outra chama com uma mistura diferente de combustível e oxidante, vai proporcionar outra razão que vai gerar uma chama de temperatura mais elevada. Neste sentido a otimização destes parâmetros é muito importante para garantir uma melhor temperatura para a análise em questão [40,42].

Na AAS existem algumas interferências que podem ser classificadas em interferências espectrais e não espectrais. As interferências espectrais são aquelas que ocorrem quando a absorção de uma espécie indesejada se sobrepõe ou fica muito próximo do comprimento de onda do analito, limitando a atuação do monocromador. Já as interferências não espectrais são decorrentes de vários processos que ocorrem durante a etapa da atomização [40,41].

2.4. Preparo da amostra: importância e métodos de preparo

O preparo da amostra é uma etapa muito importante, pois para se utilizar qualquer instrumento, no momento de uma análise química, a amostra tem de estar em condições adequadas para que seja possível a sua determinação e quantificação. Este tratamento poderá variar, dependendo da natureza da amostra que está sendo analisada, do elemento a ser determinado, da sua concentração, do método utilizado para a determinação e da precisão e exatidão necessária. Isso pode ser realizado apenas com uma simples diluição ou através do aquecimento para uma digestão parcial ou total da amostra. Esta etapa é considerada a mais crítica das etapas analíticas, pois é nela que podem ocorrer as maiores fontes de erros, devido aos diversos processos que ocorrem durante o tratamento da amostra, que inclui desde a limpeza das vidrarias, a moagem quando necessário até toda a parte de armazenamento, transporte e processamento [8,43]. Para se alcançar a solução esperada durante o preparo da amostra, é necessário adicionar reagentes para que se aplique a energia necessária para quebrar algumas ligações e estruturas cristalinas de sólidos. Para isto, é necessário usar um ou mais reagentes para a amostra encontrar a forma ideal, que na maioria dos casos seria em solução aquosa. Assim, alguns métodos de decomposição deverão ser utilizados, como decomposição a seco ou por via úmida [43,44].

A decomposição por via úmida de amostras orgânicas e inorgânicas em sistema aberto é um dos métodos mais antigos e usados para a digestão. Esse processo de digestão é realizado em chapa de aquecimento ou bloco digestor, o qual ocorre pelo aquecimento da amostra na presença de um oxidante forte ou de misturas de ácidos concentrados. Devem ser considerados alguns aspectos importantes para a adequada escolha do ácido ou da mistura deles tais como a força do ácido, a sua oxidação, o seu ponto de ebulição e a segurança na manipulação destes. Os ácidos com propriedades oxidantes mais utilizados na decomposição de amostras orgânicas ou biológicas são o HNO_3 , H_2SO_4 e o HClO_4 . Estes ácidos podem ser usados individualmente (exceto o HClO_4) ou misturados uns com os outros. Também é comum as combinações de HNO_3 ou H_2SO_4 com H_2O_2 [8,43,44]. A Tabela 3 apresenta o

ponto de ebulição, à pressão atmosférica, dos principais ácidos utilizados nestes procedimentos e a concentração de cada um deles [44].

Tabela 3- Ponto de Ebulição e concentração dos ácidos.

Ácido	Concentração % (m/v)	PE (°C)
HCl	37,0	110
HNO ₃	70,0	120
H ₂ SO ₄	98,3	338
HClO ₄	72,4	203
HCl:HNO ₃ (Água régia)	3:1 v/v	112

A escolha adequada de um determinado ácido é necessária para que a decomposição da amostra tenha uma boa eficiência oxidativa. Para que isso seja possível, é necessário se levar em conta o ponto de ebulição do ácido que será utilizado, em pressão atmosférica, sendo que temperaturas mais altas são necessárias para a quebra das ligações carbono-carbono das moléculas orgânicas.

Contudo, no método convencional em sistema aberto, se torna muito difícil oxidar completamente as amostras utilizando apenas o HNO₃, pois este ácido possui um baixo ponto de ebulição, e é o mais moderado ácido oxidante. Se por um lado esse baixo ponto de ebulição do azeotrópico formado com água (120°C) facilita a remoção do ácido nítrico após a oxidação, por outro lado a baixa temperatura limita a sua eficiência oxidativa, pois é necessário chegar a temperaturas mais altas durante a decomposição da amostra para uma melhor digestão [8]. Assim, a decomposição de amostras pelo sistema aberto, através de bloco digestor, pode ocasionar perdas de analito por volatilização, onde não é possível a utilização de altas temperaturas, devido ao baixo ponto de ebulição de alguns ácidos que são normalmente utilizados neste sistema, impossibilitando a determinação de elementos voláteis. Em sistema aberto para uma maior eficiência do preparo da amostra seria necessário utilizar ácidos com ponto de ebulição maior. Contudo são considerados perigosos, de alto custo, como é o caso do HClO₄, que inclusive é muito utilizado nos métodos convencionais existentes para a decomposição de amostras de arroz [43,44].

Além do sistema aberto para a digestão de amostras, também é utilizado o sistema fechado, que faz uso de uma digestão assistida por micro-ondas, sendo este mais realizado quando se quer determinar elementos que são voláteis, por se tratar de sistema fechado e não ocorrer perdas por volatilização. Entretanto, o sistema de micro-ondas não é um equipamento muito barato e com isto não são todos os laboratórios que tem acesso a ele. Devido ao sistema fechado apresentar-se em altas pressões, também possuem riscos de explosões neste sistema [8]. Com isso, torna-se necessário que sejam desenvolvidos novos métodos de preparo de amostra que possuam simplicidade, baixo custo e uso de menor quantidade de reagentes. Além disso, os métodos convencionais são muito demorados e estão mais propensos a perdas por volatilização e suscetíveis a contaminação, como é o caso do sistema aberto.

2.4.1 - Métodos convencionais e alternativos utilizados para o preparo da amostra de arroz.

O arroz pode ser considerado uma amostra crítica e de difícil digestão, pois ela necessita ser convertida de uma matriz sólida para uma matriz líquida, antes de se realizar a análise. Nesse caso específico, a amostra passa por várias etapas de preparo até chegar ao estado desejável. Devido a essas diferentes etapas muitos erros podem ocorrer, prejudicando a análise final. Neste sentido, métodos convencionais e alternativos vêm sendo utilizados na literatura para a realização da análise elementar do arroz, por diferentes técnicas analíticas. Dentre os métodos convencionais encontrados na literatura para determinação de metais nessas amostras, destacam-se o uso da digestão ácida em sistema aberto através de uma mistura de ácidos oxidantes e através do aquecimento desses ácidos em blocos digestores ou chapas de aquecimento. Nesse caso, de acordo com Abassi *et al.* [34,35] e Keawkim *et al.* [45], para a digestão da amostra de arroz, na determinação de Cobre e Cádmio, foi utilizada uma mistura de $\text{HNO}_3/\text{HClO}_4$ e em seguida foi submetida ao aquecimento, a dada temperatura, em uma chapa de aquecimento até

secura quase completa. Essas determinações foram feitas por Voltametria de Redissolução Adsorptiva e por Redissolução Anódica. Chen *et al.* [46] fizeram a determinação de Cu em arroz, utilizando água régia no processo de abertura da amostra, com posterior adição de HClO_4 , a uma temperatura de 140°C em sistema aberto realizado em chapa de aquecimento. O teor de Cu foi realizado por FAAS. Recentemente, um trabalho foi realizado por Es'haghi *et al.* [7], onde a digestão da amostra de arroz para determinação de cobre, chumbo e cádmio empregando a mistura $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$, sob aquecimento, seguido da filtração da solução resultante, utilizando a Voltametria de Redissolução Anódica. No trabalho de Denardin *et al.* [3] foi utilizado a metodologia de Tedesco *et al.* [47], para a digestão das amostras de arroz para determinar os micronutrientes Fe, Zn e Mn, sendo esta metodologia a mesma utilizada neste trabalho, como um dos métodos convencionais usados a fim de comparação com o método proposto. Esta metodologia faz uso de ácidos oxidantes para a digestão que são o HNO_3 e o HClO_4 , sendo estes os mesmos ácidos apresentados em outros trabalhos, com o aquecimento da amostra através de bloco digestor.

Nos trabalhos que utilizam o método convencional de preparo de amostra de arroz, percebe-se que há a necessidade de mistura de ácidos como o HNO_3 e o HClO_4 pois observa-se que somente o HNO_3 não consegue oxidar completamente o material orgânico por ter ponto de ebulição de 120°C e ser considerado baixo em relação a outros ácidos. Para isso é necessário que outro ácido seja adicionado, a fim de completar o processo oxidativo. Neste caso, como o HClO_4 apresenta um maior ponto de ebulição, podendo alcançar temperaturas mais elevadas durante o processo de digestão, consegue oxidar mais facilmente o que ainda pode ter restado de material orgânico. Contudo, o HClO_4 é um oxidante perigosíssimo, que quando aquecido torna-se um agente oxidante muito poderoso e possui um grande risco de explosão. Esse risco pode ficar mais evidente quando este ácido for adicionado a quente, juntamente com material orgânico ou inorgânico facilmente oxidável [8].

