



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA**  
**INSTITUTO DE QUÍMICA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**  
**GRUPO DE PESQUISA EM QUÍMICA ANALÍTICA**

**TAIANA DO BOMFIM TARANTINO**

**DESENVOLVIMENTO DE UM PROCEDIMENTO ALTERNATIVO  
PARA DETERMINAÇÃO DE ELEMENTOS TRAÇO EM ARROZ  
EMPREGANDO DIGESTÃO ASSISTIDA POR MICRO-ONDAS COM  
ÁCIDO NÍTRICO DILUÍDO**

Salvador

2012

**TAIANA DO BOMFIM TARANTINO**

**DESENVOLVIMENTO DE UM PROCEDIMENTO ALTERNATIVO  
PARA DETERMINAÇÃO DE ELEMENTOS TRAÇO EM ARROZ  
EMPREGANDO DIGESTÃO ASSISTIDA POR MICRO-ONDAS COM  
ÁCIDO NÍTRICO DILUÍDO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química, Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Química.

Orientadora: Profa. Dra. Maria das Graças A. Korn

Salvador  
2012

*“A vida vale a pena ser vivida apesar de todas suas dificuldades, tristezas e momentos de dor e angustia. O mais importante que existe sobre a face da terra é a pessoa humana. E surpreender o homem no ato de viver é uma das coisas mais fantásticas que existe.”*

Erico Veríssimo.

*“O que vale na vida não é o ponto de partida e sim a caminhada. Caminhando e semeando, no fim terás o que colher.”*

Cora Coralina

## AGRADECIMENTOS

São muitos, e tão importantes...

A Deus, presente em todos os momentos de minha vida.

Aos meus amados pais, Vilma e Carlos, por tudo, pelos ensinamentos, firmeza e apoio. Ao meu querido irmão Gabriel, sempre presente na minha vida e por ter ajudado com ideias e sugestões. A minha tia Gladys, pela dedicação, amor e companhia.

A minha orientadora, Profa. Dra. Maria das Graças A. Korn, pela confiança, receptividade e disposição.

Ao Prof. Dr. Madson de Godoi Pereira, pela confiança e valiosas conversas desde a iniciação científica.

Aos professores Dr. Daniel Lima e Dr. Mauro Korn pelos auxílios prestados durante a realização deste trabalho.

A Wdson, pelo companheirismo, paciência, ensinamentos e palavras de incentivo.

Aos colegas de laboratório (GPQA), muito atenciosos, especialmente a Isa pelo acolhimento e colaboração no uso dos equipamentos.

Aos amigos e colegas da UNEB pela amizade, apoio e inesquecíveis momentos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química da UFBA pela oportunidade.

Aos professores e funcionários do PGQUIM pela ajuda.

Aos professores da UNEB pelo estímulo proporcionado durante minha graduação.

A CAPES pela concessão da bolsa.

Ao CNPq, FAPESB e Petrobras pelos investimentos nos projetos de pesquisas.

A todos, que por ventura não tenha citado, e que de alguma maneira contribuíram para o meu crescimento pessoal e profissional.

## RESUMO

O arroz (*Oryza sativa*) é um dos cereais mais produzidos e consumidos, sendo o alimento básico na dieta de mais da metade da população mundial. A digestão ácida assistida por radiação micro-ondas usando ácidos diluídos vem sendo bastante utilizada, principalmente, por reduzir a concentração ácida mantendo a eficiência da digestão, gerando menor volume de resíduo e diminuindo o fator de diluição antes da análise. A determinação dos teores de nutrientes é de grande relevância devido à capacidade nutricional do arroz, que pode conter espécies essenciais ou contaminantes a saúde humana. O objetivo deste trabalho foi propor um procedimento de digestão com HNO<sub>3</sub> diluído empregando forno de micro-ondas com cavidade para determinação de macro, micro e elementos traço (As, Ca, Cd, Fe, K, Mg, Mn, Mo, P, Se, Zn) em amostras de arroz por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) e espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS). Foi realizado um planejamento fatorial 3<sup>2</sup> e Box-Behnken e as variáveis investigadas foram: volume de HNO<sub>3</sub> destilado, temperatura e tempo, ambos no último patamar do programa de aquecimento. As condições otimizadas foram 2 mL de HNO<sub>3</sub> e temperatura de 200 °C durante o tempo de 20 minutos. O volume de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30%, a massa e a granulometria da amostra foram fixados em 1,0 mL, 250 mg e 500 µm, respectivamente. A exatidão foi avaliada com o material de referência certificado NIST 1568a e do teste de recuperação para os analitos investigados, que variaram entre 80,1 e 102,1 % e 96,6 e 109,8 %, respectivamente. A precisão foi verificada pelo desvio padrão relativo, sendo sempre inferior a 10%, inclusive no teste de repetitividade. O procedimento proposto foi aplicado na determinação dos elementos em 23 amostras de arroz submetidas a três tipos de processamentos (polido, parboilizado e integral). As faixas de concentração para os elementos traço, em µg g<sup>-1</sup>, foram: Al (<2,4-15,3); As (<0,2-0,32); Cd (<0,004–0,017); Cu (0,2-2,2); Fe (<0,2-17,4); Mn (2,8-34,9); Mo (<0,20-0,81); Se (<0,2-0,271) e Zn (4,8-14,9). De modo geral, os resultados obtidos encontram-se concordantes com as faixas de concentração descritas na literatura.

**Palavras-chave:** arroz, ácidos diluídos, preparo de amostras, radiação micro-ondas

## ABSTRACT

The rice (*Oryza sativa*) is one of the most produced and consumed cereal, and the staple on the diet of over half the world's population. Acid digestion microwave-assisted radiation using diluted acids has been used mainly for reducing the acid concentration maintaining the efficiency of digestion, generating lesser volume of waste and reducing the dilution factor prior to analysis. The determination of the levels of nutrients is of great relevance due to the nutritional capacity of rice, which can contain species essential or contaminants to human health. The objective of this study was to propose a procedure employing digestion with diluted HNO<sub>3</sub> in a microwave oven for determination of macro, micro and trace elements (As, Ca, Cd, Fe, K, Mg, Mn, Mo, P, Se, Zn) in rice samples by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES) and inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). We conducted factorial design 3<sup>2</sup> and Box-Behnken and the variables investigated were: volume of HNO<sub>3</sub>, temperature and time, both in the final phase of the heating program. The optimized conditions were 2 ml of HNO<sub>3</sub>, 200 ° C for a period of 20 minutes. The volume of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30%, weight and size of the sample were fixed in 1.0 mL, 250 mg e 500 μm, respectively. The accuracy was evaluated with the certified reference material NIST 1568a and recovery test for the elements investigated, which ranged between 80.1-102.1 % and 96.6 – 109.8 %, respectively. Accuracy was verified by the relative standard deviation, always less than 10%, including the test repeatability. The procedure was applied to the determination of elements in 23 rice samples subjected to three types of processing (white, parboiled and brown). The concentration ranges, in μg g<sup>-1</sup>, for the analytes were: Al (<2.4-15.3); As (<0.2-0.32); Cd (<0.004–0.017); Cu (0.2-2.2); Fe (<0.2-17.4); Mn (2.8-34.9); Mo (<0.20-0.81); Se (<0.2-0.271) e Zn (4.8-14.9). In general, the results obtained are in agreement with the concentration ranges described in the literature.

**Keywords:** rice, diluted acids, sample preparation, microwave radiation

## LISTA DE FIGURAS

Figura 01. Representação de um grão de arroz (NITZKE E BIEDRYCKI, 2012). .....	14
Figura 02. Corte longitudinal do grão de arroz (NITZKE E BIEDRYCKI, 2012).....	15
Figura 03. Representação do aprisionamento dos nutrientes no arroz parboilizado polido (TEIXEIRA, 2010). .....	16
Figura 04. Esquema simplificado das formas de aquecimento condutivo e por micro-ondas (KRUG e colaboradores, 2008). .....	18
Figura 05. Representação das reações envolvidas na digestão com ácidos diluídos (CASTRO, 2007). .....	20
Figura 06. Gráfico de Pareto para resposta múltipla do planejamento fatorial completo. ....	35
Figura 07. Gráfico de Pareto para resposta múltipla do planejamento Box-Behnken. ....	39
Figura 08. Superfície de Resposta para resposta múltipla do planejamento Box-Behnken. ....	39
Figura 09. Teor de carbono residual nas soluções resultantes dos experimentos do planejamento Box-Behnken.....	40
Figura 10. Concentração média ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) dos analitos nos três tipos de arroz estudados.....	51

## LISTA DE TABELAS

Tabela 01. Procedimentos e técnicas empregados para determinação elementar em amostras de arroz.....	25
Tabela 02. Identificação das amostras de arroz.....	28
Tabela 03. Programa de aquecimento do procedimento de referência (TEIXEIRA, 2010). .....	29
Tabela 04. Programa de aquecimento para o procedimento de digestão assistida por micro-ondas no planejamento fatorial.....	30
Tabela 05. Programa de aquecimento do procedimento proposto.....	31
Tabela 06. Parâmetros instrumentais e comprimento de onda nas determinações por ICP OES.....	32
Tabela 07. Parâmetros instrumentais e isótopos utilizados nas determinações por ICP-MS.....	33
Tabela 08. Matriz do planejamento fatorial completo e resposta dos analitos e da resposta múltipla, em percentagem de recuperação.....	36
Tabela 09. Matriz do planejamento fatorial desenho Box-Behnken para otimização multivariada de digestão de amostras de arroz.....	37
Tabela 10. Resultado do planejamento fatorial Box-Bhenken, em percentagem de recuperação e resposta múltipla, para digestão de amostras de arroz por micro-ondas com cavidade.....	38
Tabela 14. Limites de detecção e quantificação para as determinações por ICP OES e ICP-MS.....	42
Tabela 15. Curvas analíticas das amostras para o ICP OES e ICP-MS.....	43
Tabela 11. Comparação dos valores certificados e obtidos para CRM NIST 1568a determinados por ICP OES.....	44
Tabela 12. Comparação dos valores certificados e obtidos para SRM 1568a determinados por ICP-MS.....	45



Tabela 13. Resultados ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) do teste de repetitividade para determinações por ICP OES e ICP MS.....	46
Tabela 16. Resultados ( $\text{mg L}^{-1}$ ) do teste de recuperação dos elementos Al, Fe, Mn e Zn para determinação por ICP OES.....	48
Tabela 17. Resultados ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) do teste de recuperação dos elementos As, Mo e Se para determinação por ICP-MS. ....	48
Tabela 18. Razão entre os coeficientes angulares da curva analítica no meio da matriz e meio ácido. ....	49
Tabela 19. Concentração de Al, Cu, Fe, Mn e Zn ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) ( $n=3 \pm s$ ) nas amostras de arroz determinadas por ICP OES. ....	52
Tabela 20. Concentração de Ca, K, Mg e P ( $\text{mg g}^{-1}$ ) ( $n=3 \pm s$ ) nas amostras de arroz determinadas por ICP OES. ....	53
Tabela 21. Concentração de As, Cd, Mo e Se ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) ( $n=3 \pm s$ ) nas amostras de arroz determinadas por ICP-MS. ....	54
Tabela 22. Intervalo de concentração ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) de macro, micro e elementos traços em amostras de arroz.....	55
Tabela 23. Intervalo de concentração ( $\text{mg g}^{-1}$ ) de macro elementos em amostras de arroz. ....	55
Tabela 24. Teor de nutrientes inorgânicos ( $\text{mg } 100\text{g}^{-1}$ ) em amostras arroz declarados na literatura. Continua. ....	56
Tabela 25. Continuação. Teor de nutrientes inorgânicos ( $\text{mg } 100\text{g}^{-1}$ ) em amostras arroz declarados na literatura.....	57
Tabela 26. Concentração ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) de contaminantes inorgânicos em alimentos permitidos pela ANVISA. ....	58
Tabela 27. Concentrações de ingestão diária recomendada (IDR) e o limite máximo (LM) tolerado para cada analito.....	59

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AOAC	Do inglês American Association of Official Analytical Chemist
CRM	Do inglês Certified Reference Material (Material de Referência Certificado)
EDXRF	Do inglês: Energy Dispersive X-Ray Fluorescence (Fluorescência de Raios X de Energia Dispersiva)
F AAS	Do inglês: Flame Atomic Absorption Spectrometry (Espectrometria de Absorção Atômica com Chama)
GF AAS	Do inglês: Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry (Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite)
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ICP-MS	Do inglês: Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (Espectrometria de Massas com Plasma Indutivamente Acoplado)
ICP OES	Do inglês: Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado)
ICP-SF-MS	Do inglês Inductively Coupled Plasma Sector Field Mass Spectrometry
IDR	Ingestão Diária Recomendada
LMT	Limite Máximo Tolerado
LOD	Do inglês: Limit of Detection (Limite de Detecção)
LOQ	Do inglês: Limit of Quantification (Limite de Quantificação)
RSD	Do inglês: Relative Standard Deviation (Desvio Padrão Relativo)
RSM	Do inglês Response Surface Methodology (Metodologia de Superfície de Resposta)
WHO	Do inglês World Health Organization (Organização Mundial de Saúde)

# SUMÁRIO

RESUMO.....	5
ABSTRACT.....	6
LISTA DE FIGURAS.....	7
LISTA DE TABELAS.....	8
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	10
1. INTRODUÇÃO.....	13
1.1. Processamento do arroz.....	14
1.2. Digestão com ácidos diluídos e radiação micro-ondas.....	17
1.3. Planejamento experimental .....	21
1.4. Determinação de macro, micro e elementos traço em arroz.....	23
1.5. Objetivos.....	26
1.5.1. Objetivo geral.....	26
1.5.2. Objetivos específicos.....	26
2. EXPERIMENTAL.....	27
2.1. Reagentes e amostras.....	27
2.2. Equipamentos.....	28
2.3. Procedimentos experimentais.....	29
2.3.1. Procedimento de otimização.....	29
2.3.2. Validação do procedimento proposto.....	30
2.3.3. Digestão das amostras.....	30
2.4. Determinação dos analitos.....	31
2.4.1. Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES).....	31

2.4.2. Espectrometria de Massas com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-MS).....	33
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	34
3.1. Otimização multivariada.....	34
3.2. Validação do procedimento proposto.....	41
3.2.1. Limite de detecção e quantificação.....	41
3.2.2. Linearidade e faixa dinâmica linear.....	42
3.2.3. Exatidão.....	43
3.2.4. Precisão.....	45
3.2.5. Teste de recuperação.....	46
3.2.6. Efeito de matriz.....	47
3.3. Aplicação.....	50
4. CONCLUSÕES.....	61
5. REFERÊNCIAS.....	63

# 1. INTRODUÇÃO

Os grãos de cereais constituem uma fonte valiosa de proteínas para a alimentação humana. Dentre os cereais mais consumidos nas antigas e modernas civilizações destacam-se o arroz, a aveia, a cevada, o centeio, o milho e o trigo (TEIXEIRA, 2010).

O arroz (*Oryza sativa*) é uma excelente fonte de energia, devido à alta concentração de amido, fornecendo também proteínas, vitaminas e minerais, e possui baixo teor de lipídios. Devido à importância do arroz na dieta de grande parte da população, sua qualidade nutricional afeta diretamente a saúde humana (WALTER; MARCHEZAN e AVILA, 2008; VIEIRA e colaboradores, 2008).

O arroz pode ser utilizado para consumo humano em diversas formas: arroz em grãos (polido, parboilizado e integral); amido, alimentos infantis, óleo e farinha comercial de arroz, entre outros. Apenas uma pequena quantidade de arroz é consumida como ingrediente em produtos processados, sendo seu maior consumo na forma de grão. Os mais consumidos são, em ordem decrescente, o polido, o parboilizado e o integral. Entretanto, o consumo de arroz integral vem crescendo devido ao estímulo dado através de recomendações relacionadas a seu maior benefício para uma dieta mais saudável (WALTER; MARCHEZAN e AVILA, 2008; VIEIRA e colaboradores, 2008; OKADA e colaboradores, 2007).

Os minerais são amplamente difundidos na natureza em diferentes formas. A inalação e ingestão são as principais maneiras de entrarem no organismo humano. Os elementos químicos estão classificados de acordo com sua importância na saúde humana em: indispensáveis (necessários em grande quantidade como Ca, K, Na e Mg); essenciais (necessários às funções fisiológicas, mas em concentrações elevadas podem se tornar tóxicos como o Fe, Co, Mn e Zn); e não essenciais ou tóxicos (não tem função conhecida como Cd, Hg e Pb) (LEAL e colaboradores, 2009). Devido a essas diferenças é importante o desenvolvimento de métodos simples e eficientes para determinação de elementos traço.