Alguns trabalhos utilizam do sistema fechado para a digestão da amostra de arroz. Neste sentido Xiang *et al.* [48] e Heinemann *et al.* [5], fizeram uso deste sistema de micro-ondas através da adição de $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$, com determinação por Espectrometria de Absorção Atômica (AAS) e

Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES). Neste caso, com o uso do micro-ondas não é necessário a utilização do HClO_4 , pois necessita apenas de um ácido oxidante auxiliar para a digestão da amostra, como o uso do H_2O_2 . Isso ocorre devido ao fato de que a digestão assistida por microondas pode chegar a temperaturas mais altas sem a necessidade de outro ácido como o HClO_4 e possuir sistema fechado. Assim, os métodos alternativos são importantes por terem a mesma eficiência de digestão do uso de micro-ondas, associado ao uso de pouco reagente e menos tempo de digestão. Estes métodos estão sendo desenvolvidos com o intuito de evitar ou minimizar possíveis inconvenientes que possam vir a ocorrer com a utilização dos métodos convencionais de sistema aberto.

Recentemente Oliveira *et al.* [49], propuseram um método alternativo utilizando uma solução de EDTA amoniacal e um banho de ultrassom, empregados no tratamento da amostra de arroz para determinação de vários elementos, por ICP OES. Segundo os autores desse método, este reagente associado com o hidróxido de tetrametilamônio (TMAH), melhorou a recuperação dos elementos na digestão, devido a sua capacidade de complexação com vários elementos. Em outro trabalho, Okada *et al.* [6] desenvolveram e validaram um método alternativo de digestão parcial de amostra do arroz para determinação de micronutrientes inorgânicos por ICP OES. Este método foi baseado na hidrólise com HCl, onde a amostra de arroz é pesada em um frasco e adicionado 5 ml de HCl a 50% (v/v). Esses frascos, cobertos com filme de PVC (cloreto de polivinila) foram deixados em repouso por uma noite e posteriormente aquecidos em chapa aquecedora, onde a solução final passou por processo de filtração. Segundo os autores, este método se apresentou simples, relativamente rápido e com características satisfatórias de desempenho.

Visando com isto desenvolver um método que fosse eficiente, com utilização de pouco reagente, baixo custo e, sobretudo sem a utilização de reagentes considerados tóxicos e perigosos de se manusear, este trabalho aborda uma metodologia que realiza o preparo de amostras de arroz, através do uso de um sistema de dedo frio.

2.4.2 - Uso do dedo frio para o preparo das amostras

O sistema de dedo frio consiste de um tubo digestor, fechado com um tubo de vidro em forma de dedo, onde o seu interior permanece cheio de água fria a fim de se promover o processo de resfriamento do ácido juntamente com o analito. O dedo frio é utilizado em sistema aberto com aquecimento convencional, através de bloco digestor [50].

A maioria dos trabalhos reportados na literatura não dá ênfase ao dedo frio, e sim só o citam como um método alternativo utilizado no preparo de amostras e fazem comparação com outros métodos já aplicados [50,51]. Recentemente, alguns trabalhos têm sido publicados utilizando o uso deste sistema como método de preparo de diferentes tipos de amostras. Para amostras de arroz, Silva *et al.* [52] utilizaram o sistema de dedo frio no processo de digestão para determinar cádmio, empregando ETAAS (Espectrometria de Absorção Atômica Eletrotérmica). As amostras foram digeridas utilizando uma mistura de $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$, com a adição de 2 mL de HNO_3 e 1 mL de H_2O_2 30%, utilizando no sistema um bloco digestor e condensadores de dedo frio. Entretanto, este trabalho não tem como foco principal o preparo da amostra com dedo frio, e sim a proposta de um modificador permanente de alumínio para determinar Cd em ETAAS, onde o sistema dedo frio foi citado apenas para informar como as amostras de arroz foram preparadas [52]. Jesus *et al.* [53], realizaram um estudo para validar o desempenho de um método de digestão ácida com um sistema de dedo frio com bloco digestor para determinar o teor de chumbo em vegetais através da ETAAS. Nessa digestão também foi utilizado uma mistura aquecida de $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$, utilizando o dedo frio com condensadores que são refrigerados com água, da mesma forma como foi utilizada pelo trabalho citado anteriormente. Os autores enfatizam que por ser um elemento volátil, esse sistema tem a vantagem de não ocasionar perdas devido ao sistema ser acoplado aos tubos digestores, como no caso da determinação de cádmio e que foi citado anteriormente. Segundo os autores, o método de digestão ácida acoplado com dedo frio foi preciso para a determinação de chumbo em vegetais, sendo que a precisão do método foi verificada através de um material de referência

certificado de folhas [53]. Ferreira *et al.* [54] também utilizaram o mesmo sistema de digestão ácida com dedo frio com uma mistura de $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$ para determinar cádmio em vinhos, por Espectrometria de Absorção Atômica Eletrotérmica (ETAAS) [55]. Macedo *et al.* [55] utilizaram o dedo frio no preparo de amostra para determinação de arsênio total em partículas no ar e a determinação foi por Espectrometria de Absorção Atômica com Geração de Vapor (HG- FAAS), onde foi utilizado HNO_3 concentrado com posterior aquecimento em bloco digestor. A precisão do método foi confirmada através de um material de referência certificado de partículas e o método de dedo frio foi comparado com outro método de digestão [55].

Cabe salientar que para sistemas de dedo frio, os elementos mais estudados são aqueles considerados voláteis. Zmonzinski *et al.* [56], também utilizaram o mesmo sistema como um dos métodos para o preparo de amostra de óleo lubrificante para determinar cálcio, magnésio e zinco por FAAS. A digestão foi realizada com uma mistura de $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{HNO}_3$ e H_2O_2 , onde sua temperatura foi elevada até $170\text{ }^\circ\text{C}$ [56]. Já Nano *et al.* [57], utilizaram o mesmo sistema de digestão ácida com dedo frio dos trabalhos anteriores, porém em tecidos de ostras, por meio de uma mistura de ácidos que foram previamente otimizados com a proporção de 21,4% HCl , 30,8% HNO_3 e 47,8% de H_2O_2 . As otimizações foram realizadas com o uso de um material de referência padrão de tecidos de ostras [57] e os elementos foram determinados por ICP OES.

Sendo os trabalhos de Zmonzinski *et al.* [56], e de Nano *et al.* [57], os que utilizam da determinação de alguns elementos não voláteis, como o ferro, cobre, manganês e zinco.

Outro método de digestão por dedo frio foi proposto por Orestes *et al.* [51]. O que difere esse trabalho de outros já citados anteriormente é que ocorre uma melhoria do sistema de dedo frio, uma vez que há uma circulação constante de água fria que melhora a eficiência de digestão, possibilitando que o ácido retorne a solução. Este sistema também permite trabalhar com temperaturas mais altas, acima do ponto de ebulição de alguns ácidos, o que não é possível nos métodos convencionais em sistemas abertos, onde é necessária a utilização de outro ácido para a completa digestão das amostras, tornando o método de digestão mais caro e com ácidos considerados

perigosos e tóxicos como o HClO_4 , e mais sujeito a erros durante o processo. Nesse trabalho, Orestes *et al.* [51] fez a determinação de mercúrio em amostras biológicas, onde elas foram submetidas à temperatura de 120 °C por duas horas. A comparação desse método com outros métodos convencionais (sistema aberto) mostrou que a baixas temperaturas não ocorre a digestão completa da amostra. Observaram também que, nesse sistema, não ocorrem perdas de ácido ao compará-lo com o sistema aberto convencional, não havendo, portanto perdas por volatilização.

Na maioria dos trabalhos que utilizam o dedo frio, são realizadas análises de alguns elementos voláteis, devido a este sistema não apresentar perdas por volatilização com seu uso acoplado aos tubos. No caso dos elementos não voláteis, a análise é feita para evitar perdas de ácido, pois com esse processo não há a necessidade de reposição destes durante o procedimento, resultando na diminuição da quantidade de reagentes e, conseqüentemente, minimizando os erros por contaminação [50,56].

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Instrumentação

As medições de Mn, Zn, Cu e Fe foram realizadas utilizando um Espectrômetro de Absorção Atômica com Chama modelo AA- 6300 (Shimadzu, Japão) equipado com lâmpada de arco de deutério como corretor de fundo e lâmpadas de cátodo oco de cada elemento como fontes de linha. A Tabela 4 apresenta os parâmetros operacionais do FAAS. De forma a obter o melhor desempenho do instrumento, os parâmetros instrumentais foram ajustados diariamente para cada analito.

Tabela 4 - Parâmetros operacionais utilizados no Espectrômetro de Absorção Atômica com Chama.

Parâmetros	Mn	Zn	Cu	Fe
Comprimento de onda (nm)	279,5	213,9	324,8	248,3
Fenda espectral (nm)	0,2	0,5	0,5	0,2
Corrente de lâmpada (mA)	10/0	8/0	6/0	12/0
Altura do queimador (nm)	7	7	7	7
Tipo de chama	ar – C ₂ H ₂	ar - C ₂ H ₂	ar - C ₂ H ₂	ar -C ₂ H ₂

Foi também utilizada uma estufa (Odontobrás, Brasil) para a secagem das amostras e um miniprocessador de alimentos (Walita, Brasil) para triturar as amostras. Para todos os processos de pesagem, foi utilizada uma balança analítica (Ohaus Adventure, Modelo AR 2140, Pine Brook, NJ, E.U.A.) com resolução de 0,1 mg e tara máxima de 210 g.

Para os processos de digestão das amostras, foi utilizado um bloco digestor da marca (Marconi, modelo MA 4025, Brasil) equipado com um sistema de dedo frio com circulação de água adaptado por Orestes *et al.* [51].

A Figura 1 mostra o esquema do sistema de dedo frio.

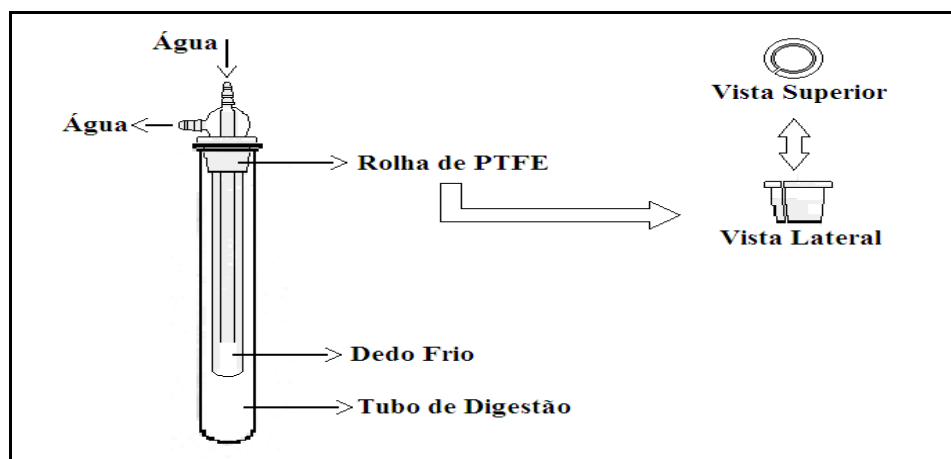


Figura 1 - Esquema do sistema de dedo frio com circulação de água.

A Figura 2 apresenta duas imagens, sendo uma do bloco digestor com o sistema de dedo frio em funcionamento e a outra com as amostras em processo de digestão com liberação dos vapores do tipo NO_x.

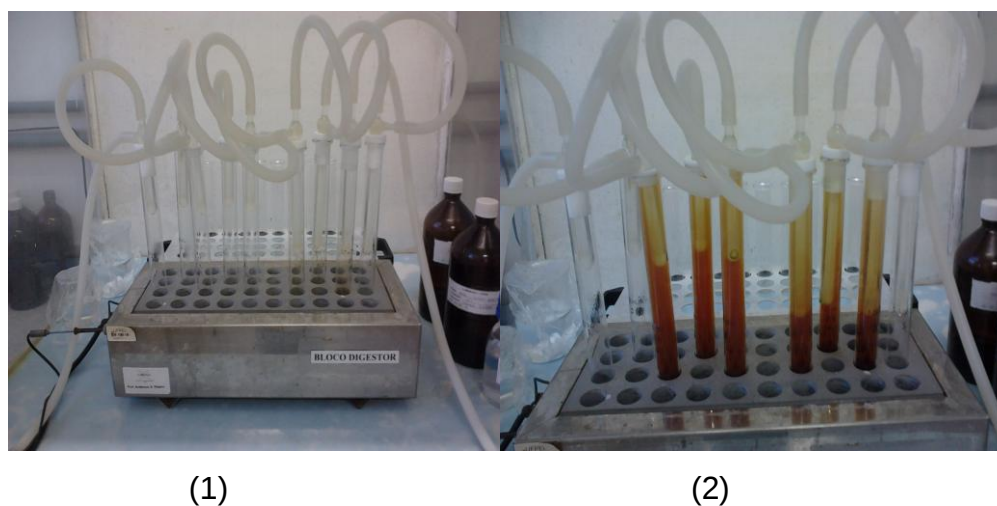


Figura 2 - (1) Bloco digestor com auxílio do dedo frio, e (2) liberação de vapores NO_x durante o processo de digestão.

3.2. Reagentes e Materiais

Os reagentes utilizados em todos os experimentos foram de grau analítico. A água utilizada para o preparo de todas as soluções foi purificada através de um sistema de de água Direct-Q 3 (Millipore Corporation, Bedford, MA, E.U.A), com resistividade de $18,3 \text{ M}\Omega\text{cm}^{-1}$. Os ácidos utilizados foram o Nítrico (Synth, Brasil) e Perclórico (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil), sendo que o Ácido Nítrico passou por um processo de bidestilação em um sistema de sub-ebulição com um destilador de quartzo MA-075 (Marconi, Piracicaba, SP, Brasil).

As soluções estoque de 1000 mg L^{-1} de Zn (18827- Fluka), Mn (77036- Fluka), Cu (38996- Fluka) e Fe (16596- Fluka) foram utilizados para o preparo das soluções padrão. As curvas de calibração foram construídas a partir desses padrões em concentrações que variaram entre $0,5$ e $2,5 \text{ mg L}^{-1}$ para Mn, $0,05$ e $0,4 \text{ mg L}^{-1}$ para Zn, $0,25$ e $2,0 \text{ mg L}^{-1}$ para Cu e Fe.

Para realizar qualquer tipo de análise, todos os materiais, tais como vidrarias e frascos de polietileno, foram adequadamente lavados com uma solução detergente, enxaguados abundantemente com água destilada e depois colocados em ácido nítrico a 10% (v/v), à temperatura ambiente, durante um período de pelo menos 48 horas. Após esse período, os materiais foram mais uma vez enxaguados abundantemente com água destilada e depois passados por água ultra pura. Já para os tubos do bloco digestor, primeiramente foram colocados em um banho de KOH 10% (v/v) e posteriormente foram submetidos ao banho com HNO_3 , pelo mesmo período a que foram submetidos os outros materiais.

3.3. Amostras: Determinação de umidade e acondicionamento

Foram utilizadas amostras de arroz branco, parboilizado e integral, adquiridas no comércio local da cidade de Pelotas, RS. Preliminarmente ao

processo de decomposição da amostra, realizou-se ensaio para determinação de umidade. Uma porção de $\pm 20\text{g}$ das amostras previamente pesadas em frascos de vidro e secas em estufa a uma temperatura em torno de 60°C por 48 horas. A seguir foram mantidas no dessecador até a análise atingir temperatura constante para pesagem. Este procedimento foi realizado a fim de eliminar a umidade da amostra e, com isto, evitar possíveis erros de pesagem. O teor de umidade foi então determinado. Dando continuidade ao procedimento, a mesma amostra já seca passou por trituração até que o grão adquirisse a forma de um pó homogêneo. Posteriormente, as amostras foram colocadas em um frasco de polipropileno (PP) e acondicionadas em dessecador até o processamento de digestão.

3.4. Preparo das amostras

As amostras foram preparadas em conformidade com o **Método convencional 1** (Tedesco), [47] e **Método Convencional 2** (Malavolta), [58] e tiveram seus resultados comparados com o denominado **Método Proposto**. Neste método foram feitos estudos do uso do dedo frio acoplado aos tubos, através da utilização de um bloco digestor com adição de apenas HNO_3 para o preparo das amostras. Os procedimentos foram realizados em triplicata.