A determinação dos teores de nutrientes, em vários níveis de concentração, em alimentos é de grande relevância devido à capacidade nutricional dos mesmos, e

que nestas podem conter espécies essenciais ou contaminantes a saúde humana. Para a realização de uma análise química, é necessário um tratamento adequado da amostra. Normalmente, é realizado um procedimento de digestão, no qual se busca simplicidade, rapidez, utilizar pequenos volumes de ácidos, permitir a dissolução de grande número de amostras e, finalmente, produzir resultados precisos e exatos (ARRUDA E SANTELL, 1997).

## 1.1. PROCESSAMENTO DO ARROZ

O arroz é um dos cereais mais produzidos e consumidos, sendo um principal alimento para mais da metade da população mundial, pois está presente na dieta de vários seres humanos (OKADA e colaboradores, 2007). Seu elevado consumo pode ser atribuído por se tratar de um alimento de baixo custo, de rápido e fácil preparo e bastante versátil, podendo ser utilizado na preparação ou acompanhamento de diversos tipos de pratos.

O arroz é uma planta pertencente à Família *Oryzae*. A espécie *Oryza sativa L.* é uma cultura extremamente versátil que se adapta a diferentes condições de solo, seja em terrenos secos ou alagados, com água corrente ou parada, em argila, pântanos ou em areia e em diferentes condições de clima, desde zonas tropicais a zonas temperadas. Entretanto, o maior sucesso na produção do grão desse cereal ocorre em regiões com água em abundância, seja de chuva, de inundações ou de irrigação (TEIXEIRA, 2010). A estrutura de um grão de arroz está representada nas Figuras 01 e 02.

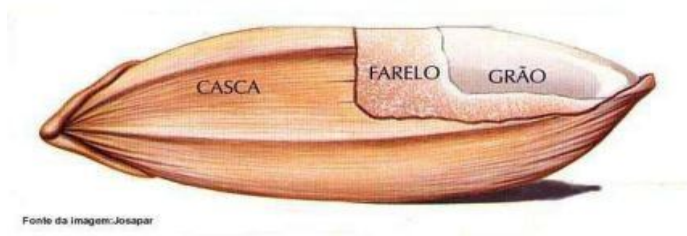


Figura 01. Representação de um grão de arroz (NITZKE E BIEDRYCKI, 2012).

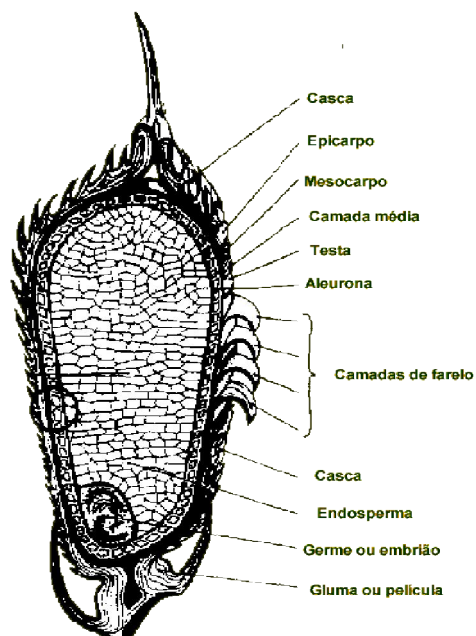


Figura 02. Corte longitudinal do grão de arroz (NITZKE E BIEDRYCKI, 2012).

Os grãos de arroz são submetidos a diferentes processos (polimento, parboilização ou apenas a retirada da casca) para que esteja na forma adequada para ser adquirido pelo consumidor (STORCK; SILVA e COMARELLA,, 2005; TEIXEIRA, 2010; NITZKE E BIEDRYCKI, 2012).

O processamento se inicia com o descascamento, neste separa-se a casca do resto do grão, obtendo-se o arroz integral. Recomenda-se que este processo não seja realizado logo após a colheita e secagem do grão, pois várias pesquisas (NITZKE E BIEDRYCKI, 2012) têm demonstrado que o comportamento do arroz, tanto no processamento quanto no cozimento, melhora com a armazenagem. Algumas das vantagens são: maior absorção de água, menor tendência a aglomerar-se após o cozimento e uma menor perda de sólidos durante o cozimento.

Após essa etapa, os grãos podem ser submetidos ao polimento, para obtenção do arroz polido ou branco, neste processo retira-se uma parte da camada escura chamada de farelo. Esta etapa tem o objetivo de melhorar a aparência e o gosto do arroz. No entanto, como as camadas externas são as que apresentam maiores quantidades de proteínas, lipídios, fibra, minerais e vitaminas e o centro do grão é rico em amido, o polimento apresenta a desvantagem da redução do teor de

nutrientes, exceto de amido. Quanto maior a intensidade do polimento, maior número de camadas são perdidas, resultando em uma maior perda de nutrientes.

A parboilização, termo derivado da expressão em inglês: parboiled = partial (parcial) + boiled (cozido), também denominado de pré-cozimento (TEIXEIRA, 2010), foi criado para aumentar a renda do beneficiamento, pois reduz a adesividade do arroz no cozimento, esteriliza o grão, aumenta a vida na prateleira e aprisiona minerais e vitaminas, como representado na Figura 03. Esta etapa, que ocorre antes do descascamento, envolve o encharcamento do grão (o suficiente para gelatinizar o amido), em seguida um resfriamento e uma lenta secagem, o que reduz a ocorrência de grãos quebrados durante o polimento.



Figura 03. Representação do aprisionamento dos nutrientes no arroz parboilizado polido (TEIXEIRA, 2010).

Esses processos podem causar variações nas concentrações de nutrientes afetando o conteúdo deste alimento. Por isso o arroz integral contém maior teor de alguns nutrientes quando comparado ao polido e ao parboilizado.



## 1.2. DIGESTÃO COM ÁCIDOS DILUÍDOS E RADIAÇÃO MICRO-ONDAS

As análises por técnicas espectrométricas são amplamente utilizadas para a quantificação do teor de diversos elementos, e, para tal geralmente é requerido a inserção da amostra na forma de uma solução líquida. Para atender a esta exigência, amostras sólidas são submetidas à decomposição total ou parcial a partir do ataque ácido associado a diferentes fontes de energia (NOBREGA e colaboradores, 2009; KORN e colaboradores, 2009). Um método ideal de digestão de amostras deve ser simples, rápido, gerar resultados precisos e exatos, consumir pouco reagente e ser aplicável a muitas amostras (ARRUDA E SANTELLI, 1997).

Dois procedimentos são geralmente empregados para a preparação de amostras: a decomposição por via seca e por via úmida. De modo geral, os procedimentos de degradação da matéria orgânica consomem cerca de 70 a 95% de todo o processo analítico e estão sujeitos a perdas do analito e/ou contaminações (ARRUDA E SANTELLI, 1997, KORN e colaboradores, 2009).

Normalmente, a decomposição de material orgânico por via úmida implica no aquecimento da amostra na presença de um ácido mineral oxidante, sendo o  $\text{HNO}_3$  o mais utilizado, ou de misturas de ácidos oxidantes ou mistura de um ácido oxidante com um oxidante auxiliar (peróxido de hidrogênio).

O tratamento de amostras utilizando o aquecimento por radiação micro-ondas é um processo mais rápido, eficiente e seguro em comparação ao aquecimento condutivo. Isso se deve ao fato da radiação micro-ondas (onda eletromagnética) ser absorvida diretamente por todas as moléculas da solução, provocando movimentos rotacionais, alcançando assim uma temperatura elevada muito rapidamente, sem o aquecimento do frasco. Por sua vez, no aquecimento condutivo, como o próprio nome sugere, a transferência de calor ocorre por condução, levando assim um tempo maior para alcançar a temperatura desejada (SKOOG e colaboradores, 2006; KRUG e colaboradores, 2008). A Figura 04 apresenta o esquema simplificado para as diferentes formas de aquecimento.

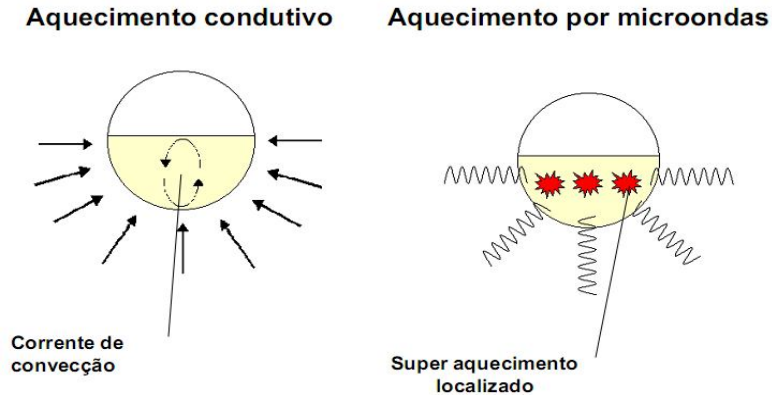


Figura 04. Esquema simplificado das formas de aquecimento condutivo e por micro-ondas (KRUG e colaboradores, 2008).

A radiação micro-ondas é composta de ondas eletromagnéticas (propagadoras de energia), que cobrem uma faixa de frequências no espectro que varia entre 300 e 3.000 MHz. Os fornos de micro-ondas de uso doméstico ou para laboratórios, empregam micro-ondas com frequência de 2.450 MHz, e a potência gerada, normalmente, é superior a 600 W. Em alguns equipamentos pode alcançar 1.400 W, o que significa um fornecimento de até  $20.076 \text{ cal min}^{-1}$  ( $1 \text{ kW} = 239 \text{ cal s}^{-1}$ ) (SANTOS, 2008; KRUG e colaboradores, 2008). No aquecimento por micro-ondas ocorre a interação da radiação com os íons dissolvidos e com os solventes, provocando os fenômenos de migração iônica e rotação de dipolos.

A migração iônica consiste no movimento eletroforético dos íons dissolvidos em solução. O campo elétrico oscilante produzido pelas micro-ondas promove o deslocamento dos íons dissolvidos em direção aos polos com cargas opostas. Este deslocamento produz um fluxo de corrente cujo movimento sofre resistência causada pelas outras espécies com fluxo oposto ao deslocamento. Como consequência ao deslocamento ocorre a produção de calor elevando a temperatura da solução. Já o fenômeno da rotação de dipolos corresponde ao efeito do campo elétrico oscilante das micro-ondas sobre as moléculas que possuem momento dipolar induzido ou permanente. Como as ondas eletromagnéticas geram campos elétricos positivos e negativos alternados, isso causa desordem e agitação das moléculas dipolares, logo a energia absorvida para o realinhamento das moléculas é transformada em calor (KRUG e colaboradores, 2008).

A etapa de preparo da amostra deve ser tornar mais fácil, mais barata e mais rápida de acordo com as tendências da química verde (NOBREGA e colaboradores, 2009). Segundo Prado (2003) a química verde visa “A criação, o desenvolvimento e a aplicação de produtos e processos químicos para reduzir ou eliminar o uso e a geração de substâncias tóxicas”, ou seja, o desenvolvimento de uma química sustentável, que busca a diminuição os danos causados ao meio ambiente. Os produtos ou processos da química verde podem ser divididos em três grandes categorias: 1) o uso de fontes renováveis ou recicladas de matéria-prima; 2) aumento da eficiência de energia, ou a utilização de menos energia para produzir a mesma ou maior quantidade de produto; 3) evitar o uso de substâncias persistentes, bioacumulativas e tóxicas (LENARDÃO, 2003).

Essas categorias resultaram em 12 princípios da química verde, que são: 1) prevenção; 2) economia de átomos; 3) síntese de produtos menos perigosos e com menor toxicidade; 4) desenvolvimento de produtos seguros; 5) diminuição de solventes e auxiliares; 6) busca pela eficiência energética; 7) uso de fontes renováveis de matéria-prima; 8) evitar a formação de derivados; 9) catálise; 10) desenvolvimento de compostos para degradação; 11) análise em tempo real para a prevenção da poluição; 12) química intrinsecamente segura para a prevenção de acidentes (LENARDÃO, 2003; PRADO, 2003).

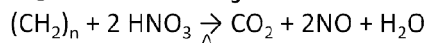
A digestão ácida assistida por radiação micro-ondas vem sendo bastante utilizada no preparo de amostras, principalmente, por permitir elevadas temperatura e pressão em sistema fechado, além de ter como vantagens a utilização de volumes pequenos de reagentes, minimização de perda de elementos voláteis, redução dos valores dos brancos analíticos e redução do tempo de decomposição (NOBREGA e colaboradores, 2002), que são problemas encontrados nos procedimentos convencionais (decomposição por via seca ou por via úmida com aquecimento condutivo) (ARRUDA E SANTELLI, 1997).

Com isso, é possível reduzir a concentração ácida mantendo a eficiência da digestão, gerando menor volume de resíduo e diminuindo o fator de diluição antes da análise (NOBREGA e colaboradores, 2010). Geralmente, são utilizados ácidos concentrados, contudo, alguns estudos demonstram que, em determinados casos é possível obter uma decomposição satisfatória com o uso de ácido nítrico diluído (NOBREGA e colaboradores, 2010; COSTA e colaboradores, 2006). Segundo Krug e

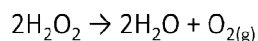
colaboradores (2008), é possível realizar uma decomposição satisfatória utilizando entre 0,4 e 2,0 mL de ácido por 200 mg de amostra, dependendo do teor de carbono.

A redução no volume do ácido no preparo da amostra torna-se atrativa por diversos fatores dentre eles: minimização de resíduos gerados e redução de custos, fatores que vão de encontro aos princípios da química verde; e digeridos com acidez residual menor, mais apropriado para a análise espectrométrica. Outro fator importante é o favorecimento da reação de decomposição a partir da regeneração do ácido nítrico dentro do frasco de reação, conforme representado na Figura 05, provocando o aumento da pressão do no frasco de reação e, por consequente, o aumento da temperatura de ebulição da mistura e a elevação do seu potencial oxidante (KRUG e colaboradores, 2008; KORN e colaboradores, 2009; BIZZI e colaboradores, 2011).

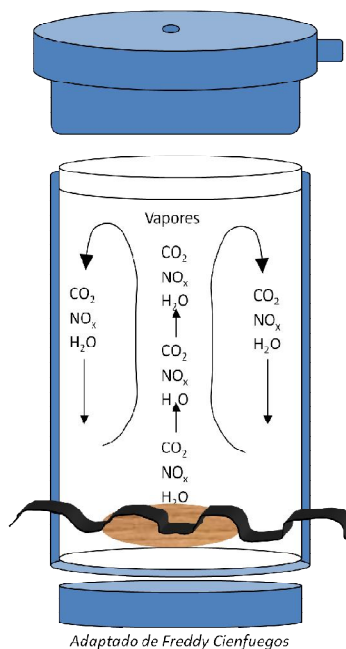
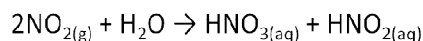
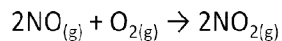
**Digestão com HNO<sub>3</sub> diluído**



**Oxidante auxiliar**



**Regeneração do reagente**



*Adaptado de Freddy Cienfuegos*

Figura 05. Representação das reações envolvidas na digestão com ácidos diluídos (CASTRO, 2007).

### 1.3. PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

Na otimização de um procedimento analítico é necessário ajustar muitas variáveis, como tempo, temperatura, concentração e/ou volume de reagentes, a fim de estabelecer as melhores condições para a análise ou decomposição da amostra. Caso seja realizada uma otimização univariada convencional, este processo pode consumir muito tempo, trabalho e reagentes, além de negligenciar as interações entre os diferentes fatores que podem afetar os resultados (BEZZERA, 2003; LOPES e colaboradores, 2009).

No planejamento de experimentos baseado em princípios estatísticos, os pesquisadores podem extrair o máximo de informação útil, fazendo um reduzido número de experimentos, atingindo seu objetivo mais rapidamente e com menor custo (BARROS NETO; SCARMINIO e BRUNS, 2001). Nos últimos anos, procedimentos envolvendo otimização por técnicas multivariadas vem sendo muito utilizados no desenvolvimento de métodos analíticos, o que permite a otimização de diversas variáveis simultaneamente (BEZZERA, 2003; LOPES e colaboradores, 2009).

Segundo Cunico e colaboradores (2008), planejar experimentos é definir uma sequência de coletas de dados experimentais para atingir certos objetivos. Dentre os métodos de planejamento experimentais disponíveis na literatura, o planejamento fatorial é o mais indicado quando se deseja estudar os efeitos de duas ou mais variáveis de influência, e todas as combinações possíveis dos níveis de cada variável investigada.