3.4.1. Procedimento 1 – Método Convencional 1

Para o **Método Convencional 1**, pesou-se aproximadamente 1 g de amostra, adicionou-se 6 mL de HNO_3 e deixou-se em repouso “over night”. Após esse procedimento, a solução obtida foi levada a aquecimento em bloco digestor por 30 minutos a uma temperatura variando entre 80 a 90°C . A seguir, a temperatura foi elevada a 120°C e mantida constante até restar de 0,5 a 1 mL da solução. Essa solução foi resfriada até temperatura ambiente, onde se adicionou 1,0 mL de HClO_4 , continuando-se o processo de aquecimento em temperatura variando entre 180 - 190°C . Após a sua estabilização e observar-se

o desprendimento de gases, foi colocado um funil na saída dos tubos para não ocorrer a secura da amostra, através da perda de ácido. Essa temperatura foi mantida por 2 horas, sendo a solução resfriada a temperatura ambiente e posteriormente transferida para tubos de polipropileno e avolumadas a 20 mL com água Milli-Q.

3.4.2. Procedimento 2 – Método convencional 2

Para o **Método convencional 2**, pesou-se aproximadamente 0,5 g de amostra diretamente nos tubos de digestão e foi adicionado uma mistura de 4 mL de HNO_3 com 2 mL de HClO_4 , totalizando um volume de 6 mL. Essa solução foi levada a aquecimento, aumentando a temperatura gradativamente até chegar a 160°C e mantida até o volume reduzir a sua metade. Depois a temperatura foi elevada a 210°C e mantida até que o extrato ficasse incolor, o que durou aproximadamente 20 minutos de aquecimento. Essa solução foi resfriada e transferida para tubos de polipropileno e avolumadas a 20 mL com água Milli-Q.

3.4.3. Procedimento 3 – Método Proposto

No **Método Proposto**, 0,5 g de cada amostra foi pesada e colocada em tubos de digestão, seguido da adição de 5 mL de HNO_3 e levados para o bloco digestor. A seguir, o sistema de dedo frio acoplado aos tubos de digestão foi submetido a uma temperatura de 210°C por um período de 3 horas. Após resfriamento, as amostras foram transferidas para tubos de polipropileno e avolumadas a 20 mL com água Milli-Q.

3.4.4. Exatidão

Para avaliação da exatidão do método proposto foram empregadas uma amostra controle de casca de arroz proveniente de um laboratório de Piracicaba, SP, e um material de referência certificado de farinha de arroz, (NIST CRM 1568a). Essas amostras sofreram o processo de digestão com dedo frio conforme descrito no item 3.4.3, e a concentração dos analitos Mn, Zn, Cu e Fe foi determinada por FAAS. Além disso, os métodos convencionais 1 e 2 foram empregados para avaliação da exatidão.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Teor de umidade das amostras

O teor de umidade das amostras foi calculado por ser um parâmetro considerado importante, pois a umidade pode mascarar o valor real de massa da amostra no momento de se efetuar a pesagem. Assim, fez-se necessário determinar esses teores nos diferentes tipos de arroz analisados, sendo eles o branco, parboilizado e integral. Essas amostras foram secas e pesadas, onde foi possível calcular tais teores.

Os teores de umidade foram calculados dividindo-se a massa de H₂O perdida pela massa da amostra, multiplicando-se o valor obtido por 100. Assim, o resultado obtido será dado em porcentagem.

A Tabela 5 mostra os teores de umidade encontrados para amostras de arroz Parboilizado, Integral e Branco, podendo-se observar que todos os valores encontrados para umidade tiveram seus valores inferiores a 10%. Portanto, é possível observar que cada amostra apresenta um teor de umidade específico e isso pode ser explicado pelo fato de que cada tipo de arroz passa por processo específico de beneficiamento.

Tabela 5 - Teor de umidade encontrado nas diferentes amostras.

Amostras	Teor de Umidade (%)
Arroz Parboilizado	8,7
Arroz Integral	6,8
Arroz Branco	9,3

Além disso, observou-se que os valores de umidade para os três tipos de amostras diferentes de arroz foram próximos entre si, com uma pequena diferença de um para o outro, podendo-se deduzir que além dos diferentes tipos de processos de beneficiamento que passa o arroz, o teor de umidade encontrado pode ser também proveniente da colheita, pois o clima pode

interferir nas mudanças de umidade encontradas nos grãos, no período que antecede a colheita [12].

4.2. Influência do meio ácido na calibração e sensibilidade dos analitos Mn, Zn, Cu e Fe

A avaliação da sensibilidade do método foi realizada através de curvas de calibração. Essas curvas foram feitas com os mesmos reagentes utilizados para o preparo de amostra, ou seja, utilizando-se uma mistura $\text{HNO}_3/\text{HClO}_4$, como também, foram realizados as mesmas curvas em meio aquoso. Cabe salientar que os padrões utilizados eram todos em meio nítrico. Todas as curvas foram preparadas nessas condições e posteriormente analisadas por FAAS.

Os elementos que foram submetidos a essa avaliação foram o Mn, Zn, Cu e Fe e posteriormente, após a confecção das curvas, foi possível compará-las entre si, a fim de se observar se houve diferença significativa entre as mesmas e, conseqüentemente, avaliar a sensibilidade existente entre cada curva. Nas Figuras 3 e 4 são apresentados os gráficos com as curvas de calibração nos dois meios estudados para cada elemento.

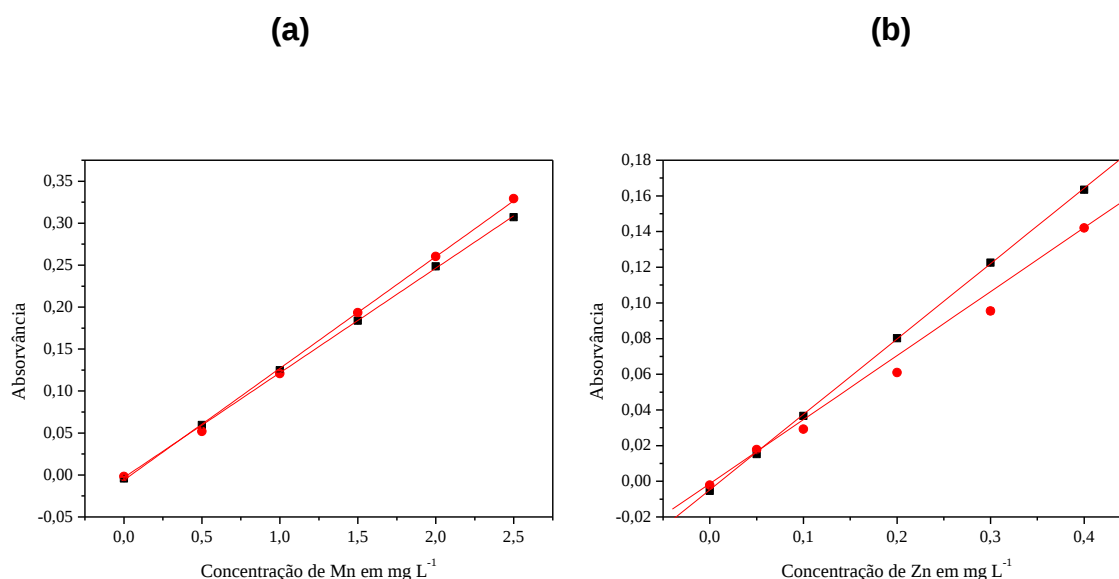


Figura 3- Curvas de calibração em meio ácido (■) e aquoso (●): (a) Mn e (b) Zn

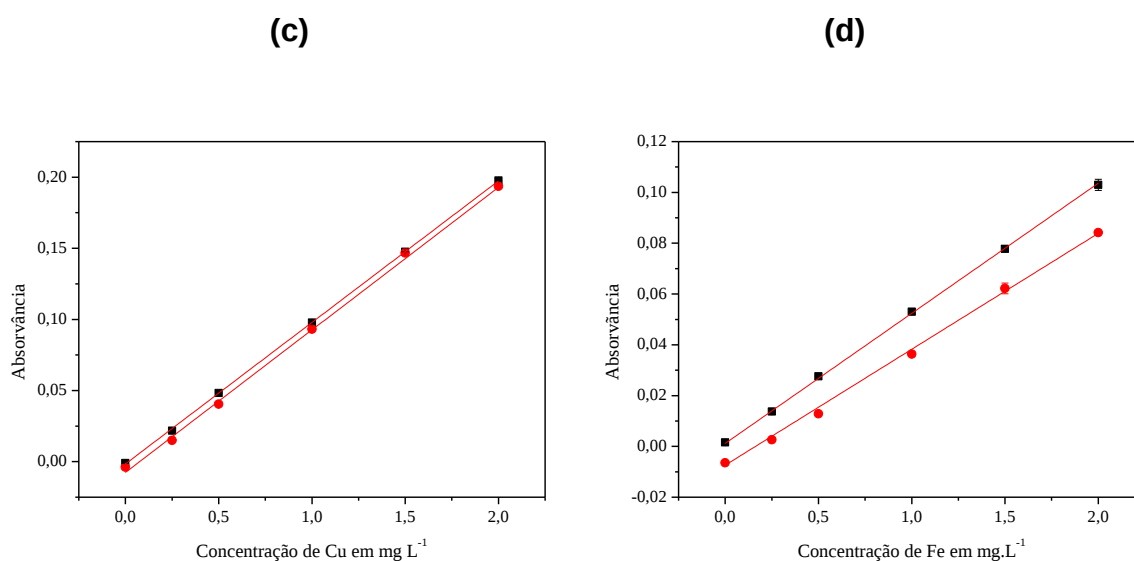


Figura 4- Curvas de calibração em meio ácido (■) e aquoso (●): (c) Cu e (d) Fe

Através dos gráficos foi possível comparar as curvas de calibração para os dois meios estudados, e, com isto perceber que os valores e os pontos foram concordantes tanto em meio ácido como em meio aquoso, devido às retas estarem bem próximas entre os dois meios. Isso foi possível observar para os quatro elementos estudados. Outro item onde podemos observar esta semelhança entre os meios é vista através dos parâmetros da sensibilidade (a), e do coeficiente de correlação linear (r), e que estão descritos na Tabela 6.