O tipo de planejamento experimental a ser usado dependerá do objetivo que se deseja atingir com a experimentação. Vale ressaltar que, inicialmente, deve-se realizar uma triagem, e escolher apenas as variáveis significativas, para não perder tempo otimizando uma variável que não influenciará efetivamente no procedimento, e em seguida, são realizados experimentos para todas as combinações possíveis dos níveis selecionados.

Em um planejamento fatorial são investigadas as influências de todas as variáveis experimentais de interesse e os efeitos de interação nas respostas. Normalmente, no planejamento fatorial, os níveis das variáveis quantitativas, como

concentração, pH e temperatura, são costumeiramente codificados com os sinais (+) e (-), a atribuição aos níveis superiores ou inferiores, respectivamente, porém o que importa é a relação inicial entre o sinal dado e o efeito obtido. Estes sinais também permitem esquematizar estas variáveis na forma de matrizes de planejamento, assim como determinar, por meio de cálculos, a influência das mesmas e das suas interações no sistema os níveis. Para variáveis qualitativas, como tipos de ácidos e catalisadores, não existem valores altos ou baixos, fica a critério do experimentalista nomear os seus níveis (ALMEIDA, 2007; CUNICO e colaboradores, 2008).

Com a utilização do ponto central (nível zero) no experimento, no qual o valor médio dos níveis de todas as variáveis é empregado, é possível avaliar a significância dos efeitos ou coeficientes, tanto em planejamentos de triagem como em metodologias de superfície de resposta. Além desta vantagem, recomenda-se este tipo de experimento, pois, o risco de perder a relação não linear entre os intervalos é minimizado e é possível estimar um modelo razoável e verificar se há falta de ajuste (ALMEIDA, 2007).

O planejamento Box-Behnken é descrito como uma classe de projetos de experimentos fatoriais incompletos de 3 níveis para a estimativa de coeficientes em um polinômio de segundo grau. Estes projetos satisfazem aproximadamente o critério de rotatividade (SOUZA, 2002; FERREIRA e colaboradores, 2007). O desenho experimental, composto por 3 fatores, 3 níveis e 15 experimentos, é constituído por um conjunto de pontos que se encontram no ponto médio de cada aresta e o ponto central replicados de um cubo multidimensional.

Comparando o planejamento Box-Behnken com outros modelos (matriz Doehlert, Pontos Centrais Compostos e Planejamento fatorial completo) o primeiro demonstrou ser ligeiramente mais eficiente e rápido, pois tem poucos ensaios, principalmente, quando comparado aos Pontos Centrais Compostos (SOUZA, 2002; FERREIRA e colaboradores, 2007). Outra vantagem do Box-Behnken é que ele não contém combinações nas quais todos os fatores estão simultaneamente nos seus níveis mais altos ou mais baixos. Logo, esses planejamentos são úteis para evitar experimentos realizados em condições extremas, evitando a ocorrência de resultados insatisfatórios (FERREIRA e colaboradores, 2007).

A Metodologia de Superfície de Resposta (RSM) é uma técnica de otimização baseada em planejamentos fatoriais que tem duas etapas distintas (modelagem e deslocamento) que devem ser repetidas tantas vezes forem necessárias, com o objetivo de atingir uma região ótima (máximo ou mínimo) da superfície estudada (BARROS NETO; SCARMINIO e BRUNS, 2001).

Para aplicar a RSM, são realizados experimentos fatoriais, cujos resultados são ajustados a modelos matemáticos. A modelagem normalmente é feita ajustando-se os modelos mais simples, como o linear e o quadrático. As superfícies representam uma boa maneira de ilustrar graficamente a relação entre diferentes variáveis experimentais e as respostas, oferecendo valiosas informações sob o comportamento das variáveis na região estudada (BARROS NETO; SCARMINIO e BRUNS, 2001; BEZZERA, 2003; ALMEIDA, 2007).

#### **1.4. DETERMINAÇÃO DE MACRO, MICRO E ELEMENTOS TRAÇO EM ARROZ**

O arroz representa um dos alimentos mais importantes no mundo, pois é o produto de base alimentar para mais de mil milhões de seres humanos. O consumo nacional deste alimento é elevado e é necessário propor estratégias para avaliar a composição nutricional de forma a contribuir para a Tabela de composição dos alimentos. Além disso, com o uso constante de fertilizantes e agrotóxicos é necessário determinar também a concentração de elementos não essenciais de forma a garantir a qualidade e preservar a saúde dos consumidores.

Heinemann e colaboradores (2005) apresentou a composição química do arroz branco, parboilizado e integral, comercializados no Brasil, e a contribuição dos minerais na ingestão diária recomendada em cada um dos tipos de arroz. O tratamento da amostra foi realizado de acordo com o método padrão da AOAC, que consiste na incineração da amostra em forno mufla. Apesar deste ser um procedimento de referência e ter como vantagens a simplicidade e o baixo custo, apresenta desvantagens quando comparado a outros procedimentos mais atuais como: perdas de voláteis; alto risco de contaminação; baixa frequência de análise e algumas cinzas são de difícil dissolução.

Teixeira (2010) investigou um método alternativo no qual a determinação P, Mn e Zn foram realizadas na amostra sólida por espectrometria de fluorescência de raios X de energia dispersiva, dispensando assim a etapa de decomposição da amostra. Os resultados obtidos utilizando o procedimento proposto foram comparados com encontrados quando as amostras foram submetidas a procedimento de digestão assistida por radiação micro-ondas, que utiliza 250 mg de amostra, 7,0 mL de HNO<sub>3</sub> concentrado e 1,0 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> concentrado. Avaliou-se a calibração com pastilhas de arroz tornadas padrões mediante caracterização por digestão em forno de micro-ondas e quantificação dos analitos por ICP OES e ICP-MS. Para avaliar a exatidão do procedimento proposto foram analisadas cinco pastilhas preparadas com a amostra certificada de farinha de arroz (1568a NIST) e não foi verificada diferença significativa entre os valores certificados e obtidos ao nível de confiança de 95% (TEIXEIRA e colaboradores, 2012).

Mihucz e colaboradores (2010) investigou a remoção de elementos traços de amostras de arroz para determinação de As, Cd, Cu, Mn, Ni, Ti e Zn por Inductively Coupled Plasma Sector Field Mass Spectrometry (ICP-SF-MS). Para a digestão em forno de micro-ondas com cavidade utilizou-se H<sub>2</sub>O, HNO<sub>3</sub> e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> na proporção de 1:5:1. Foram comparados os resultados obtidos nas amostras que passaram por etapas de pré-tratamento como lavagem e cozimento, com a finalidade de avaliar a possível perda de elementos durante a prática culinária.

Em trabalho recente, Oliveira e colaboradores (2012) desenvolveram um método de extração de metais utilizando uma solução de EDTA amoniacal e ultrassom, para determinação de Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, P e Zn por ICP OES. Para validar o procedimento proposto, esse foi comparado com o procedimento de decomposição assistido por radiação micro-ondas. A digestão ácida foi realizada com 0,25 g da amostra, em seguida, adição de 4 mL de HNO<sub>3</sub> 65%, 1 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30% e 3 mL de água ultrapura. O procedimento de extração proposto foi adequado para determinação dos analitos em amostras de 3 tipos de arroz (integral, paraboilizado e agulhinha), com exceção do Fe.

Algumas aplicações dos procedimentos e técnicas relacionadas ao preparo de amostras e a determinação de macro, micro e elementos traço em amostras de arroz estão apresentados na Tabela 01.



Tabela 01. Procedimentos e técnicas empregados para determinação elementar em amostras de arroz.

<b>Analito</b>	<b>Preparo da amostra</b>	<b>Técnica de determinação</b>	<b>Referência</b>
As, Cd, Cu Fe, Pb e Zn	Digestão com HNO <sub>3</sub> em forno micro-ondas	GF AAS	NRIAGU E LIN, 1995
As, Cu, Mn, Ni, Se e Zn	Digestão com HNO <sub>3</sub> em forno micro-ondas	ICP-MS	ROYCHOWDHURY; TOKUNAGA E MASANORI, 2003
Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P, Se e Zn	Calcinação	ICP - OES	HEINEMANN e colaboradores, 2005
Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P, Zn	Digestão com HCl em placa de aquecimento	ICP - OES	OKADA e colaboradores, 2007
Al, Ca, Cd, Co, Cu, Fe, I, K, Mg, Mn, Na, Ni, P, S, Si, Se e Zn	Não especificado	Não especificado	WALTER; MARCHEZAN e AVILA, 2008
As, Cd e Pb	Calcinação e digestão com HNO <sub>3</sub> em forno micro-ondas	GF AAS e ICP-MS	JORHEM e colaboradores, 2008
Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn	Calcinação	ICP-MS	JIANG e colaboradores, 2008
Al, As, Br, Ca, Cd, Cl, Fe, Hg, K, Mg, Mn e Zn	Lavagem, secagem da amostra em estufa e moagem	GF AAS e INAA	PARENGAM e colaboradores, 2010
P, Mn e Zn	Moagem e digestão com HNO <sub>3</sub> em forno micro-ondas	FAAS, ICP OES, ICP-MS e EDXRF	TEIXEIRA, 2010
As, Cd, Cu, Mn, Ni, Ti e Zn	Liofilização ou fervura ou moagem e digestão com HNO <sub>3</sub> em forno micro-ondas	ICP-SF-MS	MIHUCZ e colaboradores, 2010
As	Digestão com HNO <sub>3</sub> em forno micro-ondas	ICP-MS	BATISTA e colaboradores, 2011
Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, P e Zn	Extração com EDTA e digestão com HNO <sub>3</sub> em forno de micro-ondas	ICP OES	OLIVEIRA e colaboradores, 2012

## **1.5. OBJETIVOS**

### **1.5.1. OBJETIVO GERAL**

Propor um procedimento analítico de digestão assistida por radiação micro-ondas com ácido nítrico diluído para posterior determinação de macro, micro e elementos traço em amostras de arroz de forma a traçar um perfil para os diferentes tipos de processamento.

### **1.5.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Realizar um planejamento fatorial de experimentos no processo de otimização multivariada do procedimento de digestão.
- Estabelecer as melhores condições para digestão assistida por radiação micro-ondas com ácido nítrico diluído.
- Validar o procedimento analítico proposto.
- Aplicar o procedimento proposto em diversas amostras de arroz comercializadas em Salvador, Bahia.
- Contribuir para tabela de composição mineral do arroz, a nível regional.

## 2. EXPERIMENTAL

### 2.1. REAGENTES E AMOSTRAS

Para os procedimentos analíticos, todas as vidrarias, frascos plásticos e materiais em geral foram lavados com detergente neutro e, em seguida, foram submersos em solução de HNO<sub>3</sub> 10%, por no mínimo 12 h para descontaminação. Posteriormente, os materiais foram lavados com água deionizada por três vezes.

As soluções utilizadas foram preparadas a partir de reagentes analíticos com alto grau de pureza e as diluições feitas com água ultrapura com resistividade específica de 18,2 MΩ cm, de um sistema de purificação Milli-Q (Millipore, Bedford, MA, USA).

Nas digestões em forno de micro-ondas com cavidade foi utilizado ácido nítrico destilado 16 mol L<sup>-1</sup> (Merck, Alemanha) e peróxido de hidrogênio 30 % (Merck, Alemanha).

Para a avaliação da concentração dos analitos foram preparadas soluções multielementares, sendo: 50 mg L<sup>-1</sup> para os elementos Al, Cu, Fe, Mn e Zn, a partir da diluição das soluções padrão de 1.000 ou 4.000 mg L<sup>-1</sup> de cada elemento (Specsol, Brasil); de 500 mg L<sup>-1</sup> para os macro elementos K, Ca, Mg e P, partir da diluição das soluções padrão de 4.000 ou 10.000 mg L<sup>-1</sup> de cada elemento (Specsol, Brasil) e 500 μg L<sup>-1</sup> para os elementos traço As, Cd, Mo e Se, partir da diluição das soluções padrão de 1.000 mg L<sup>-1</sup> de cada elemento (Specsol, Brasil). Para a determinação do carbono residual foi preparada uma solução estoque 5000 mg L<sup>-1</sup> de carbono a partir de ácido cítrico monohidratado (Merck, Alemanha). Estas soluções foram utilizadas para o preparo das curvas analíticas de calibração.

As amostras de arroz polido, parboilizado e integral foram adquiridas em supermercados de Salvador, Bahia, transportadas até o laboratório, onde foram trituradas por 5 minutos e peneiradas. Foram adquiridas 23 amostras de 13 fornecedores diferentes, sendo 8 amostras de arroz polido, 5 amostras de arroz integral e 10 amostras de arroz parboilizado. A identificação destas amostras está apresentada na Tabela 02. Para validação do procedimento proposto, foi usado o

material de referência certificado (CRM) de farinha de arroz 1568a NIST (National Institute of Standards and Technology).

Tabela 02. Identificação das amostras de arroz.

Arroz Branco		Arroz Integral		Arroz Parboilizado	
Código	Fornecedor	Código	Fornecedor	Código	Fornecedor
AB1	Fornecedor 1	AI1	Fornecedor 1	AP1	Fornecedor 1
AB2	Fornecedor 7	AI2	Fornecedor 2	AP2	Fornecedor 10
AB3	Fornecedor 8	AI3	Fornecedor 9	AP3	Fornecedor 11
AB4	Fornecedor 2	AI4	Fornecedor 3	AP4	Fornecedor 12
AB5	Fornecedor 3	AI5	Fornecedor 4	AP5	Fornecedor 2
AB6	Fornecedor 4			AP6	Fornecedor 6
AB7	Fornecedor 5			AP7	Fornecedor 4
AB8	Fornecedor 6			AP8	Fornecedor 5
				AP9	Fornecedor 3
				AP10	Fornecedor 13

## 2.2. EQUIPAMENTOS

A trituração das amostras foi realizada em moinho de bolas SPEX Sampleprep 800M MIXER/MILL, e peneiradas em malha de nylon 500 µm.

As digestões das amostras foram realizadas em forno de micro-ondas com cavidade Milestone, Start D (Bergamo, Itália), em frascos de perfluoralcoxi (PFA).

As análises multielementares foram realizadas em espectrômetro de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES), simultâneo, com visão axial VISTA PRO (Varian, Mulgrave, Austrália), com câmara de nebulização *Sturman-Master* e nebulizador *V-Groove* e em espectrômetro de massa com plasma indutivamente acoplado, modelo XSeriesII (Thermo Electron Corporation, Germany).

## 2.3. PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

### 2.3.1. PROCEDIMENTO DE OTIMIZAÇÃO

Para estabelecer o procedimento experimental de digestão de amostras de arroz por forno de micro-ondas com cavidade, foi realizado uma otimização multivariada utilizando planejamento fatorial a fim de comparar com o procedimento proposto por Teixeira (2010). Neste pesou-se 250 mg das amostras em pó, em seguida, adicionou-se 7 mL de HNO<sub>3</sub> concentrado e 1 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30%. As soluções digeridas foram diluídas para 20,0 mL com água ultrapura. O programa de aquecimento utilizado esta descrito na Tabela 03.

Tabela 03. Programa de aquecimento do procedimento de referência (TEIXEIRA, 2010).

<b>Etapa</b>	<b>Tempo (min)</b>	<b>T (°C)</b>	<b>Potência máxima (W)</b>	<b>Pressão (bar)</b>
1	4	90	500	35
2	2	90	500	35
3	8	180	750	35
4	15	180	750	35
Ventilação	10	-	0	-

De forma a possibilitar a utilização de uma única amostra em todos os experimentos, foi preparada e homogeneizada, conforme descrito o item 2.2, uma grande quantidade da amostra AB5. Foi utilizado do programa STATISTICA 6.0 para estabelecer o modelo experimental e a análise dos resultados.

Inicialmente foi feito um planejamento fatorial completo de dois níveis com três fatores (2<sup>3</sup>): temperatura (190, 200 e 210 °C) e tempo (15, 20 e 25 min), ambos no último patamar, e concentração de HNO<sub>3</sub> (2,0; 8,0; e 14,0 mL) e foram realizadas três réplicas no ponto central. O volume de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30%, massa e granulometria da amostra foram fixados em 1,0 mL, 250 mg e 500 µm, respectivamente. Na Tabela 04 está mostrado o programa de aquecimento utilizado neste experimento.

Tabela 04. Programa de aquecimento para o procedimento de digestão assistida por micro-ondas no planejamento fatorial.