Tabela 6- Parâmetros da sensibilidade (a) e do coeficiente de correlação linear (r) para Mn, Zn, Cu e Fe por FAAS.

Analito	(a) meio aquoso	(r) meio aquoso	(a) meio ácido	(r) meio ácido
Mn	0,13444	0,999	0,12477	0,999
Zn	0,34846	0,996	0,42438	0,999
Cu	0,10105	0,999	0,09968	1,000
Fe	0,04628	0,999	0,05080	0,999

Através da Tabela 6 podemos perceber que se obteve boa linearidade nas curvas para estes elementos ($r > 0,99$), e para ambos os meios estudados, independente do meio utilizado nas curvas de calibração. No parâmetro sensibilidade (a) obtiveram-se valores bem próximos no meio aquoso se comparado com meio ácido (o mesmo do preparo da amostra). Uma vez que os resultados obtidos mostraram que as curvas em meio ácido do processo de digestão das amostras não provocou diferença significativa na sensibilidade, as curvas de calibração foram realizadas em meio aquoso.

4.3. Parâmetros de mérito

Os parâmetros de mérito para as curvas de calibração de Mn, Zn, Cu e Fe a partir dos Métodos Convencionais 1 e 2, e do Método Proposto, através do uso da técnica de FAAS, estão apresentadas na Tabela 7.

Tabela 7- Parâmetros de mérito para determinação de Mn, Zn Cu e Fe em amostras de arroz, através dos métodos utilizados por FAAS.

Analito	Faixa (mg.L ⁻¹) Linear	a (mg.L ⁻¹)	R	LD (mg.L ⁻¹)	LQ (mg.L ⁻¹)
Método Convencional 1 e 2					
Mn	0,50-2,5	0,119	0,999	0,030	0,120
Zn	0,05-0,4	0,402	0,995	0,003	0,009
Cu	0,25-2,0	0,111	0,999	0,013	0,040
Fe	0,25-2,0	0,046	0,999	0,050	0,180
Método Proposto Dedo Frio					
Mn	0,50-2,5	0,119	0,999	0,053	0,179
Zn	0,05-0,4	0,399	0,994	0,004	0,015
Cu	0,25-2,0	0,114	1,000	0,009	0,030
Fe	0,25-2,0	0,039	0,995	0,046	0,150

a- Sensibilidade; r- Coeficiente de correlação linear; LD- Limite de Detecção Instrumental; LQ- Limite de Quantificação.

De acordo com os resultados obtidos, tanto para os Métodos Convencionais 1 e 2 como para o Método Proposto, podemos observar boas linearidades nas faixas de trabalho investigadas, tendo em vista que todos os coeficientes de correlação linear (r) foram maiores que 0,99. Para o parâmetro sensibilidade (a), de acordo com a inclinação da reta da curva de calibração foi obtido valores relativamente próximos para os quatro elementos em questão, em comparação aos métodos convencionais 1 e 2 com o Método Proposto. Já os limites de detecção instrumental, e quantificação foram obtidos através de 10 leituras do branco. O cálculo do limite de detecção (LD) foi realizado de acordo com a fórmula:

$$LD = 3 \cdot S_{\text{Dbranco}} / a$$

Onde o S_D significa desvio padrão das leituras de absorvância do branco ($n=10$) e o (a) é a sensibilidade.

Para o cálculo do limite de quantificação (LQ), que expressa a menor massa ou concentração que pode ser quantificada, foi utilizada a seguinte fórmula:

$$LQ = 10 * S_{D\text{branco}} / a$$

Observando-se os dados da Tabela 7, percebe-se que os valores obtidos de LD são considerados baixos para todos os elementos em questão e para todos os métodos, o que mostra uma boa sensibilidade obtida nas análises. Cabe salientar que apenas o Mn obteve valor de LD inferior para os Métodos Convencionais quando comparado ao Método Proposto, observando-se um valor de $0,030 \text{ mg L}^{-1}$ no Método Convencional e $0,053 \text{ mg L}^{-1}$ no Método Proposto. Esta diferença ocorre pelo fato de que são realizadas 10 leituras do branco para posteriormente se determinar os valores de LD e LQ, podendo assim ser possível se obter elevado desvio padrão para as medidas do branco analítico ao longo das 10 leituras.

Já para os valores obtidos de LQ, observa-se que são baixos, comparando-se com as concentrações das amostras de arroz quantificadas durante as análises, tanto para os Métodos Convencionais 1 e 2 como para o Método Proposto. Observando-se os valores encontrados no LD, nota-se que o mesmo ocorreu no LQ quando analisamos os valores encontrados para o Mn, ou seja, esse elemento é o único que apresenta uma diferença maior entre os métodos Proposto e Convencional. No entanto, considerando que o LQ é a menor concentração que pode ser quantificada, os valores encontrados para o Método Proposto e para os Métodos Convencionais 1 e 2, para todos os elementos, são suficientes para a correta quantificação dos analitos nas amostras após o procedimento do preparo das amostras.

4.3.1. Exatidão do Método Proposto

O teste de exatidão para o Método Proposto foi inicialmente realizado fazendo-se uso de uma amostra controle de casca de arroz, proveniente do Laboratório de Análises de Tecidos Vegetais de Piracicaba-SP, a fim de testar a veracidade dos resultados obtidos nesse método, conforme pode ser observado na Tabela 8.

Tabela 8 – Comparação dos resultados de Mn, Zn, Cu e Fe com uma amostra controle de casca de arroz.

Amostra- Analito	Valor Referência (mg kg ⁻¹)	Determinado (mg kg ⁻¹)	RSD (%)
Método Proposto- Dedo frio Amostra controle			
Mn	264,73 ± 29,53	256,92 ± 4,70	2,9
Zn	20,35 ± 3,52	20,28 ± 0,40	1,9
Cu	3,06 ± 1,03	3,00 ± 0,18	6,0
Fe	88,19 ± 24,75	30,21 ± 2,33	7,7

RSD= Desvio Padrão Relativo

Conforme pode ser observado na Tabela 8, os valores de concentrações de Mn, Zn e Cu encontrados na amostra controle de casca de arroz são concordantes com os valores obtidos pelo Método Proposto. Com isso, foi possível observar que os resultados obtidos para esses elementos mostraram boa exatidão. Além disso, a aplicação do test-t de Student mostrou, para um nível de 95% de confiança, que os resultados encontrados não apresentaram diferença significativa em relação aos valores de referência (amostra controle). No entanto, o elemento Fe apresentou valores bem menores do que o valor de referência. A fim de verificar com maior eficiência a exatidão do Método Proposto de dedo frio e ainda buscar um melhor resultado para o Fe, utilizou-se um Material de Referência Certificado (CRM-NIST, farinha de arroz 1568a), onde os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 10.

Tabela 9 – Exatidão do método proposto para Mn, Zn, Cu e Fe usando material de referência certificada NIST (CRM 1568a).

Amostra- Analito	Valor Referência (mg kg⁻¹)	Determinado (mg kg⁻¹)	RSD (%)
Método Proposto- Dedo frio Amostra Referência NIST			
Mn	20,00 ± 1,60	21,00 ± 0,30	1,4
Zn	19,40 ± 0,50	19,50 ± 1,40	7,2
Cu	2,40 ± 0,30	2,25 ± 0,08	3,5
Fe	7,40 ± 0,90	6,50 ± 0,63	9,7

RSD= Desvio Padrão Relativo

Conforme pode ser observado, os valores encontrados para Mn, Zn, Cu e Fe para o NIST (CRM 1568a) de farinha de arroz são concordantes com o valor de referência certificada, mostrando boa exatidão para o Método Proposto de digestão ácida com o auxílio do dedo frio. Os resultados não mostraram diferença significativa com 95% de confiança através do test-t de Student, evidenciando uma boa exatidão do método proposto.

4.3.2. Resultados Analíticos

As concentrações de Mn, Zn, Cu e Fe foram determinadas nos três tipos de amostras de arroz investigadas neste trabalho utilizando os Métodos Convencionais 1 e 2 [51,58], e posteriormente foram comparadas com o Método Proposto. Os resultados se encontram na Tabela 10. Através desses resultados foi possível avaliar os valores das concentrações, expressas em mg kg^{-1} (levando em consideração a massa da amostra sólida pesada), e os resultados são expressos em triplicata.

Tabela 10- Concentrações de Mn, Zn, Cu e Fe em amostras de arroz utilizando diferentes procedimentos de digestão ácida (n=3).

Analito	Amostra	MC1			MC2			MP		
		VE	RSD	LD	VE	RSD	LD	VE	RSD	LD
Mn	1	4,08 ± 0,13	3,2	0,60	4,12 ± 0,28	6,8	1,20	4,26 ± 0,03	0,7	2,12
	2	23,18 ± 0,97	4,2		21,60 ± 0,68	3,1		23,28 ± 0,97	4,2	
	3	9,31 ± 0,06	0,6		10,56 ± 0,11	1,0		9,78 ± 0,56	5,7	
Zn	1	9,35 ± 0,09	0,9	0,06	9,26 ± 0,50	5,4	0,12	9,31 ± 0,52	5,6	0,16
	2	16,40 ± 0,77	4,7		15,20 ± 0,17	1,1		15,30 ± 0,47	3,1	
	3	13,39 ± 0,16	1,2		14,12 ± 1,01	7,1		14,49 ± 0,63	4,3	
Cu	1	3,00 ± 0,12	4,0	0,26	2,79 ± 0,22	8,0	0,52	3,25 ± 0,04	1,2	0,36
	2	2,34 ± 0,11	4,7		2,55 ± 0,18	7,0		2,76 ± 0,06	2,2	
	3	2,95 ± 0,15	5,1		3,41 ± 0,09	2,6		3,22 ± 0,06	1,8	
Fe	1	4,41 ± 0,12	2,7	1,00	3,30 ± 0,16	4,8	2,00	4,65 ± 0,14	3,0	1,84
	2	12,91 ± 0,44	3,4		14,27 ± 0,81	5,7		12,95 ± 0,34	2,6	
	3	4,33 ± 0,44	10		4,07 ± 0,21	5,2		3,50 ± 0,07	2,0	

1-Amostra Arroz Parboilizado; 2-Amostra Arroz Integral; 3-Amostra de Arroz Branco; VE- Valor encontrado (mg kg^{-1}); RSD- Desvio Padrão Relativo (%); LD- Limite de Detecção da amostra original (mg kg^{-1}); MC1- Método Convencional 1; MC2- Método Convencional 2; MP- Método Proposto.

Observando e comparando os resultados obtidos para os Métodos Convencionais 1 e 2 de uma forma geral, percebe-se que os valores entre os métodos foram concordantes para ambos os elementos estudados, e para os diferentes tipos de amostra de arroz.

A análise dos Métodos Convencionais 1 e 2 apresentaram desvios padrão relativos (RSD) inferiores a 10% para ambos os analitos, o que prova uma boa precisão entre os resultados. Outro fator que vale salientar é que os RSDs do Método Convencional 1 foram menores do que o Método Convencional 2, mostrando que o Método 1 se mostrou mais preciso que o Método 2. No entanto, o elemento Fe não obteve valores muito concordantes através das medidas em triplicata, fazendo com que os desvios e os RSD's fossem maiores para ambos os métodos. Vale ainda salientar que o maior valor encontrado foi de 10% na amostra 3, MC1, estando ele dentro do limite máximo permitido para desvio padrão relativo. De acordo com outros trabalhos, descritos na literatura, o Fe costuma variar os valores durante as medidas, como também de trabalho para trabalho, chegando a valores bem diversificados e com percentuais de recuperação menores que o previsto. Segundo Okada *et al.* [6], esta diversidade entre os valores se deve não só pela variação conforme os fatores de cultivo e processamento, como também são decorrentes do preparo da amostra, do método analítico empregado e até do tratamento estatístico dos dados obtidos. Já Oliveira *et al.* [49] vão mais além e reforçam que o Fe é um elemento de difícil dissolução em presença de excesso de íons hidroxila e, além disso, o Fe ao se ligar a matriz, produz uma forma estável com a proteína ferritina. Neste sentido, o Fe apresenta formas mais complexas se comparado com outros elementos.

Comparando os resultados entre os Métodos Convencionais 1 e 2 com o Método Proposto, ambos apresentados na Tabela 10, foi possível observar que os valores encontrados foram bem próximos entre si para todos os elementos em questão e para os diferentes tipos de amostras.

A fim de verificar a exatidão do Método Proposto comparado com os Métodos Convencionais 1 e 2, foi aplicado o teste t-Student pareado, que é um cálculo estatístico que faz a comparação entre os Métodos. Através deste teste foi possível verificar que os resultados não mostraram diferença significativa a um nível de confiança de 95%, podendo assim confirmar que o método foi exato.

A Metodologia Proposta se mostrou adequada, pois os valores dos desvios padrão relativos (RSD) para as diferentes amostras de arroz mostraram uma boa reprodutibilidade entre as medidas (RSD<10%), parâmetro

este fundamental para assegurar a precisão requerida. Se comparado com as Metodologias Convencionais 1 e 2, os RSD foram melhores para a maioria das amostras de arroz, com destaque para o elemento Fe e Cu que apresentaram valores mais baixos de RSD se comparado com os Métodos Convencionais, mostrando que o Método Proposto proporcionou uma melhor precisão da análise.

Os resultados dos limites de detecção na amostra original, na qual leva em consideração os valores das massas pesadas para cada método estudado, foram considerados baixos. Uma vez que os limites de detecção dos métodos são suficientes para quantificar as amostras, pode-se concluir que tanto o método proposto como os outros métodos convencionais são adequados para determinação de Mn, Zn, Cu e Fe nas amostras investigadas.

4.3.3. Avaliação dos resultados

Fazendo-se uma análise geral dos resultados obtidos das concentrações de Mn, Zn, Cu e Fe em amostras de arroz Parboilizado, Integral e Branco, foi possível observar que foram encontrados valores mais elevados para Mn e Zn para todos os métodos, conforme pode ser observado na Tabela 8. Entretanto, os maiores valores encontrados foram para as amostras 2 e 3, que correspondem a arroz Integral e Branco, respectivamente; caracterizando ser um alimento com fonte mais rica desses nutrientes. Cabe dizer ainda que na amostra de arroz integral foi encontrada uma concentração de Mn muito maior do que para o Zn. Outro fator importante de salientar sobre esses nutrientes é que, conforme já havia sido destacado no item 2.2, o arroz branco apresenta um maior teor de Mn e Zn quando comparado ao arroz parboilizado. Este fato ocorre devido às perdas destes nutrientes durante o seu processamento, onde pesquisas recentes observaram o mesmo fato, conforme relatado por Heinemann *et al.* [5], e Denardin *et al.* [3], que justificaram este acontecimento através da perda destes nutrientes devido a alguns fatores que ocorrem durante o processamento do arroz parboilizado.

Para o Cu, os valores encontrados foram mais baixos do que os outros nutrientes. Embora o Cu tenha sido encontrado em menor concentração que os outros metais, o arroz pode ser sim fonte viável deste elemento (micronutriente). Neste sentido, se obtiveram valores próximos entre os tipos de arroz, com um valor um pouco maior deste nutriente para o arroz parboilizado e o branco. Cabe salientar que concentrações similares de Cu, para amostras de arroz branco, parboilizado e integral foram encontradas em trabalhos de Nano *et al.* [57], Okada *et al.* [6] e Heinemann *et al.* [5], onde os valores encontrados estiveram em torno de 1,7 a 2,7 mg kg⁻¹ de Cu para os diferentes tipos de arroz.