<b>Etapa</b>	<b>Tempo (min)</b>	<b>T (°C)</b>	<b>Potência máxima (W)</b>	<b>Pressão (bar)</b>
1	4	90	750	35
2	2	90	750	35
3	10	*	1000	35
4	*	*	1000	35
Ventilação	10	-	0	-

Com a finalidade de obter os valores críticos da digestão foi realizado o planejamento tipo Box-Behnken, mantendo o mesmo programa de aquecimento, bem como os fatores de estudos e os níveis dos fatores tempo e temperatura do planejamento fatorial completo. Os níveis do fator concentração de ácido nítrico mudaram para 2,0; 4,5 e 7,0 mol L<sup>-1</sup>.

### **2.3.2. VALIDAÇÃO DO PROCEDIMENTO PROPOSTO**

Após a obtenção dos valores críticos para os fatores estudados na otimização multivariada, o procedimento proposto foi validado pela obtenção de alguns parâmetros de desempenho como: limite de detecção e de quantificação, precisão, exatidão, recuperação e repetitividade).

### **2.3.3. DIGESTÃO DAS AMOSTRAS**

As amostras foram digeridas em forno micro-ondas com cavidade conforme programa de aquecimento apresentado na Tabela 05. Para tal procedimento foi pesado, no frasco de PFA, aproximadamente, 250 mg da amostra triturada, em seguida, adicionou-se 2 mL de HNO<sub>3</sub> destilado, 5 mL de água ultrapura e 1 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30%. Todas as amostras foram digeridas em triplicata. Os brancos analíticos constituíram-se da mesma mistura, ácido nítrico, água e peróxido de hidrogênio, usada para decompor as amostras, submetida ao mesmo programa de

aquecimento, sem a presença da amostra. Ao final das digestões, as soluções resultantes foram diluídas com água ultrapura até um volume final de 15 mL.

Tabela 05. Programa de aquecimento do procedimento proposto.

<b>Etapa</b>	<b>Tempo (min)</b>	<b>T (°C)</b>	<b>Potência máxima (W)</b>	<b>Pressão (bar)</b>
1	4	90	750	35
2	2	90	750	35
3	10	200	1000	35
4	20	200	1000	35
Ventilação	10	-	0	-

## **2.4. DETERMINAÇÃO DOS ANALITOS**

### **2.4.1. ESPECTROMETRIA DE EMISSÃO ÓPTICA COM PLASMA INDUTIVAMENTE ACOPLADO (ICP OES)**

Para a determinação de micro e macro elementos nas amostras (Al, C, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, P e Zn) foi utilizado espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) simultâneo com visão axial. O sistema óptico do ICP OES foi calibrado com solução de referência multielementar e o alinhamento da tocha foi realizado com uma solução de Mn 5,0 mg L<sup>-1</sup>. As linhas espectrais foram selecionadas considerando as intensidades dos sinais de emissão, sensibilidade e ausência de interferências. Na Tabela 06 são listados os parâmetros instrumentais e os comprimentos de onda utilizados para determinação dos analitos.

Tabela 06. Parâmetros instrumentais e comprimento de onda nas determinações por ICP OES.

<b>Parâmetros instrumentais</b>			
Potência RF (kW)			1,3
Vazão do gás de nebulização (L min <sup>-1</sup> )			0,70
Vazão do gás auxiliar (L min <sup>-1</sup> )			1,5
Vazão do gás do plasma (L min <sup>-1</sup> )			15
Tempo de integração (s)			2,0
Tempo de estabilização (min)			15
Tempo de leitura (min)			1
Replicatas			3
Nebulizador			V-Groove
Câmara de Nebulização			Sturman-Master
<b>Elementos e respectivos comprimentos de onda</b>			
Elemento	Comprimentos de onda (nm)		
<b>Al</b>	<u>237,312</u>	396,152	167,019
<b>C</b>	<u>193,027</u>	175,122	247,856
<b>Ca</b>	393,366	<u>396,847</u>	422,673
<b>Cu</b>	213,598	324,754	<u>327,395</u>
<b>Fe</b>	234,350	<u>238,204</u>	259,940
<b>K</b>	404,721	<u>766,491</u>	769,897
<b>Mg</b>	279,553	280,270	<u>285,213</u>
<b>Mn</b>	<u>257,610</u>	259,372	260,568
<b>P</b>	177,434	178,222	<u>213,618</u>
<b>Zn</b>	202,548	<u>206,200</u>	213,857



## 2.4.2. ESPECTROMETRIA DE MASSAS COM PLASMA INDUTIVAMENTE ACOPLADO (ICP-MS)

Para a quantificação dos elementos traços nas amostras foi utilizado espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS). Os elementos selecionados para as determinações foram: As, Cd, Cr, Hg, Mo, Pb e Se. Não foi possível realizar as quantificações das espécies Cr, Hg e Pb, visto que suas concentrações encontravam-se abaixo do limite de quantificação tanto no CRM quanto nas amostras. Foi utilizado como padrão interno uma solução multielementar de Ge, Rh, Sc e Ti, pois estes elementos possuem características físico-químicas semelhantes às dos analitos (As, Cd, Mo e Se), permitindo assim corrigir erros associados às variações instrumentais.

Na Tabela 07 são listados os parâmetros instrumentais utilizados para determinação dos analitos.

Tabela 07. Parâmetros instrumentais e isótopos utilizados nas determinações por ICP-MS.

<b>Parâmetros Instrumentais</b>	
<b>Potência</b>	1350 W
<b>Fluxo de gás de nebulização</b>	0,87 L min <sup>-1</sup>
<b>Fluxo de gás do plasma</b>	13 L min <sup>-1</sup>
<b>Fluxo de gás auxiliar</b>	0,7 L min <sup>-1</sup>
<b>Modo análise</b>	Peak Jump
<b>Sweeps</b>	100
<b>Dwell time</b>	10 ms
<b>Isótopos</b>	<sup>75</sup> As, <sup>111</sup> Cd, <sup>95</sup> Mo e <sup>82</sup> Se.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. OTIMIZAÇÃO MULTIVARIADA

Nos últimos anos, o planejamento fatorial tem se tornado uma ferramenta bastante empregada nas otimizações multivariadas, pois possibilita ajustar vários fatores e o efeito de possíveis interações entre as variáveis de estudo, que afetam os procedimentos analíticos (COSTA e colaboradores, 2006; LOPES e colaboradores, 2009). Nesta etapa, anteriormente as digestões foi necessário a moagem, para diminuição do tamanho das partículas e, por consequente, conseguir uma melhor homogeneidade entre os resultados das amostras. Foi selecionada a amostra AB5, que foi preparada em grande quantidade, visando o uso de uma única amostra em todos os experimentos.

No planejamento fatorial completo foram obtidas recuperações médias dos analitos na faixa de 32 a 104 %, comparado com os resultados do método de referência, proposto por Teixeira (2010), como mostrado na Tabela 08. Para avaliar a eficiência simultânea na determinação multivariada, para cada experimento, foi utilizada a equação 1 (SANTOS e colaboradores, 2009) com a finalidade de fazer o escalamento dos dados, onde RM é a resposta múltipla,  $R_x$  é a recuperação de um analito em um dado experimento e  $R_{máx\ x}$  é a maior recuperação no conjunto de experiências para o analito x.

$$RM = \left( \frac{R_{Cu}}{R_{máx\ Cu}} \right) + \left( \frac{R_K}{R_{máx\ K}} \right) + \left( \frac{R_{Mn}}{R_{máx\ Mn}} \right) + \left( \frac{R_{Zn}}{R_{máx\ Zn}} \right) \quad \text{Equação 1}$$

A partir da análise do gráfico de Pareto para a resposta múltipla, Figura 06, observa-se que, no domínio experimental estudado considerando a resposta múltipla, os fatores temperatura e tempo e a interação temperatura X concentração foram significativos (efeito positivo), e os melhores resultados foram encontrados nos níveis máximos de tempo, intermediário de temperatura e máximo e mínima da concentração ácida.

Nestas condições, as percentagens de recuperação variaram entre 54 e 98 %, sendo assim necessário realizar novos estudos de forma a propiciar a utilização do procedimento de digestão de amostras de arroz com ácido nítrico diluído para um maior numero de analitos. Assim foi desenvolvido um novo planejamento fatorial utilizando desenho Box-Behnken com a finalidade de definir os valores críticos para esta matriz.

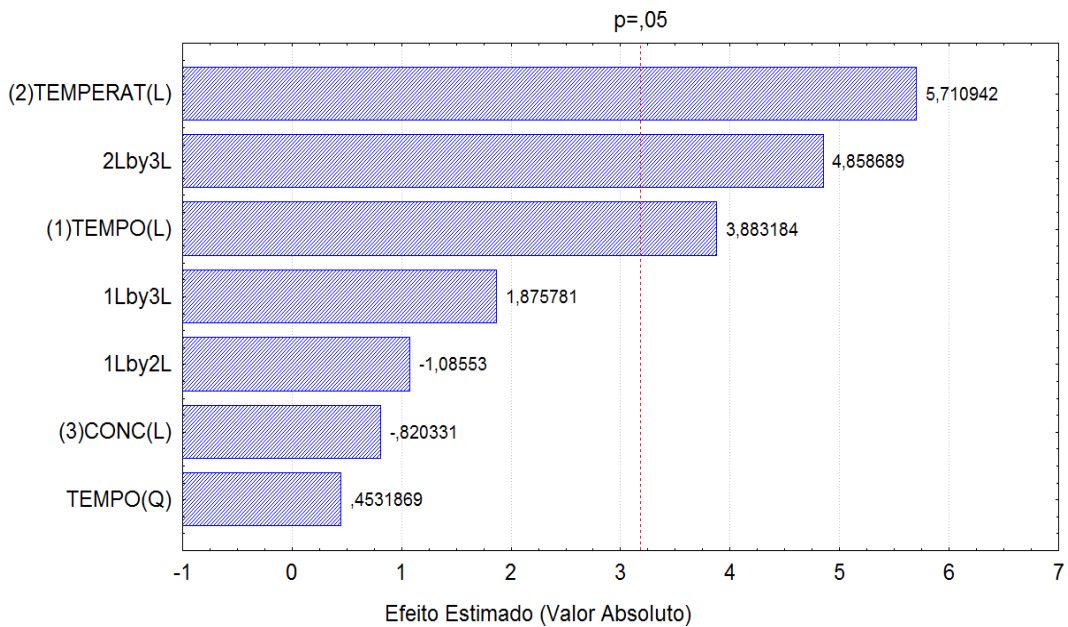


Figura 06. Gráfico de Pareto para resposta múltipla do planejamento fatorial completo.

Tabela 08. Matriz do planejamento fatorial completo e resposta dos analitos e da resposta multipla, em porcentagem de recuperaçao.

<b>Experimento</b>	<b>Conc. HNO<sub>3</sub></b>	<b>Temperatura</b>	<b>Tempo</b>	<b>Cu</b>	<b>Fe</b>	<b>Mn</b>	<b>P</b>	<b>Zn</b>	<b>RM</b>
<b>1</b>	+1	+1	+1	42,65	52,05	92,84	79,24	64,87	3,98
<b>2</b>	+1	+1	-1	52,24	46,39	94,44	79,62	65,03	4,10
<b>3</b>	+1	-1	+1	44,64	56,46	90,95	75,33	62,92	3,97
<b>4</b>	+1	-1	-1	59,17	60,64	93,14	77,82	61,55	4,28
<b>5</b>	-1	+1	+1	0,0	61,64	92,82	53,9	54,21	2,96
<b>6</b>	-1	+1	-1	31,89	74,92	97,06	70,46	58,16	3,90
<b>7</b>	-1	-1	+1	59,68	90,14	96,87	64,86	54,58	4,42
<b>8</b>	-1	-1	-1	60,63	70,14	97,92	98,18	63,86	4,70
<b>9 PC</b>	0	0	0	35,25	63,68	100,37	74,99	60,05	3,94
<b>10 PC</b>	0	0	0	43,26	61,48	104,05	85,29	60,65	4,20
<b>11 PC</b>	0	0	0	37,64	86,03	102,11	76,99	57,4	4,22
<b>12 PC</b>	0	0	0	32,55	68,39	103,48	77,69	57,13	3,96

No planejamento Box-Behnken os fatores de estudos e os níveis dos fatores tempo e temperatura não foram alterados, logo utilizou-se os do planejamento fatorial completo,. No entanto, os níveis do fator concentração de ácido nítrico mudaram para 2,0; 4,5 e 7,0 mol L<sup>-1</sup>, a partir do ácido nítrico destilado 16 mol L<sup>-1</sup>. Os experimentos foram realizados conforme a matriz apresentada na Tabela 09.

Tabela 09. Matriz do planejamento fatorial desenho Box-Behnken para otimização multivariada de digestão de amostras de arroz.

<b>Experimento</b>	<b>Conc. HNO<sub>3</sub></b>	<b>Temperatura</b>	<b>Tempo</b>
<b>1</b>	-1	-1	0
<b>2</b>	1	-1	0
<b>3</b>	-1	1	0
<b>4</b>	1	1	0
<b>5</b>	-1	0	-1
<b>6</b>	1	0	-1
<b>7</b>	-1	0	1
<b>8</b>	1	0	1
<b>9</b>	0	-1	-1
<b>10</b>	0	1	-1
<b>11</b>	0	-1	1
<b>12</b>	0	1	1
<b>13 PC</b>	0	0	0
<b>14 PC</b>	0	0	0
<b>15 PC</b>	0	0	0

A realização dos experimentos da matriz Box-Behnken geraram os resultados, em percentagem de recuperação (Tabela 10) utilizando também como referência os valores obtidos na digestão assistida por micro-ondas usando o procedimento validado por TEIXEIRA, 2010.

Tabela 10. Resultado do planejamento fatorial Box-Bhenken, em porcentagem de recuperação e resposta múltipla, para digestão de amostras de arroz por micro-ondas com cavidade.

Experimento	Analitos (%)				RM
	Cu	K	Mn	Zn	
1	20,8	113,4	121,9	96,8	2,965
2	92,1	98,8	90,3	80,9	3,095
3	17,9	136,5	123,8	100,2	3,155
4	96,6	110,5	93,7	76,4	3,204
5	33,5	135,9	117,7	95,1	3,193
6	101,3	113,0	96,8	75,4	3,281
7	7,1	137,7	119,8	97,2	3,003
8	100,4	110,4	94,2	78,4	3,262
9	108,7	113,8	97,9	79,0	3,399
10	95,8	114,2	103,3	83,6	3,373
11	100,6	114,8	105,0	78,0	3,378
12	100,2	116,5	105,8	80,4	3,418
13 PC	101,4	116,3	104,2	80,4	3,415
14 PC	102,6	114,5	105,2	83,5	3,451
15 PC	109,5	116,0	105,8	74,5	3,441

Avaliando apenas os resultados da resposta múltipla, pode-se perceber que as maiores recuperações dos analitos, entre 74 e 116 %, foram obtidas no ponto central e no experimento 12 e, conseqüentemente, os maiores valores de RM, logo o procedimento proposto poderá ser realizado em uma dessas condições. É importante observar que em ambas utiliza-se o volume de 2,0 mL de HNO<sub>3</sub> destilado para a digestão de 250 mg da amostra, condição que se encaixa dentro do considerado adequado por Krug e colaboradores (2008), no qual recomenda-se utilizar entre 0,4 e 2,0 mL de ácido por 200 mg de amostra.

Esta redução no volume do reagente no desenvolvimento de um procedimento analítico torna-se importante, visto que ocorre o favorecimento da reação de decomposição a partir da regeneração do ácido nítrico dentro do frasco de reação, provocando o aumento da pressão do no frasco de reação e, por conseqüente, o aumento da temperatura de ebulição da mistura e a elevação do seu potencial

oxidante (KRUG e colaboradores, 2008; BIZZI e colaboradores, 2011). Além de possibilitar a minimização de resíduos gerados, redução de custos, obtenção de menores valores de branco e digeridos com acidez residual menor, mais apropriados para a análise espectrométrica.

Para confirmar o observado e determinar os valores ótimos para a digestão da amostra após essa otimização foram avaliados os Gráficos de Pareto e as Superfícies de Resposta, Figura 07 e 08 respectivamente.