Para o Fe, os valores encontrados foram considerados menores para as amostras de arroz parboilizado e branco, ao se comparar com os valores encontrados na amostra de arroz integral, o que leva a crer que esse tipo de arroz é o que possui um maior teor de Fe. Em comparação com outros trabalhos existentes, o Fe é um elemento que apresenta certa diversidade de valores encontrados. No entanto, o fato de ocorrer esta diversidade em algumas amostras de arroz, segundo o trabalho de Oliveira *et al.* [49], seria devido à dificuldade da total dissolução do Fe na matriz do arroz no momento da digestão. Os valores encontrados para o Fe em trabalhos tais como de Okada *et al.* [6] e Nano *et al.* [57], foram de 3,2 mg kg⁻¹ e 0,6 mg kg⁻¹ em arroz branco, 1,8 mg kg⁻¹ em arroz parboilizado e 6,4 mg kg⁻¹ em arroz integral. Outros trabalhos de Denardin *et al.* [3] e Heinemann *et al.* [5] apresentaram valores que também divergem com os já relatados que são de 12 mg kg⁻¹ em arroz branco, 10,4 mg kg⁻¹ em arroz parboilizado e 12,9 mg kg⁻¹ em arroz integral. Já os valores observados por Heinemann *et al.* [5] foram de 5,7 mg kg⁻¹ para arroz branco e 5,5 mg kg⁻¹ para arroz parboilizado. De modo geral, alguns valores de Fe citados por Okada *et al.* [6] e Denardin *et al.* [3] são próximos dos encontrados neste trabalho. Comparando-se os valores encontrados neste trabalho com o de outros autores, conforme observado na Tabela 1 do item 2.1, onde é possível visualizar os valores encontrados para Mn, Zn, Cu e Fe, por Walter *et al.* [1], pode-se dizer que os resultados das análises dos elementos em questão estiveram dentro do esperado, tanto para as amostras de arroz branco polido como para as amostras de arroz integral.

5. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados apresentados, foi possível verificar que, o processo de digestão ácida acoplado ao sistema de dedo frio utilizado para o preparo das amostras de arroz, foi aplicado com sucesso e mostrou ser eficiente para a determinação de Mn, Zn, Cu e Fe por FAAS.

A metodologia proposta mostrou ser simples, pois dispensa o uso de misturas ácidas no preparo das amostras, conforme utilizado nos métodos convencionais de análise, evitando assim também a necessidade de reposição do ácido durante o processo de digestão. Isto minimiza os custos referentes à análise, bem como possíveis contaminações. Além disso, o sistema utilizado é facilmente adaptado aos sistemas de digestão convencionais.

Foi observado também que na análise dos RSDs foram encontrados valores menores que 6% para todos os elementos, com destaque para o Fe e Cu, que obtiveram valores de RSDs de 2,0 a 3,0%, e de 1,2 a 2,2%, respectivamente, mostrando uma melhor precisão do método se comparado com os métodos convencionais.

Os resultados deste estudo evidenciam que o arroz pode ser considerado como um importante alimento, auxiliando na nutrição e na saúde da população, já que valores significativos dos respectivos elementos analisados foram observados. Cabe salientar que, a maior concentração destes elementos foi observada no arroz integral, com exceção do Cu. Já o Mn e o Zn apresentaram valores mais altos em comparação com os outros elementos estudados, sendo estes valores de 4,26 a 23,28 mg kg⁻¹ para o Mn, e de 9,31 a 15,30 mg kg⁻¹ para o Zn.

Neste estudo foi possível observar também que, dentre os diferentes tipos de arroz analisados, concentrações diferentes de Mn, Zn e Fe foram encontradas, o que pode estar diretamente relacionado ao tipo de processamento do arroz, com possíveis perdas de nutrientes.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Walter, M; Marchezan, E; Avila, L.A. Arroz: composição e características nutricionais. *Ciência Rural*, Santa Maria, Vol- 38, 1184-1192, **2008**.
- [2] Embrapa Clima Temperado; *Sistemas de Produção 3*, Pelotas, RS, Brasil, **2005**, <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br>, acessado em outubro de 2012.
- [3] Denardin, C.C; Silva, L.P; Storck, C.R; Nornberg, J.L; Composição mineral de cultivares de arroz integral, parboilizado e branco; *Alim. Nutr.*, Araraquara, Vol- 15, 125-130, **2004**.
- [4] Storck, C.R. Variação na composição química em grãos de arroz submetidos a diferentes beneficiamentos. **2004**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Curso de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria.
- [5] Heinemann, R.J.B; Fagundes, P.L; Pinto, E.A; Penteado, M.V.C; Lanfer-Marquez, U.M; Comparative study of nutrient composition of commercial brown, parboiled and milled rice from Brazil; *Journal of Food Composition and Analysis* Vol-18, 287–296, **2005**.
- [6] Okada, I.A; Duran, M.C; Buzzo, M.L; Dovidauskas, S; Sakuma, A.M; Zenebon, O; Validação e aplicação de metodologia analítica na determinação de nutrientes inorgânicos em arroz polido; *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, Vol- 27, 492-497, **2007**.
- [7] Es'haghia, Z; Khalili, M; Khazaeifara, A; Rounaghi, G.H; Simultaneous extraction and determination of lead, cadmium and copper in rice samples by a new pre-concentration technique: Hollow fiber solid phase microextraction combined with differential pulse anodic stripping voltammetry; *Electrochimica Acta*, Vol- 56, 3139–3146, **2011**.

- [8] Krug, F.J; Métodos de preparo de amostras: fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar. 1 ed., Piracicaba, 340; **2010**.
- [9] FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. Statistical databases. Acessado em outubro de 2012. Online. Disponível na Internet: <http://www.fao.org>.
- [10] Ministério da agricultura, consultado em 14 de setembro de 2012, em: <http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/arroz>
- [11] Naves, M.M.V; Ceppa, B; Características Químicas e Nutricionais do arroz. Curitiba, V. 25, 51-60, **2007**.
- [12] Castro, E.M; Vieira, N.R.A; Rabelo, R.R; Silva, S.A; Qualidade de grãos em arroz. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, **1999**. 30p. (Embrapa Arroz e Feijão. Circular Técnica, 34).
- [13] Storck, C. R; Silva, L. P; Comarella, C.G; Process influence on nutritional composition of rice grains. Alim. Nutr. Araraquara, Vol- 16, 259-264, **2005**.
- [14] Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). Acessado em Outubro de 2012, em: http://www.fao.org/rice2004/index_en.htm
- [15] Zhou, Z; Robards, K; Helliwell, S; Blanchard, C; Composition and functional properties of rice. International Journal of Food and Technology, Vol- 37, 849-868, **2002**.
- [16] Itani, T; Tamaki, M; Arai, E; Horino, T; Distribution of Amylose Nitrogen, and Minerals in Rice Kernels with Various Characters; *J. Agric. Food Chem.*, Vol- 50, 5326- 5332, **2002**.
- [17] Juliano, B.O. Rice in human nutrition. Rome: FAO, 1993. Disponível em: <http://www.fao.org/inpho/content/documents//vlibrary/t0567e/t0567e00.htm>. Acesso em: 14 de outubro de 2012.

[18] BRASIL. Resolução RDC nº 269 de 22 de setembro de 2005; Adota níveis de Ingestão Diária Recomendada (IDR) para vitaminas, minerais e proteínas. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 23 set. 1998.

[19] BRASIL. Resolução RDC nº 359 de 23 de dezembro de 2003. Estabelece o regulamento técnico de porções de alimentos embalados para fins de rotulagem nutricional. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 26 dez. 2003.

[20] PHILIPPINES. University of Philippines Los Baños, International Rice Research Institute. Rice supply/utilization balances, by country and geographical region, selected years-Table 17. Disponível em <<http://www.irri.org/science/ricestat/pdfs/Table%2017.pdf>>. Acessado em outubro de 2012.

[21] Vasconcelos, M; Datta, K; Oliva, N; Khalekuzzaman, M; Torrizo, L; Krishnan, S; Oliveira, M; Goto, F; Datta, K.S; Enhanced iron and zinc accumulation in transgenic rice with the ferritin gene; Plant Science Vol-164, 371-378, **2003**.

[22] The World's Healthiest Foods. George Mateljan Foundation. Disponível em: <http://www.whfoods.com/genpage.php?tname=foodspice&dbid=128/>. Acesso em: 22 de setembro de 2012.

[23] Eggum, B.O; Juliano, B.O; Perez, C.M; Acedo, E.F; The resistant starch, undigestible energy and undigestible protein contents of raw and cooked milled rice. J. Cereal Sci., Vol- 18, 159-170, **1993**.

[24] BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Abastecimento. Portarias 269/88 de 17/11/88 e 01/89 de 09/01/89.

[25] Henry, C.J.K.; Massey, D. Micro-nutrient changes during food processing and storage. Crop Post-Harvest Programme. Issues Paper – 5.

Dec. 2001. Disponível em: <http://www.dfid.gov.uk/r4d/PDF/Outputs/CropPostHarvest/Issuepaper5.pdf>
Acessado em 23 de Outubro de 2012.