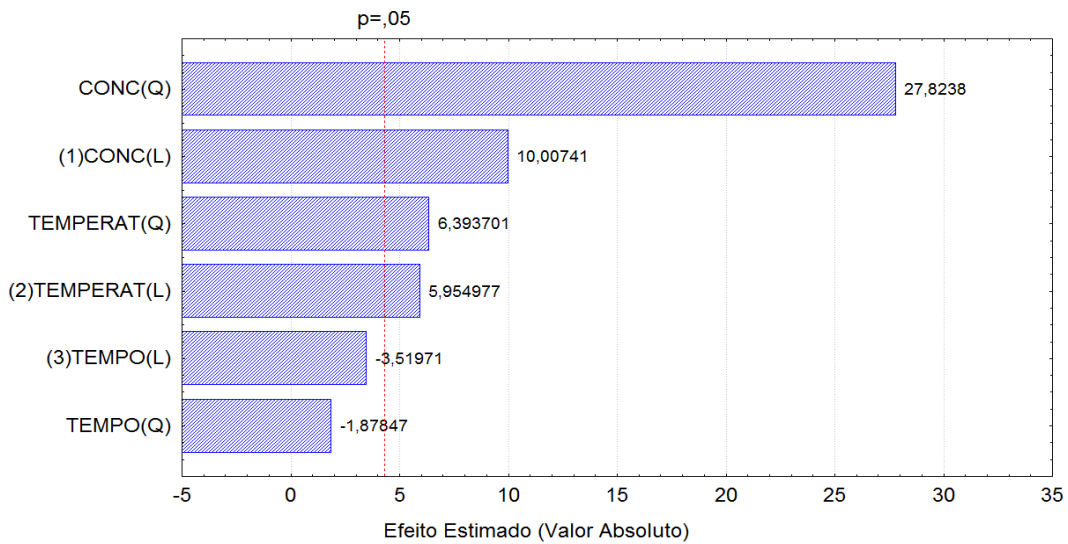


Figura 07. Gráfico de Pareto para resposta múltipla do planejamento Box-Behnken.

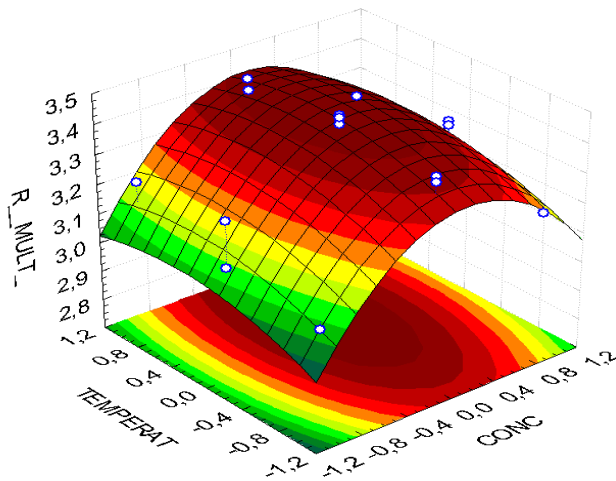


Figura 08. Superfície de Resposta para resposta múltipla do planejamento Box-Behnken.

No gráfico de Pareto, observa-se que os fatores concentração e temperatura foram significativos (efeito positivo) para resposta múltipla. No gráfico de superfície de resposta, confirma-se o observado na análise dos valores da resposta múltipla. No entanto, visando aumentar a vida útil do equipamento e diminuir o tempo de digestão, foram selecionadas como ótimas as condições do ponto central para a digestão das amostras de arroz. O procedimento proposto está descrito no item 2.3.3.

A eficiência do procedimento de decomposição da amostra pode ser avaliada com base na concentração de carbono residual nas soluções do digerido. Os resultados do teor de carbono residual estão apresentados na Figura 09.

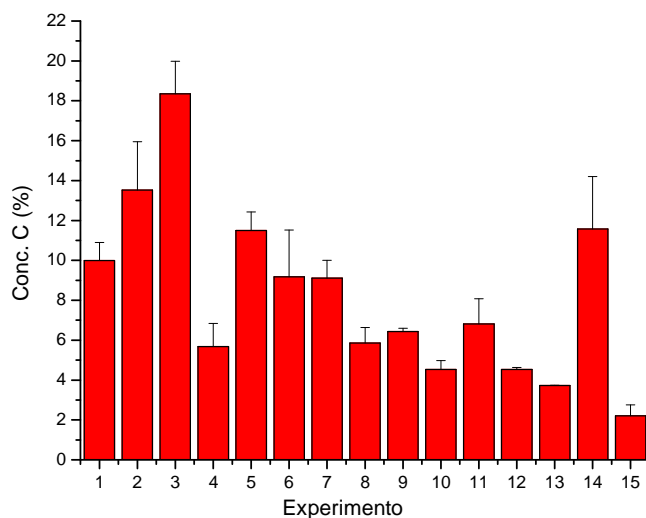


Figura 09. Teor de carbono residual nas soluções resultantes dos experimentos do planejamento Box-Behnken.

Os teores de carbono residual determinados por ICP OES para as soluções dos digeridos obtidos em todos os experimentos do planejamento Box-Behnken variaram entre 2,21 e 18,4 % (m/m)%, mostrando-se adequados em todas as condições investigadas. Segundo Nóbrega e colaboradores (2002), os teores de carbono residual de até 13% não causaram interferência na determinação de metais por ICP OES, em amostras de plantas. Logo, as concentrações obtidas sugerem uma boa eficiência de decomposição das amostras de arroz na maioria das



condições investigadas para a otimização do procedimento, com exceção dos experimentos 2 e 3, que apresentaram concentrações de carbono residual superiores a 13%.

### **3.2. VALIDAÇÃO DO PROCEDIMENTO PROPOSTO**

A validação de um método analítico é fundamental para a confiabilidade dos resultados obtidos (ANVISA, 2003). Normalmente, a validação de métodos ocorre após a obtenção de alguns parâmetros de desempenho como: linearidade e faixa de trabalho; precisão; exatidão; limite de detecção e de quantificação; repetitividade, precisão, exatidão, recuperação e repetitividade (RIBANI e colaboradores,2004).

#### **3.2.1. LIMITE DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO**

O limite de detecção (LOD) é a menor concentração do analito detectado, mas não necessariamente quantificado. Já o limite de quantificação (LOQ) é a menor concentração do analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis sob as condições experimentais estabelecidas (ANVISA 2003). Os valores de LOD e LOQ para o procedimento proposto estão apresentados na Tabela 14, e foram calculados considerando a média e desvio padrão de 10 brancos analíticos.

Tabela 11. Limites de detecção e quantificação para as determinações por ICP OES e ICP-MS

Analito	Concentração ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	
	LOD	LOQ
<b>Al</b>	0,8	2,4
<b>As</b>	0,05	0,17
<b>Ca</b>	1,5	5,0
<b>Cd</b>	0,002	0,006
<b>Cu</b>	0,1	0,3
<b>Fe</b>	0,1	0,3
<b>K</b>	0,7	2,3
<b>Mg</b>	2,3	7,7
<b>Mn</b>	0,1	0,3
<b>Mo</b>	0,02	0,06
<b>P</b>	0,7	2,2
<b>Se</b>	0,03	0,1
<b>Zn</b>	0,2	0,6

### 3.2.2. LINEARIDADE E FAIXA DINÂMICA LINEAR

A linearidade corresponde à capacidade do método em fornecer resultados diretamente proporcionais à concentração do analito em uma amostra (RIBANI e colaboradores, 2004). Para avaliar a linearidade, utiliza-se o coeficiente de correlação (R) e o coeficiente de determinação ( $R^2$ ). Segundo a ANVISA (2003), a análise da linearidade deve ser feita a partir de determinação de, no mínimo, 5 concentrações distintas, e o critério mínimo aceitável ser 0,99 para R e 0,98 para  $R^2$ .

A faixa dinâmica linear ou faixa de aplicação corresponde à faixa de concentração que pode ser determinada com uma curva de calibração linear, sendo composta em seu limite inferior, geralmente, pelo limite de quantificação, e em seu limite superior pela concentração na qual o sinal analítico desviada linearidade (SKOOG e colaboradores, 2006).

Os resultados das curvas analíticas estão apresentados resumidamente na Tabela 15. Os coeficientes de determinação são superiores a 0,99, o que implica na linearidade das curvas conforme condições recomendadas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO) (RIBANI e colaboradores, 2004).

Tabela 12. Curvas analíticas das amostras para o ICP OES e ICP-MS

<b>Analito</b>	<b>Equação da reta</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>Faixa dinâmica (mg L<sup>-1</sup>)</b>
<b>Al</b>	$y = 1219,7x + 32,974$	0,9999	0,2 - 10
<b>Ca</b>	$y = 2 \cdot 10^6 x + 251848$	0,9999	0,4 - 10
<b>Cu</b>	$y = 16740x + 465,01$	0,9999	0,3 - 10
<b>Fe</b>	$y = 26384x + 514,87$	0,9999	0,2 - 10
<b>K</b>	$y = 12373x + 1571,4$	1,0	0,2 - 100
<b>Mg</b>	$y = 25179x + 11635$	0,9995	0,6 - 100
<b>Mn</b>	$y = 106555x + 3277,8$	0,9999	0,3 - 10
<b>P</b>	$y = 435,31x - 1,9114$	0,9999	0,2 - 100
<b>Zn</b>	$y = 22268x + 317,73$	0,9998	0,04 - 10
<b>Analito</b>	<b>Equação da reta</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>Faixa dinâmica (µg L<sup>-1</sup>)</b>
<b>As</b>	$y = 1,0019x - 0,0314$	0,9999	0,2 - 25
<b>Cd</b>	$y = 0,9987x + 0,0202$	0,9998	0,01 - 25
<b>Mo</b>	$y = 1x - 0,0002$	0,9998	0,1 - 25
<b>Se</b>	$y = 1,0007x - 0,0114$	0,9997	0,2 - 25

### 3.2.3. EXATIDÃO

A exatidão representa o grau de concordância entre os resultados obtidos pelo método proposto e um valor de referência aceito como verdadeiro. A utilização de materiais de referência e a comparação de métodos são processos bastante utilizados para avaliar a exatidão de um método (RIBANI e colaboradores, 2004).

Para este estudo foi utilizado o material de referência certificado (CRM) de farinha de arroz 1568a NIST, que foi digerido em forno de micro-ondas, em

quintuplicata, e quantificado em ICP OES e ICP-MS. Os resultados encontrados e o percentual de recuperação estão na Tabela 11 e 12.

Nas determinações feitas por ICP-MS, o CRM foi analisado duas vezes, sendo a primeira com modo XT, modo normal de operação do equipamento e a segunda com o modo CCT, com a célula de colisão ligada, que visa eliminar as interferências poliatômicas. Como pode ser visto na Tabela 12, para os analitos As e Se as percentagens de recuperação foram diferentes, sendo o modo XT o melhor para a quantificação desses analitos e o modo escolhido para as demais quantificações. Os maiores valores obtidos para As e Se quando se utilizou o modo CCT podem-se creditados a interferências espectroscópicas que não foram resolvidas mesmo em modo CCT.

Tabela 13. Comparação dos valores certificados e obtidos para CRM NIST 1568a determinados por ICP OES.

<b>Elemento</b>	<b>Valor certificado (% mg g<sup>-1</sup>)</b>	<b>Valor obtido (% mg g<sup>-1</sup>)</b>	<b>Recuperação (%)</b>
Ca	0,0118 ± 0,0006	0,0101 ± 0,0002	85,4
K	0,1280 ± 0,0008	0,1079 ± 0,0028	84,3
Mg	0,056 ± 0,002	0,056 ± 0,001	100,8

<b>Elemento</b>	<b>Valor certificado (µg g<sup>-1</sup>)</b>	<b>Valor obtido (µg g<sup>-1</sup>)</b>	<b>Recuperação (%)</b>
Al	4,4 ± 1,0	4,5 ± 0,7	102,1
Cu	2,4 ± 0,3	1,9 ± 0,1	80,1
Fe	7,4 ± 0,9	7,1 ± 0,2	95,3
Mn	20,0 ± 1,6	17,6 ± 0,1	88,0
Zn	19,4 ± 0,5	16,6 ± 0,1	85,4

Tabela 14. Comparação dos valores certificados e obtidos para SRM 1568a determinados por ICP-MS.

<b>Elemento</b>	<b>Valor certificado (<math>\mu\text{g g}^{-1}</math>)</b>	<b>Valor Obtido modo XT (<math>\mu\text{g g}^{-1}</math>)</b>	<b>Recuperação (%)</b>
<b>As</b>	0,29 $\pm$ 0,03	0,24 $\pm$ 0,01	81,2
<b>Cd</b>	0,022 $\pm$ 0,02	0,0207 $\pm$ 0,002	93,9
<b>Mo</b>	1,46 $\pm$ 0,08	1,41 $\pm$ 0,05	96,8
<b>Se</b>	0,38 $\pm$ 0,04	0,31 $\pm$ 0,02	81,6

<b>Elemento</b>	<b>Valor certificado (<math>\mu\text{g g}^{-1}</math>)</b>	<b>Valor Obtido modo CCT (<math>\mu\text{g g}^{-1}</math>)</b>	<b>Recuperação (%)</b>
<b>As</b>	0,29 $\pm$ 0,03	0,56 $\pm$ 0,02	194,5
<b>Cd</b>	0,022 $\pm$ 0,02	0,0200 $\pm$ 0,003	90,8
<b>Mo</b>	1,46 $\pm$ 0,08	1,30 $\pm$ 0,05	89,1
<b>Se</b>	0,38 $\pm$ 0,04	1,21 $\pm$ 0,09	317,8

### 3.2.4. PRECISÃO

A precisão é a avaliação da proximidade dos resultados obtidos em uma série de medidas de uma amostragem múltipla de uma mesma amostra (ANVISA, 2003). Matematicamente, a precisão é expressa pelo desvio padrão absoluto (s) ou desvio padrão relativo (RSD) (RIBANI e colaboradores, 2004).

A repetitividade (precisão intra-corrída) corresponde concordância entre os resultados dentro de um curto período de tempo com o mesmo analista e mesma instrumentação (ANVISA, 2003).

Para avaliar a repetitividade do procedimento proposto foram realizadas duas digestões, em dois dias consecutivos, de uma amostra de arroz do tipo polido com sete réplicas cada, totalizando quatorze determinações. Não foi possível analisar a repetitividade para os analitos Cd e Se visto que estes ficaram abaixo do LOD.

De modo geral, houve uma boa precisão no teste, como mostrado na Tabela 13, com RSD inferior a 10 %, sendo que para os analitos Cu, K, Mg, Mn, Mo, P e Zn o RSD foi inferior a 4%.

Tabela 15. Resultados ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) do teste de repetitividade para determinações por ICP OES e ICP MS.

<b>Analito</b>	<b>Concentração média (<math>\mu\text{g g}^{-1}</math>)</b>	<b>Desvio padrão</b>	<b>RSD (%)</b>
<b>Al</b>	4,5	0,4	9,3
<b>As</b>	0,0948	0,0075	7,9
<b>Ca</b>	41,0	2,9	7,0
<b>Cu</b>	2,18	0,07	3,3
<b>Fe</b>	2,0	0,2	7,3
<b>K</b>	546,0	14,3	2,6
<b>Mg</b>	144,6	3,2	2,2
<b>Mn</b>	12,4	0,3	2,2
<b>Mo</b>	0,488	0,016	3,3
<b>P</b>	1575,7	3,5	2,2
<b>Zn</b>	12,7	0,5	3,6

### 3.2.5. TESTE DE RECUPERAÇÃO

A recuperação do analito pode ser estimada pela análise de amostras adicionadas com quantidades conhecidas do mesmo (spike) antes da digestão. Este teste tem como limitação o fato do analito adicionado não está, necessariamente, na mesma forma que na amostra (INMETRO, 2011). A presença de analitos adicionados em uma forma mais facilmente detectável e avaliar possíveis perdas de analito durante o procedimento.

Na Tabela 16 e 17 encontram-se os resultados obtidos no teste de recuperação (n=3) para as determinações empregando ICP OES e ICP-MS. Pode-se notar que, para todos os analitos, houve uma boa recuperação, variando entre 92 e 115 %.

### 3.2.6 EFEITO DE MATRIZ

O efeito de matriz é um tipo de interferência espectroscópica que pode ocorrer nas análises (AGATEMOR e BEAUCHEMIN, 2011), de tal modo que pode interferir na etapa de determinação, visto que influencia na sensibilidade e na intensidade da emissão das linhas atômicas e iônicas. Este erro é resultante de substâncias orgânicas não decompostas (LEHN e colaboradores, 2003; KRUG e colaboradores, 2008).

Para avaliar se há efeito de matriz deve-se observar a razão entre os coeficientes angulares das curvas analíticas obtidas no meio da matriz e no meio ácido (PINHO, 2009), conforme apresentado na Tabela 18.

Considerando os valores das razões entre os coeficientes angulares da curva analítica no meio da matriz e meio ácido, pode-se concluir que não houve diferença significativa entre os coeficientes angulares das curvas analíticas nos meios estudados, sendo possível concluir que não existe efeito de matriz para as amostras de arroz.