[26] Azevedo, F. A., Chasin, A. A. M. Metais: Gerenciamento da toxicidade. São Paulo: Editora Atheneu, **2003**.

- [27] Mihucz, V. G; Silversmit, G; Szalóki, I; Samber, B; Schoonjans, T; Tatár, E; Vincze, L; Virág, I; Yao, J; Záray, G; Removal of some elements from washed and cooked rice studied by inductively coupled plasma mass spectrometry and synchrotron based confocal micro-X-ray fluorescence; Food Chemistry; Vol- 121, 290–297, **2010**.
- [28] Site disponível em: <http://www.sodietas.com/conheca-os-nutrientes-sais-minerais-manganes/> acessado em 01 de outubro de 2012.
- [29] Ferreira, E.V.O; Carvalho, J.G; Júnior, L.A.F; Bastos, A.R.R; Pinho, P.J; Manganês na nutrição mineral de cultivares de arroz de terras altas; *Pesquisa Agropecuária Tropical*, Vol- 39, 151-157, **2009**.
- [30] Lidon, F.C; Teixeira, M.G; Rice tolerance to excess Mn: Implications in the chloroplast lamellae and synthesis of a novel Mn protein; Plant. Physiol. Biochem, Vol- 38, 969–978, **2000**.
- [31] Prom-u-thai, C; Rerkasem, B; Cakmak, I; Huang, L; Zinc fortification of whole rice grain through parboiling process; Food Chemistry, Vol- 120, 858–863, **2010**.
- [32] Pedraza, D.F; Rocha, A.C.D; Queiroz, E.O; Souza, C.P.C; Estado nutricional relativo ao zinco de crianças que frequentam creches do estado da Paraíba; Rev. Nutr., Campinas, Vol- 24, 539-552, **2011**.
- [33] Yan, Y.P; He, J.Y; Zhu, C; Cheng, C; Pan, X.B; Sun, Z.Y; Accumulation of copper in brown rice and effect of copper on rice growth and grain yield in different rice cultivars; Chemosphere, Vol- 65, 1690–1696, **2006**.
- [34] Abbasi, S; Bahiraei, A; Abbasai, F; A highly sensitive method for simultaneous determination of ultra trace levels of copper and cadmium in food and water samples with luminol as a chelating agent by adsorptive stripping voltammetry. Food chemistry, vol- 129, 1274, **2011**.
- [35] Abbasi, S; Khani, H; Tabaraki, R; Determination of ultra trace levels of copper in food samples by a highly sensitive adsorptive stripping voltammetric method; Food chemistry, vol- 123, 507, **2010**.

- [36] Fantini, A.P; Canniatti-Brazaca, S.G; Souza, M.C; Mansi, D.N; Disponibilidade de ferro em misturas de alimentos com adição de alimentos com alto teor de vitamina C e de cisteína; *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, Vol- 28, 435-439, **2008**.
- [37] Prom-u-thai, C; Fukai, S; Godwin, I.D; Rerkasem, B; Huang, L; Iron-fortified parboiled rice – A novel solution to high iron density in rice-based diets; *Food Chemistry*, Vol- 110, 390–398, **2008**.
- [38] MILLER-IHLI, N. J. Trace element determinations in foods and biological samples using inductively coupled plasma atomic emission spectrometry and flame atomic absorption spectrometry. *J. Agric. Food Chem*, Vol- 44, 2675-2679, **1996**.
- [39] Amorim, F.A.C; Lobo, I.P; Santos, V.L.C.S; Ferreira, S.L.C; Espectrometria de absorção atômica: o caminho para determinações multi-elementares; *Quim. Nova*, Vol- 31, 1784-1790, **2008**.
- [40] Skoog, D.A; West; Holler, F.J; Crouch, S.R; Fundamentos de Química Analítica. Tradução da 8 ° edição norte americana; Editora Thomson.
- [41] Holler, F.J; Skoog, D.A; Crouch, S.R. Princípios de Análise Instrumental. 6° edição, Porto Alegre: Bookman, **2009**.
- [42] Harvey. D; Modern analytical chemistry; DePauw University; **2000**.
- [43] Tolg, G; Extreme trace analysis of the elements- I, Methods and problems of sample treatment, separation and enrichment; *Talanta*, Vol- 19. pp. 1489 to 1521. Pergamon Press. Printed in Northern Ireland; **1972**.
- [44] Oliveira, E; Sample Preparation for Atomic Spectroscopy: Evolution and Future Trends; *J. Braz. Chem. Soc.*, Vol- 14, 174-182, **2003**.
- [45] Keawkim, K; Chuanwatanakul, S; Chailapakul, O; Motomizu, S; Determination of Lead and Cadmium in Rice Samples by Sequential Injection/Anodic Stripping Voltammetry using a Bismuth Film/Crown

Ether/Nafion Modified Screen-Printed Carbon Electrode; Food Control; 10.1016/j. foodcont, **2012**.

[46] Chen, H; Xu, S; Fang, Z; Determination of copper in water and rice samples by flame atomic absorption spectrometry with flow-injection on-line adsorption preconcentration using a knotted reactor; Analytica Chimica Acta, Vol- 298, 167-173, **1994**.

[47] Tedesco, M. J; Gianello, C; Bissani, C. A; Bohnen, H; Volkweiss, S. J; Análises de solo, plantas e outros materiais. Porto Alegre; Departamento de solos, **1995**.

[48] Xiang, G; Wen, S; Wu, X; Jiang, X; He, L; Liu, Y; Selective cloud point extraction for the determination of cadmium in food samples by flame atomic absorption spectrometry; Food Chemistry, Vol-132, 532–536, **2012**.

[49] Oliveira, A; Baccan, N; Cadore, S; Evaluation of Metal Ions in Rice Samples: Extraction and Direct Determination by ICP OES; *J. Braz. Chem. Soc.*, Vol- 23, 838-845, **2012**.

[50] Ferreira, S.L.C; Silva, L.O.B; Santana, F.A; Junior, M.M.S; Matos, G.D; Santos, W.N.L; A Review of reflux systems using cold finger for sample preparation in the determination of volatile elements; doi: [10.1016/j.microc.2012.08.015](https://doi.org/10.1016/j.microc.2012.08.015); Reference: MICROC 1641; **2012**.

[51] Orestes, E.Q; Jesus, A; Oliveira, R.M; Silva, M.M; Vieira, M.A; Ribeiro, A.S. New design of cold finger for sample preparation in open system: Determination of Hg in biological sample by CV- AAS. Microchemical journal,doi:10.1016/j.microc.2012.05.0,34, **2012**.

[52] Silva, D.G; Júnior, M.M.S; Silva, L.O.B; Portugal, L.A; Matos, G.D; Ferreira, S.L.C; Determination of cadmium in rice by electrothermal atomic absorption spectrometry using aluminum as permanent modifier; Anal. Methods, Vol-3, 2495–2500, **2011**.

[53] Jesus, R.M; Junior, M.M.S; Matos, G.D; Santos, A.M.P; Ferreira, S.L.C; Validation of a Digestion System Using a Digester Block/Cold Finger System for

the Determination of Lead in Vegetable Foods Employing Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry; *Journal of AOA C International*, Vol- 94, **2011**.

[54] Ferreira, S.L.C; Jesus, R.M; Matos, G.D; Andrade, J.B; Bruns, R.E; Santos, W.N.L; Cavalcante, D.D; Vale, M.G.R; Dessuy, M.B; Multivariate Optimization and Validation of an Analytical Method for the Determination of Cadmium in Wines Employing ET AAS; *J. Braz. Chem. Soc.*, Vol- 20, 788-794, **2009**.

[55] Macedo, S.M; Santos, D.C; Jesus, R.M; Rocha, G.O; Ferreira, S.LC; Andrade, J.B; Development of an analytical approach for determination of total arsenic and arsenic (III) in airborne particulate matter by slurry sampling and HG-FAAS; *Microchemical Journal*, Vol- 96, 46–49, **2010**.

[56] Zmozinski, A.V; Jesus, A; Vale, M.G.R; Silva, M.M; Determination of calcium, magnesium and zinc in lubricating oils by flame atomic absorption spectrometry using a three-component solution; *Talanta*, Vol- 83, 637–643, **2010**.

[57] Nano, R.M.W; Bruns, R.E; Ferreira, S.L.C; Baccan, N; Cadore, S; Statistical mixture design development of digestion methods for Oyster tissue using inductively coupled plasma optical emission spectrometry for the determination of metallic ions; *Talanta*, Vol- 80, 559–564, **2009**.

[58] Malavolta, E; Vitti, G.C; Oliveira, S.A; Avaliação do estado nutricional; princípios e aplicações. Piracicaba, SP, **1997**.