Tabela 16. Resultados (mg L<sup>-1</sup>) do teste de recuperação dos elementos Al, Fe, Mn e Zn para determinação por ICP OES.

Amostra	Concentração adicionada	Al		Fe		Mn		Zn	
		Média	%	Média	%	Média	%	Média	%
Arroz Polido		0,2596	103,8	0,2462	98,5	0,2712	108,5	0,2626	105,0
Arroz Parboilizado	0,25	0,2633	105,3	0,2874	115,0	0,2673	106,9	0,2659	106,4
Arroz Intergral		0,2547	101,9	0,2470	98,8	---	---	0,2414	96,6

Amostra	Concentração adicionada	Al		Fe		Mn		Zn	
		Média	%	Média	%	Média	%	Média	%
Arroz Polido		3,44	114,6	3,34	111,4	3,34	111,4	3,29	109,8
Arroz Parboilizado	3,0	3,35	111,7	3,26	108,6	3,19	106,4	3,19	106,2
Arroz Intergral		3,27	109,0	3,24	108,1	3,13	104,3	3,15	105,0

Tabela 17. Resultados (µg L<sup>-1</sup>) do teste de recuperação dos elementos As, Mo e Se para determinação por ICP-MS.

Amostra	Concentração adicionada	As		Mo		Se	
		Média	%	Média	%	Média	%
Arroz Polido		30,86	92,8	31,28	94,1	34,33	102,5
Arroz Parboilizado	33,25	30,62	92,1	31,93	96,0	34,0	102,3
Arroz Intergral		32,22	96,9	33,45	100,6	35,32	106,2



Tabela 18. Razão entre os coeficientes angulares da curva analítica no meio da matriz e meio ácido.

<b>Analito</b>	<b>HNO<sub>3</sub> 2 mol L<sup>-1</sup></b>	<b>Arroz polido</b>	<b>Razão</b>	<b>Arroz parboilizado</b>	<b>Razão</b>	<b>Arroz</b>
<b>Al</b>	1222,0	1257,6	1,03	1284,9	1,05	1
<b>As</b>	0,99831	1,02594	1,03	1,05853	1,06	1
<b>Ca</b>	1735830,0	1670990,0	0,96	1661470,0	0,96	16
<b>Cd</b>	0,99831	1,02594	1,03	1,05853	1,06	1
<b>Cu</b>	16761,8	17428,5	1,04	17293,0	1,03	1
<b>Fe</b>	26409,5	27402,4	1,04	27128,6	1,03	2
<b>K</b>	12372,6	12392,6	1,00	11289,8	0,91	9
<b>Mg</b>	25274,7	23942,8	0,95	22590,5	0,90	2
<b>Mn</b>	106702,1	112061,8	1,05	111289,3	1,04	11
<b>Mo</b>	0,99172	0,9927	1,00	0,98848	1,00	0
<b>Se</b>	1,00639	1,08452	1,08	1,11491	1,10	1
<b>Zn</b>	22268,1	23468,0	1,05	23538,3	1,06	2

### 3.3. APLICAÇÃO

O procedimento proposto validado para digestão de amostras de arroz em forno de micro-ondas com cavidade com ácido nítrico diluído foi aplicado em 23 amostras de arroz polido, parboilizado e integral comercializados em supermercados de Salvador, Bahia. Das amostras digeridas e analisadas, 10 foram de arroz parboilizado, 8 de arroz polido e 5 de arroz integral, de 13 fornecedores diferentes, como apresentado na Tabela 02.

As amostras foram digeridas, em triplicata, conforme procedimento descrito no item 2.3.3. Foram determinados os teores de Al, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, P e Zn por ICP OES e de As, Cd, Mo e Se por ICP-MS. As concentrações encontradas estão nas Tabelas 19, 20 e 21.

A partir das Tabelas 22 e 23, pode-se comparar os intervalos de concentração de macro e micro elementos nos três diferentes tipos de amostras. De acordo com a Figura 10, percebe-se que a concentração dos analitos diferencia de acordo com o tipo de arroz, sendo a maior concentração encontrada no arroz integral. Essa diferença na concentração esta relacionada com o processamento do arroz, pois o arroz passa apenas pela etapa de descascamento a qual não leva a redução das quantidades destes micronutrientes presentes nos grãos. Já em relação às amostras de arroz polido e parboilizado, a concentração do analito irá depender de como eles estão distribuídos no grão. Assim, os elementos que estiverem nas camadas mais externas serão removidos no polimento, assim como o processo de parboilização pode reter alguns analitos junto ao amido do grão (STORCK; SILVA e COMARELLA,, 2005; TEIXEIRA, 2010; NITZKE E BIEDRYCKI, 2012).

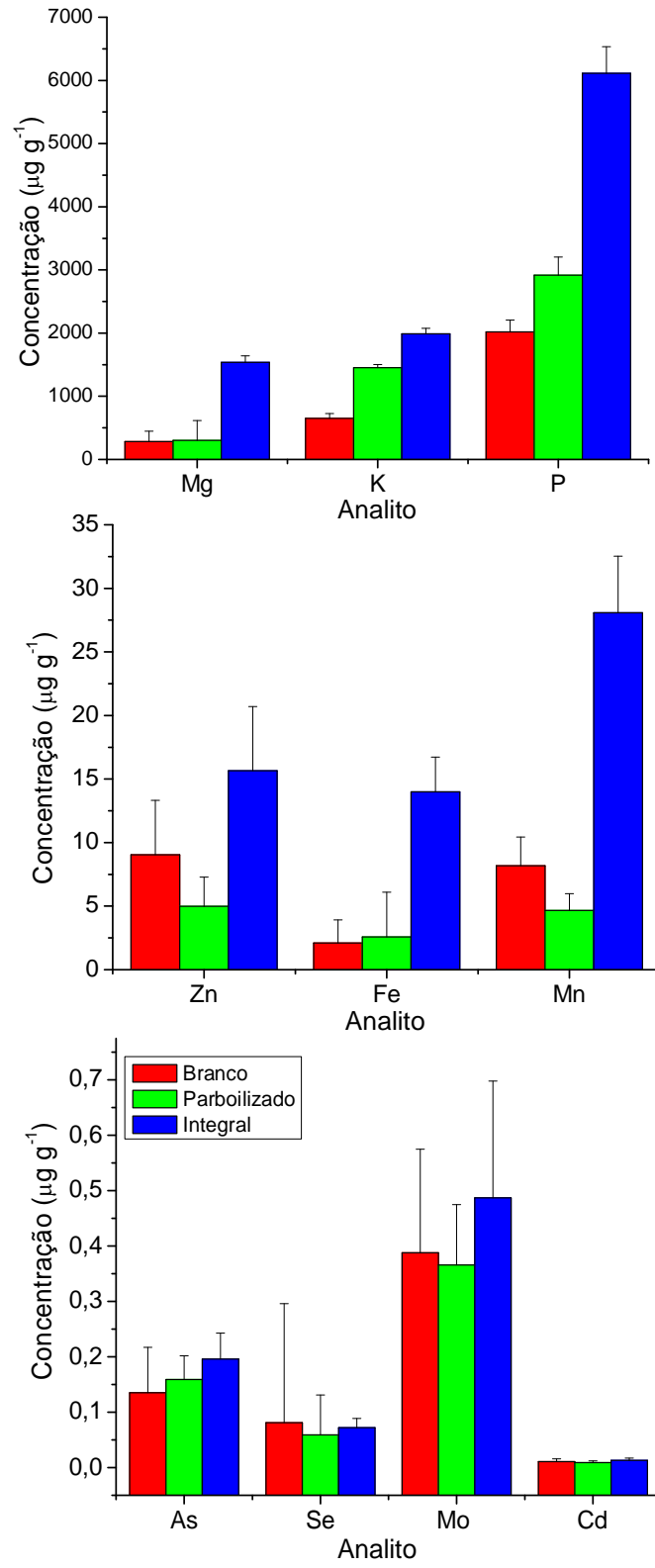


Figura 10. Concentração média ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) dos analitos nos três tipos de arroz estudados.

Tabela 19. Concentração de Al, Cu, Fe, Mn e Zn ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) ( $n=3 \pm s$ ) nas amostras de arroz determinadas por ICP OES.

<b>Amostra</b>	<b>Al</b>	<b>Cu</b>	<b>Fe</b>	<b>Mn</b>	<b>Zn</b>
<b>AB1</b>	8,4 $\pm$ 1,0	<LOQ	7,20 $\pm$ 0,03	8,3 $\pm$ 0,2	13,0 $\pm$ 0,4
<b>AB2</b>	<LOQ	<LOQ	2,10 $\pm$ 0,02	7,26 $\pm$ 0,05	13,8 $\pm$ 0,3
<b>AB3</b>	<LOQ	<LOQ	3,39 $\pm$ 0,06	5,33 $\pm$ 0,02	14,93 $\pm$ 0,04
<b>AB4</b>	<LOQ	0,24 $\pm$ 0,07	2,2 $\pm$ 0,1	11,7 $\pm$ 0,1	12,0 $\pm$ 0,1
<b>AB5</b>	4,5 $\pm$ 0,4	2,18 $\pm$ 0,07	2,0 $\pm$ 0,2	12,4 $\pm$ 0,3	12,7 $\pm$ 0,5
<b>AB6</b>	<LOQ	<LOQ	<LOQ	6,9 $\pm$ 0,3	13,4 $\pm$ 0,9
<b>AB7</b>	4,6 $\pm$ 0,5	<LOQ	1,3 $\pm$ 0,2	8,0 $\pm$ 0,2	8,3 $\pm$ 0,3
<b>AB8</b>	8,57 $\pm$ 0,02	<LOQ	1,81 $\pm$ 0,05	8,94 $\pm$ 0,07	9,5 $\pm$ 0,4
<b>AI1</b>	2,9 $\pm$ 0,3	0,73 $\pm$ 0,03	10,5 $\pm$ 0,5	34,9 $\pm$ 1,4	17,1 $\pm$ 0,7
<b>AI2</b>	<LOQ	0,62 $\pm$ 0,03	11,0 $\pm$ 0,8	31,0 $\pm$ 2,7	16,5 $\pm$ 1,0
<b>AI3</b>	7,8 $\pm$ 0,6	<LOQ	15,1 $\pm$ 0,8	24,7 $\pm$ 0,7	15,9 $\pm$ 0,5
<b>AI4</b>	<LOQ	<LOQ	14,1 $\pm$ 0,5	28,6 $\pm$ 0,8	15,0 $\pm$ 0,2
<b>AI5</b>	<LOQ	<LOQ	17,4 $\pm$ 0,4	23,7 $\pm$ 1,6	16,5 $\pm$ 0,8
<b>AP1</b>	15,3 $\pm$ 0,2	<LOQ	12,5 $\pm$ 0,5	5,3 $\pm$ 0,1	6,13 $\pm$ 0,08
<b>AP2</b>	<LOQ	0,20 $\pm$ 0,02	3,6 $\pm$ 0,2	6,2 $\pm$ 0,6	6,3 $\pm$ 0,4
<b>AP3</b>	<LOQ	<LOQ	1,8 $\pm$ 0,1	4,1 $\pm$ 0,4	5,2 $\pm$ 0,5
<b>AP4</b>	<LOQ	0,2 $\pm$ 0,1	4,1 $\pm$ 0,3	6,6 $\pm$ 0,1	7,8 $\pm$ 0,1
<b>AP5</b>	<LOQ	0,33 $\pm$ 0,04	2,73 $\pm$ 0,04	4,6 $\pm$ 0,3	5,82 $\pm$ 0,07
<b>AP6</b>	<LOQ	<LOQ	2,8 $\pm$ 0,2	3,5 $\pm$ 0,3	5,2 $\pm$ 0,2
<b>AP7</b>	<LOQ	<LOQ	2,4 $\pm$ 0,2	6,6 $\pm$ 0,3	7,8 $\pm$ 0,4
<b>AP8</b>	<LOQ	<LOQ	0,97 $\pm$ 0,08	3,6 $\pm$ 0,2	6,3 $\pm$ 0,1
<b>AP9</b>	3,9 $\pm$ 0,3	<LOQ	<LOQ	2,78 $\pm$ 0,09	4,8 $\pm$ 0,4
<b>AP10</b>	<LOQ	<LOQ	<LOQ	4,7 $\pm$ 0,3	5,3 $\pm$ 0,2

Tabela 20. Concentração de Ca, K, Mg e P ( $\text{mg g}^{-1}$ ) ( $n=3 \pm s$ ) nas amostras de arroz determinadas por ICP OES.

<b>Amostra</b>	<b>Ca</b>	<b>K</b>	<b>Mg</b>	<b>P</b>
<b>AB1</b>	0,057 $\pm$ 0,004	0,64 $\pm$ 0,01	0,72 $\pm$ 0,02	2,12 $\pm$ 0,04
<b>AB2</b>	0,049 $\pm$ 0,003	0,592 $\pm$ 0,003	0,246 $\pm$ 0,001	2,01 $\pm$ 0,01
<b>AB3</b>	0,048 $\pm$ 0,001	0,53 $\pm$ 0,01	0,30 $\pm$ 0,01	2,04 $\pm$ 0,05
<b>AB4</b>	0,046 $\pm$ 0,002	0,76 $\pm$ 0,01	0,287 $\pm$ 0,005	2,12 $\pm$ 0,03
<b>AB5</b>	0,041 $\pm$ 0,003	0,55 $\pm$ 0,01	0,145 $\pm$ 0,003	1,58 $\pm$ 0,03
<b>AB6</b>	<LOQ	0,71 $\pm$ 0,03	0,33 $\pm$ 0,01	2,19 $\pm$ 0,06
<b>AB7</b>	0,1148 $\pm$ 0,0003	0,66 $\pm$ 0,01	0,259 $\pm$ 0,006	1,89 $\pm$ 0,04
<b>AB8</b>	0,1122 $\pm$ 0,0001	0,67 $\pm$ 0,01	0,282 $\pm$ 0,004	1,94 $\pm$ 0,02
<b>AI1</b>	0,098 $\pm$ 0,005	2,09 $\pm$ 0,01	1,54 $\pm$ 0,04	6,81 $\pm$ 0,06
<b>AI2</b>	0,101 $\pm$ 0,002	2,03 $\pm$ 0,06	1,5 $\pm$ 0,1	6,8 $\pm$ 0,4
<b>AI3</b>	0,140 $\pm$ 0,078	1,94 $\pm$ 0,03	1,62 $\pm$ 0,04	6,03 $\pm$ 0,09
<b>AI4</b>	0,155 $\pm$ 0,003	1,98 $\pm$ 0,12	1,37 $\pm$ 0,03	5,93 $\pm$ 0,04
<b>AI5</b>	0,151 $\pm$ 0,002	1,99 $\pm$ 0,06	1,571 $\pm$ 0,090	6,1 $\pm$ 0,3
<b>AP1</b>	0,023 $\pm$ 0,002	1,46 $\pm$ 0,02	1,33 $\pm$ 0,06	3,14 $\pm$ 0,01
<b>AP2</b>	0,022 $\pm$ 0,001	1,39 $\pm$ 0,03	0,33 $\pm$ 0,03	3,0 $\pm$ 0,1
<b>AP3</b>	0,016 $\pm$ 0,002	1,43 $\pm$ 0,02	0,28 $\pm$ 0,03	2,9 $\pm$ 0,1
<b>AP4</b>	0,032 $\pm$ 0,001	1,43 $\pm$ 0,03	0,46 $\pm$ 0,01	3,34 $\pm$ 0,03
<b>AP5</b>	0,018 $\pm$ 0,001	1,47 $\pm$ 0,02	0,31 $\pm$ 0,03	2,97 $\pm$ 0,06
<b>AP6</b>	0,064 $\pm$ 0,003	1,52 $\pm$ 0,01	0,291 $\pm$ 0,009	2,71 $\pm$ 0,05
<b>AP7</b>	<LOQ	1,51 $\pm$ 0,05	0,42 $\pm$ 0,01	3,2 $\pm$ 0,2
<b>AP8</b>	0,024 $\pm$ 0,004	1,43 $\pm$ 0,01	0,236 $\pm$ 0,007	2,56 $\pm$ 0,01
<b>AP9</b>	0,026 $\pm$ 0,002	1,42 $\pm$ 0,06	0,20 $\pm$ 0,01	2,5 $\pm$ 0,1
<b>AP10</b>	<LOQ	1,46 $\pm$ 0,04	0,28 $\pm$ 0,01	2,69 $\pm$ 0,05

Tabela 21. Concentração de As, Cd, Mo e Se ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) ( $n=3 \pm s$ ) nas amostras de arroz determinadas por ICP-MS.

<b>Amostra</b>	<b>As</b>	<b>Cd</b>	<b>Mo</b>	<b>Se</b>
<b>AB1</b>	0,19 $\pm$ 0,01	0,0166 $\pm$ 0,0004	0,78 $\pm$ 0,08	0,177 $\pm$ 0,029
<b>AB2</b>	0,11 $\pm$ 0,01	0,0166 $\pm$ 0,0005	0,3 $\pm$ 0,01	<LOQ
<b>AB3</b>	0,18 $\pm$ 0,01	0,0085 $\pm$ 0,0007	0,38 $\pm$ 0,03	0,062 $\pm$ 0,012
<b>AB4</b>	0,21 $\pm$ 0,02	0,014 $\pm$ 0,001	0,81 $\pm$ 0,07	0,093 $\pm$ 0,025
<b>AB5</b>	< LOQ	< LOQ	0,49 $\pm$ 0,02	< LOD
<b>AB6</b>	< LOQ	0,0101 $\pm$ 0,0008	0,35 $\pm$ 0,02	0,112 $\pm$ 0,009
<b>AB7</b>	0,32 $\pm$ 0,02	0,0076 $\pm$ 0,0003	0,30 $\pm$ 0,01	<LOQ
<b>AB8</b>	< LOQ	0,011 $\pm$ 0,001	0,39 $\pm$ 0,01	0,077 $\pm$ 0,009
<b>AI1</b>	0,21 $\pm$ 0,02	0,0117 $\pm$ 0,0003	0,53 $\pm$ 0,03	0,050 $\pm$ 0,006
<b>AI2</b>	0,24 $\pm$ 0,02	0,017 $\pm$ 0,001	0,49 $\pm$ 0,03	0,075 $\pm$ 0,004
<b>AI3</b>	0,12 $\pm$ 0,01	0,010 $\pm$ 0,001	0,38 $\pm$ 0,01	< LOD
<b>AI4</b>	0,20 $\pm$ 0,02	0,013 $\pm$ 0,001	0,45 $\pm$ 0,04	<LOQ
<b>AI5</b>	0,14 $\pm$ 0,01	0,013 $\pm$ 0,001	0,38 $\pm$ 0,01	0,079 $\pm$ 0,007
<b>AP1</b>	0,27 $\pm$ 0,04	0,010 $\pm$ 0,002	<LOQ	0,271 $\pm$ 0,016
<b>AP2</b>	0,19 $\pm$ 0,02	0,0068 $\pm$ 0,0004	0,40 $\pm$ 0,02	0,050 $\pm$ 0,003
<b>AP3</b>	0,14 $\pm$ 0,01	0,0094 $\pm$ 0,0004	0,42 $\pm$ 0,01	0,050 $\pm$ 0,003
<b>AP4</b>	0,14 $\pm$ 0,02	0,0081 $\pm$ 0,0011	0,36 $\pm$ 0,02	0,052 $\pm$ 0,005
<b>AP5</b>	0,14 $\pm$ 0,01	0,0040 $\pm$ 0,0007	0,45 $\pm$ 0,02	0,053 $\pm$ 0,007
<b>AP6</b>	0,16 $\pm$ 0,01	0,0085 $\pm$ 0,0008	0,34 $\pm$ 0,02	<LOQ
<b>AP7</b>	0,16 $\pm$ 0,01	0,0082 $\pm$ 0,0008	0,38 $\pm$ 0,03	0,054 $\pm$ 0,005
<b>AP8</b>	0,16 $\pm$ 0,01	0,017 $\pm$ 0,001	0,291 $\pm$ 0,008	<LOQ
<b>AP9</b>	0,149 $\pm$ 0,005	<LOQ	0,32 $\pm$ 0,03	<LOQ
<b>AP10</b>	0,166 $\pm$ 0,006	0,0076 $\pm$ 0,0007	0,34 $\pm$ 0,01	0,064 $\pm$ 0,004

Tabela 22. Intervalo de concentração ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) de macro, micro e elementos traços em amostras de arroz.

<b>Analito</b>	<b>Arroz polido</b>	<b>Arroz parboilizado</b>	<b>Arroz integral</b>
<b>Al</b>	<LOQ – 8,57	<LOQ - 15,3	<LOQ – 7,8
<b>As</b>	<LOQ – 0,32	<LOQ – 0,166	<LOQ -0,24
<b>Cd</b>	< LOQ	<LOQ – 0,017	0,010 – 0,017
<b>Cu</b>	<LOQ -2,18	<LOQ – 0,33	<LOQ -0,73
<b>Fe</b>	<LOQ - 7,20	<LOQ – 12,5	10,5 -17,4
<b>Mn</b>	5,33 – 12,4	2,78 – 6,6	23,7 – 34,9
<b>Mo</b>	0,30 – 0,81	<LOQ – 0,45	0,38 -0,53
<b>Se</b>	<LOQ – 0,177	<LOQ – 0,271	<LOQ – 0,079
<b>Zn</b>	8,3 -14,93	4,8 – 7,8	15,0 – 17,1

Tabela 23. Intervalo de concentração ( $\text{mg g}^{-1}$ ) de macro elementos em amostras de arroz.

<b>Analito</b>	<b>Arroz polido</b>	<b>Arroz parboilizado</b>	<b>Arroz integral</b>
<b>Ca</b>	<LOQ - 0,1148	<LOQ - 0,016	0,098 - 0,155
<b>K</b>	0,53 - 0,76	1,39 - 1,52	1,94 - 2,09
<b>Mg</b>	0,145 - 0,72	0,20 - 0,46	1,37 - 1,62
<b>P</b>	1,58 - 2,19	2,5 - 3,34	5,93 - 6,81

Também foram comparados os intervalos de concentração dos analitos determinados nas 23 amostras de arroz com os valores já existentes na literatura, para a mesma matriz, como apresentado nas Tabelas 24 e 25.

Observando as Tabelas 24 e 25, pode-se perceber que as concentrações obtidas neste trabalho, de modo geral, encontram-se concordantes com os valores publicados na literatura.

Tabela 24. Teor de nutrientes inorgânicos (mg 100g<sup>-1</sup>) em amostras arroz declarados na literatura. Continua.

<b>Arroz polido</b>						<b>Fonte</b>
<b>Al</b>	<b>As</b>	<b>Ca</b>	<b>Cu</b>	<b>Cd</b>	<b>Fe</b>	
<LOQ - 0,86	<LOQ - 0,03	<LOQ - 11,5	<LOQ - 0,22	<LOQ - 0,017	<LOQ - 0,72	Este trabalho
ND	ND	4,0	0,11	ND	0,7	TACO, 2006
ND	ND	4,3	0,2	ND	0,3	OKADA, 2007
0,01 - 0,22	ND	10 - 30	0,2 - 0,3	0,0025	0,2 - 2,8	WALTER, 2008
ND	ND	6,7	0,18	ND	0,4	HEINEMANN, 2005
1,0	0,01	ND	ND	0,0013	ND	PARENGAM, 2010
ND	ND	5,0	0,27	ND	0,28	OLIVEIRA, 2012
<b>Arroz integral</b>						<b>Fonte</b>
<b>Al</b>	<b>As</b>	<b>Ca</b>	<b>Cu</b>	<b>Cd</b>	<b>Fe</b>	
<LOQ - 0,8	0,012 - 0,024	9,8 - 15,5	<LOQ - 0,073	0,001 - 0,0017	1,1 - 1,7	Este trabalho
ND	ND	8,0	0,070	ND	0,900	TACO, 2006
0,03 - 2,6	ND	10 - 50	0,1 - 0,6	0,002 - 0,016	0,2 - 5,2	WALTER, 2008
ND	ND	6,9	0,2	ND	0,6	HEINEMANN, 2005
1,7	0,018	ND	ND	0,001	ND	PARENGAM, 2010
ND	ND	8,0	0,21	ND	0,95	OLIVEIRA, 2012
<b>Arroz parboilizado</b>						<b>Fonte</b>
<b>Al</b>	<b>As</b>	<b>Ca</b>	<b>Cu</b>	<b>Cd</b>	<b>Fe</b>	
<LOQ - 1,53	0,014 - 0,017	<LOQ - 1,6	<LOQ - 0,033	<LOQ - 0,0017	<LOQ - 1,25	Este trabalho
ND	ND	4,6	0,2	ND	0,4	HEINEMANN, 2005
ND	ND	3,0	0,22	ND	0,84	OLIVEIRA, 2012

ND - valor não declarado.



Tabela 25. Continuação. Teor de nutrientes inorgânicos (mg 100g<sup>-1</sup>) em amostras arroz declarados na literatura.

<b>Arroz polido</b>						
<b>K</b>	<b>Mg</b>	<b>Mn</b>	<b>Mo</b>	<b>P</b>	<b>Se</b>	<b>Zn</b>
53 - 76	14,5 - 72	0,53 – 1,24	0,03 – 0,08	158 - 219	<LOQ - 0,018	0,83 – 1,5
62	30	1,0	ND	104	ND	1,2
ND	ND	0,6 -1,4	ND	130	ND	1,9 – 2,1
58	26	1,1	ND	92	ND	1,2
70 - 130	20 - 50	0,6 – 1,7	ND	80 - 150	0,03	0,6 – 2,3
65	15	0,5	ND	42	0,03	2,1
62	4,1	0,7	ND	ND	ND	2,2
39	13	1,5	< 0,02	64	ND	1,2
<b>Arroz integral</b>						
<b>K</b>	<b>Mg</b>	<b>Mn</b>	<b>Mo</b>	<b>P</b>	<b>Se</b>	<b>Zn</b>
194 - 209	137 - 162	2,4 – 3,5	0,038 – 0,053	593 - 681	<LOQ - 0,008	1,5 – 1,7
173	110	2,99	ND	251	ND	1,4
ND	ND	2,6 -4,5	ND	300	ND	1,9 - 2,5
60 - 280	20 -150	0,2 – 3,6	ND	170 - 430	0,03	0,6 – 2,8
182	17	0,4	ND	61	0,04	2,0
218	79	2,1	ND	ND	ND	2,7
149	108	1,9	< 0,02	255	ND	1,6
<b>Arroz parboilizado</b>						
<b>K</b>	<b>Mg</b>	<b>Mn</b>	<b>Mo</b>	<b>P</b>	<b>Se</b>	<b>Zn</b>
139 - 152	20 - 46	0,28 – 0,66	<LOQ - 0,045	250 - 334	<LOQ - 0,027	0,48 – 0,78
ND	ND	0,6 – 0,8	ND	130 - 200	ND	1,3 – 1,5
143	15	0,3	ND	59	0,03	1,2
116	34	0,5	< 0,02	138	ND	0,8

ND – valor não declarado.

A ANVISA (1965) regulamenta os limites máximos tolerados de contaminantes em alimentos, como apresentado na Tabela 26. Comparando o intervalo de concentração dos analitos (Tabela 22 e 23), nos três tipos de arroz estudado, com a concentração regulamentada, pode-se observar que todos os elementos encontram-se abaixo do limite máximo tolerado, logo as amostras estão de acordo com as normas da ANVISA.

Tabela 26. Concentração ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) de contaminantes inorgânicos em alimentos permitidos pela ANVISA.

<b>Analito</b>	<b>As</b>	<b>Cd</b>	<b>Cu</b>	<b>Se</b>	<b>Zn</b>
<b>Limite máximo tolerado</b>	1,00	1,00	30,0	0,30	50,0

Para avaliar os perfis nutricionais e/ou toxicológicos destas amostras, deve-se considerar, além das concentrações determinadas, a taxa de ingestão diária de arroz cerca de 160 g para um adulto brasileiro (IBGE, 2011). Com base nestas considerações, pode-se verificar que o consumo está dentro do limite adequado. As concentrações de ingestão diária recomendada (IDR) e o limite máximo tolerável (LMT) para os analitos investigados, exceto potássio, encontram-se na Tabela 27.

Tabela 27. Concentrações de ingestão diária recomendada (IDR) e o limite máximo (LM) tolerado para cada analito.

Analito	Sexo	IDR	LMT	IDR	LMT	IDR
		(mg/dia) <sup>a</sup>	(mg/dia) <sup>a</sup>	(mg/dia) <sup>b</sup>	(mg/dia) <sup>b</sup>	(mg/dia) <sup>c</sup>
Al	Masculino	ND	500	ND	ND	ND
	Feminino		420			
As	Masculino	ND	1,0	ND	ND	ND
	Feminino		0,9			
Ca	Masculino	1.000	2.500	ND	ND	1.000
	Feminino					
Cd	Masculino	ND	0,5	ND	ND	ND
	Feminino		0,4			
Cu	Masculino	0,9	10,0	1,2	12,0	0,9
	Feminino			1,0	10,0	
Fe	Masculino	8,0	45,0	ND	ND	14,0
	Feminino	18,0				
Mn	Masculino	2,3	11,0	2,9	5,0	2,3
	Feminino	1,8				
Mg	Masculino	ND	ND	ND	ND	260
	Feminino					
Mo	Masculino	0,045	ND	ND	ND	0,045
	Feminino					
P	Masculino	ND	ND	ND	ND	700
	Feminino					
Se	Masculino	0,055	0,4	0,03	0,4	0,034
	Feminino			0,04		
Zn	Masculino	11,0	40,0	13,5	45	7,0
	Feminino	8,0		9,4	35	

ND – valor não declarado. <sup>a</sup> COZZOLINO, 2005. <sup>b</sup> WHO,1996. <sup>c</sup> ANVISA,2004.

Na maioria das amostras de arroz as concentrações correspondentes ao consumo diário de cada analito ficaram abaixo do considerado como adequado. Entretanto as concentrações dos analitos Mo e Se, nos três tipos de arroz, e Mg, P e Mn, no arroz integral, encontram-se superiores ao IDR, porém abaixo do LMT. De modo geral, considerando as amostras analisadas neste trabalho pode-se considerar que o consumo de arroz não apresenta nenhum risco de contaminação humana para estes analitos, e para a maioria dos elementos investigados, os valores apontam que este cereal não deve ser a única fonte de ingestão diária.

Vale resaltar que este estudo foi realizado com as amostras cruas e os valores encontrados correspondem ao teor total dos elementos na matriz. Para uma avaliação mais detalhada da contribuição do consumo de arroz para a IDR deve-se levar em consideração que pode ocorrer perdas ou enriquecimento de alguns analitos durante o cozimento, a depender das condições e do recipiente que será utilizado. Além disso, sabe-se que o teor total do analito nem sempre está disponível para ser absorvido pelo organismo, a depender da forma que a espécie encontra-se, sendo necessário um estudo mais aprofundado sobre a biodisponibilidade dos elementos nas amostras.

## 4. CONCLUSÕES

Neste trabalho foi proposto um procedimento de digestão de amostras de arroz utilizando ácido nítrico diluído e radiação micro-ondas para determinação de macro, micro e elementos traço por ICP OES e ICP-MS.

A otimização multivariada com o planejamento Box-Behnken e a metodologia de superfície de resposta possibilitaram encontrar as melhores condições para a decomposição das amostras, utilizando um reduzido número de experimentos, reduzindo custo, tempo de preparo e de análise quando comparado a uma otimização univariada. Os resultados obtidos no planejamento experimental permitiram a otimização das condições de tempo e temperatura no último patamar do programa de aquecimento do forno de micro-ondas, bem como do volume de ácido nítrico, sendo definidas como condições ótimas o tempo de 20 minutos, temperatura de 200 °C e volume de 2 mL de HNO<sub>3</sub>.

O procedimento avaliado apresentou uma boa exatidão e precisão, evidenciadas pelos percentuais de recuperação da digestão do CRM NIST 1568a e do teste de recuperação para os analitos investigados, que variaram entre 80,1 e 102,1 % e 96,6 e 109,8 %, respectivamente, e pelo desvio padrão relativo sempre inferior a 10%, inclusive no teste de repetitividade. Somado a isso, foram alcançados baixos limites de detecção e quantificação, coeficientes de correlação maiores que 0,999 e inexistência de efeito de matriz para ambas as técnicas. Estes resultados indicam a viabilidade de aplicação deste procedimento na determinação do teor de Al, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, P e Zn por ICP OES e As, Cd, Mo e Se por ICP-MS, em amostras de arroz.

O procedimento proposto foi aplicado a 23 amostras de arroz dos tipos polido, parboilizado e integral comercializadas em Salvador-BA, para determinação de Al, As, Ca, Cd, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, P, Se e Zn, contribuindo com as tabelas de composição mineral, principalmente, para o arroz parboilizado, que há poucos trabalhos na literatura. De modo geral, os resultados obtidos encontram-se concordantes com faixas de concentração descritas na literatura.

O procedimento proposto atende aos critérios para a escolha de um método analítico: simplicidade, segurança, boa frequência analítica, rapidez e utilização de uma pequena quantidade de ácido nítrico. Este último de acordo com as tendências atuais da química verde. Também foi possível a quantificação de elementos não essenciais. Na literatura, são poucos os trabalhos que tratam destas espécies, no entanto é de grande relevância o conhecimento dessas concentrações, visto que mesmo em pequenas quantidades podem trazer prejuízos à saúde humana.

Para complementação deste estudo, é importante a investigação da biodisponibilidade de micronutriente, bem como a especiação dos mesmos, em especial, das espécies não essenciais ao organismo humano.

## 5. REFERÊNCIAS

- AGATEMOR, C.; BEAUCHEMIN, D. Matrix effects in inductively coupled plasma mass spectrometry: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 706, p. 66-83, 2011.
- ALMEIDA, Vanessa V. **Otimização do processo de desidratação de folhas de cenoura (*Daucus carota* L.) visando a conservação de ácidos graxos ômega-3**. 2007. 68 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Departamento de Química, Universidade Estadual de Maringá, 2007.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Normas reguladoras do emprego de aditivos para alimentos**. Decreto nº 55871, de 26 de março de 1965.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos**. Resolução - RE nº 899, de 29 de maio de 2003.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais**. Consulta Pública nº 80, de 13 de dezembro de 2004.
- ARRUDA, M. A. Z.; SANTELLI, R.E. Mecanização no preparo de amostras por microondas: o estado da arte. **Química Nova**, v. 20, n. 6, p. 638-643, 1997.
- BARROS NETO. B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R.E. **Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**. Campinas, SP: Unicamp, 2001.
- BATISTA, B. L. et al. Speciation of arsenic in rice and estimation of daily intake of different arsenic species by Brazilians through rice consumption. **Journal of Hazardous Materials**, v. 191, p. 342-348, 2011.
- BIZZI, C. A. et al. Understanding the process of microwave-assisted digestion combining diluted nitric acid and oxygen as auxiliary reagent. **Microchemical Journal**, v. 99, p. 193–196, 2011.
- COSTA, L. M. et al. Planejamento fatorial aplicado à digestão de amostras de feijão assistida por radiação microondas. **Química Nova**, v. 29, n. 1, p. 149-152, 2006.
- CASTRO, Jacira Teixeira, 2007. **Estratégias analíticas para determinação de metais e ametais em amostras de café por espectrometria atômica**. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal da Bahia, 2007.
- COZZOLINO, Silvia M.F. **Biodisponibilidade de nutrientes**. 1ª Edição. Barueri, SP: Manole, 2005.
- CUNICO, M. W. M. et al. Planejamento fatorial: uma ferramenta estatística valiosa para a definição de parâmetros experimentais empregados na pesquisa científica. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v.9, n.1, jan. - jun. 2008.
- FERREIRA, S.L.C. et al. Box-Behnken design: An alternative for the optimization of analytical methods. **Analytica Chimica Acta**, v. 597, p. 179–186, 2007.
- HEINEMANN, R.J.B. et al. Comparative study of nutrient composition of commercial brown, parboiled and milled rice from Brazil. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.18, p. 287–296, 2005.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa de orçamentos familiares 2008-2009**: análise do consumo alimentar pessoal no Brasil. Rio de Janeiro : IBGE, 2011.

INMETRO. Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia. **Orientação sobre validação de métodos analíticos**. DOQ-CGCRE-008, jul. 2011.

JIANG S. L. et al. Genotypic variation of mineral elements contents in rice (*Oryza sativa* L.). **European Food Research and Technology**, v. 228, p.115-122, 2008.

JORHEM, L. et al. Elements in rice from the Swedish market: Cadmium, lead and arsenic (total and inorganic). **Food Additives and Contaminants**, v.25, n. 3, p. 284-292, Mar. 2008.

KORN, M. G. A. et al. A critical evaluation of digestion procedures for coffee samples using diluted nitric acid in closed vessels for inductively coupled plasma optical emission spectrometry. **Talanta**, v. 78, p. 1378-1382, 2009.

KRUG, F. J. et al. **Métodos de preparo de amostras**. Fundamentos sobre o preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar. 1ª edição. Piracicaba, SP: CENA/USP, 2008.

LEAL, F. et al. Importância da especiação de metais na avaliação do seu impacto na saúde humana – desenvolvimento de metodologias voltamétricas com eletrodos de filme de bismuto. **Revista de Faculdade de Ciências e Saúde**, Porto, v. 6, p. 220-230, 2009.

LEHN, S. A. et al. Effect of sample matrix on the fundamental properties of the inductively coupled plasma. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 58, p. 1785-1806, 2003.

LENARDÃO, E. J. Green chemistry” – Os 12 princípios da química verde e sua inserção nas atividades de ensino e pesquisa. **Química Nova**, v. 26, n. 1, p. 123-129, 2003.

LOPES, W.L. et al. Application of multivariate techniques in the optimization of a procedure for the determination of bioavailable concentrations of Se and As in estuarine sediments by ICP OES using a concomitant metals analyzer as a hydride generator. **Talanta**, v. 79, p.1276-1282, 2009.

MIHUCZ, V. G. et al. 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**, v.121, p. 290–297, 2010.

NITZKE J. A.; BIEDRZYCKI, A. **Terra de arroz**. Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Disponível em <<http://www.ufrgs.br/alimentus/terradearroz/index.htm>>. Acesso em 03 de jul. de 2012.

NOGUEIRA, A. R. A. et al. Effect of acid concentration on closed-vessel microwave-assisted digestion of plant materials. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 57, p. 2121-2132, 2002.

NOGUEIRA, A. R. A. et al. Microwave-assisted digestion procedures for biological samples with diluted nitric acid: Identification of reaction products. **Talanta**, v. 79, p. 396-401, 2009.



NOGUEIRA, A. R. A. et al. Microwave-assisted digestion in closed vessels: effect of pressurization with oxygen on digestion process with diluted nitric acid. **Analytical Methods**, v. 2, p. 734–738, 2010.

NRIAGU, J. O.; LIN, T. Trace metals in wild rice sold in the United States. **The Science of the Total Environment**, v. 172, p. 223-228, 1995.

OKADA, I. A. et al. Validação e aplicação de metodologia analítica na determinação de nutrientes inorgânicos em arroz polido. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 3, p. 492-497, 2007.

OLIVEIRA, A.; BACCAN, N.; CADORE, S. Evaluation of Metal Ions in Rice Samples: Extraction and Direct Determination by ICP OES. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 23, n. 5, p. 838-845, 2012.

PARENGAM, M. et al. Study of nutrients and toxic minerals in rice and legumes by instrumental neutron activation analysis and graphite furnace atomic absorption spectrophotometry. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 23, p. 340–345, 2010.

PINHO, Gevany P. **Efeito de componentes da matriz na análise de agrotóxicos por cromatografia gasosa**. 2009. 226 f. Tese (Doutorado) –Universidade Federal de Viçosa, 2009.

PRADO, Alexandre G. S. Química verde, os desafios da química do novo milênio. **Química Nova**, v. 26, n. 5, p. 738-744, 2003.

RIBANI, M. et al. Validação em Métodos Cromatográficos e Eletroforéticos. **Química Nova**, v.27, n. 5, p. 771-780, 2004.

,T.; TOKUNAGA,H.; MASANORI, A. Survey of arsenic and other heavy metals in food composites and drinking water and estimation of dietary intake by the villagers from an arsenic-affected area of West Bengal, India. **The Science of the Total Environment**, v.308, p.15-35, 2003.

SANTOS, WAGNA P. C. **Estratégias para avaliação da composição mineral de leguminosas produzidas e comercializadas no Estado da Bahia**. 2008. 226 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia, 2008.

SANTOS, W. P. C. et al. Application of multivariate optimization in the development of an ultrasound-assisted extraction procedure for multielemental determination in bean seeds samples using ICP OES. **Microchemical Journal**, v.91, p. 153-158, 2009.

SKOOG, D. A. et al. **Fundamentos de Química Analítica**, 8 ed., São Paulo: Thomson, 2006.

SOUZA, Valmir Z. **Otimização dos parâmetros de controle de um processo de fabricação de latas**. 2002. 76 f. Dissertação (Mestrado Engenharia de Produção) – Universidade Federal de Itajubá, 2002.

STORCK C. R.; SILVA, L. P.; COMARELLA, C. G. Influência do processamento na composição nutricional de grãos de arroz. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v.16, n.3, p. 259-264, 2005.

TEIXEIRA, ALETE P. **Determinação de elementos essenciais em arroz empregando espectrometria de fluorescência de raios X de energia dispersiva**.

2010. 71 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia, 2010.

TEIXEIRA, A. P. et al. Determinação de Mn e Zn em arroz empregando espectrometria de fluorescência de raios X de energia dispersiva. **Química Nova**, v. 35, n. 6, p. 1133-1136, 2012.

VIEIRA, C.R. et al. Extração enzimática das proteínas da farinha de arroz. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 3, p. 599-606, 2008.

WALTER, M.; MARCHEZAN, E.; AVILA, L. A. Arroz: composição e características nutricionais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.4, p. 1184-1192, 2008.

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



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA**  
**INSTITUTO DE QUÍMICA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**  
**GRUPO DE PESQUISA EM QUÍMICA ANALÍTICA**

**TAIANA DO BOMFIM TARANTINO**

**DESENVOLVIMENTO DE UM PROCEDIMENTO ALTERNATIVO  
PARA DETERMINAÇÃO DE ELEMENTOS TRAÇO EM ARROZ  
EMPREGANDO DIGESTÃO ASSISTIDA POR MICRO-ONDAS COM  
ÁCIDO NÍTRICO DILUÍDO**

Salvador

2012

**TAIANA DO BOMFIM TARANTINO**

**DESENVOLVIMENTO DE UM PROCEDIMENTO ALTERNATIVO  
PARA DETERMINAÇÃO DE ELEMENTOS TRAÇO EM ARROZ  
EMPREGANDO DIGESTÃO ASSISTIDA POR MICRO-ONDAS COM  
ÁCIDO NÍTRICO DILUÍDO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química, Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Química.

Orientadora: Profa. Dra. Maria das Graças A. Korn

Salvador  
2012

*“A vida vale a pena ser vivida apesar de todas suas dificuldades, tristezas e momentos de dor e angustia. O mais importante que existe sobre a face da terra é a pessoa humana. E surpreender o homem no ato de viver é uma das coisas mais fantásticas que existe.”*

Erico Veríssimo.

*“O que vale na vida não é o ponto de partida e sim a caminhada. Caminhando e semeando, no fim terás o que colher.”*

Cora Coralina

## AGRADECIMENTOS

São muitos, e tão importantes...

A Deus, presente em todos os momentos de minha vida.

Aos meus amados pais, Vilma e Carlos, por tudo, pelos ensinamentos, firmeza e apoio. Ao meu querido irmão Gabriel, sempre presente na minha vida e por ter ajudado com ideias e sugestões. A minha tia Gladys, pela dedicação, amor e companhia.

A minha orientadora, Profa. Dra. Maria das Graças A. Korn, pela confiança, receptividade e disposição.

Ao Prof. Dr. Madson de Godoi Pereira, pela confiança e valiosas conversas desde a iniciação científica.

Aos professores Dr. Daniel Lima e Dr. Mauro Korn pelos auxílios prestados durante a realização deste trabalho.

A Wdson, pelo companheirismo, paciência, ensinamentos e palavras de incentivo.

Aos colegas de laboratório (GPQA), muito atenciosos, especialmente a Isa pelo acolhimento e colaboração no uso dos equipamentos.

Aos amigos e colegas da UNEB pela amizade, apoio e inesquecíveis momentos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química da UFBA pela oportunidade.

Aos professores e funcionários do PGQUIM pela ajuda.

Aos professores da UNEB pelo estímulo proporcionado durante minha graduação.

A CAPES pela concessão da bolsa.

Ao CNPq, FAPESB e Petrobras pelos investimentos nos projetos de pesquisas.

A todos, que por ventura não tenha citado, e que de alguma maneira contribuíram para o meu crescimento pessoal e profissional.

## RESUMO

O arroz (*Oryza sativa*) é um dos cereais mais produzidos e consumidos, sendo o alimento básico na dieta de mais da metade da população mundial. A digestão ácida assistida por radiação micro-ondas usando ácidos diluídos vem sendo bastante utilizada, principalmente, por reduzir a concentração ácida mantendo a eficiência da digestão, gerando menor volume de resíduo e diminuindo o fator de diluição antes da análise. A determinação dos teores de nutrientes é de grande relevância devido à capacidade nutricional do arroz, que pode conter espécies essenciais ou contaminantes a saúde humana. O objetivo deste trabalho foi propor um procedimento de digestão com HNO<sub>3</sub> diluído empregando forno de micro-ondas com cavidade para determinação de macro, micro e elementos traço (As, Ca, Cd, Fe, K, Mg, Mn, Mo, P, Se, Zn) em amostras de arroz por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) e espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS). Foi realizado um planejamento fatorial 3<sup>2</sup> e Box-Behnken e as variáveis investigadas foram: volume de HNO<sub>3</sub> destilado, temperatura e tempo, ambos no último patamar do programa de aquecimento. As condições otimizadas foram 2 mL de HNO<sub>3</sub> e temperatura de 200 °C durante o tempo de 20 minutos. O volume de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30%, a massa e a granulometria da amostra foram fixados em 1,0 mL, 250 mg e 500 µm, respectivamente. A exatidão foi avaliada com o material de referência certificado NIST 1568a e do teste de recuperação para os analitos investigados, que variaram entre 80,1 e 102,1 % e 96,6 e 109,8 %, respectivamente. A precisão foi verificada pelo desvio padrão relativo, sendo sempre inferior a 10%, inclusive no teste de repetitividade. O procedimento proposto foi aplicado na determinação dos elementos em 23 amostras de arroz submetidas a três tipos de processamentos (polido, parboilizado e integral). As faixas de concentração para os elementos traço, em µg g<sup>-1</sup>, foram: Al (<2,4-15,3); As (<0,2-0,32); Cd (<0,004–0,017); Cu (0,2-2,2); Fe (<0,2-17,4); Mn (2,8-34,9); Mo (<0,20-0,81); Se (<0,2-0,271) e Zn (4,8-14,9). De modo geral, os resultados obtidos encontram-se concordantes com as faixas de concentração descritas na literatura.

**Palavras-chave:** arroz, ácidos diluídos, preparo de amostras, radiação micro-ondas

## ABSTRACT

The rice (*Oryza sativa*) is one of the most produced and consumed cereal, and the staple on the diet of over half the world's population. Acid digestion microwave-assisted radiation using diluted acids has been used mainly for reducing the acid concentration maintaining the efficiency of digestion, generating lesser volume of waste and reducing the dilution factor prior to analysis. The determination of the levels of nutrients is of great relevance due to the nutritional capacity of rice, which can contain species essential or contaminants to human health. The objective of this study was to propose a procedure employing digestion with diluted HNO<sub>3</sub> in a microwave oven for determination of macro, micro and trace elements (As, Ca, Cd, Fe, K, Mg, Mn, Mo, P, Se, Zn) in rice samples by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES) and inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). We conducted factorial design 3<sup>2</sup> and Box-Behnken and the variables investigated were: volume of HNO<sub>3</sub>, temperature and time, both in the final phase of the heating program. The optimized conditions were 2 ml of HNO<sub>3</sub>, 200 ° C for a period of 20 minutes. The volume of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30%, weight and size of the sample were fixed in 1.0 mL, 250 mg e 500 μm, respectively. The accuracy was evaluated with the certified reference material NIST 1568a and recovery test for the elements investigated, which ranged between 80.1-102.1 % and 96.6 – 109.8 %, respectively. Accuracy was verified by the relative standard deviation, always less than 10%, including the test repeatability. The procedure was applied to the determination of elements in 23 rice samples subjected to three types of processing (white, parboiled and brown). The concentration ranges, in μg g<sup>-1</sup>, for the analytes were: Al (<2.4-15.3); As (<0.2-0.32); Cd (<0.004–0.017); Cu (0.2-2.2); Fe (<0.2-17.4); Mn (2.8-34.9); Mo (<0.20-0.81); Se (<0.2-0.271) e Zn (4.8-14.9). In general, the results obtained are in agreement with the concentration ranges described in the literature.

**Keywords:** rice, diluted acids, sample preparation, microwave radiation



## LISTA DE FIGURAS

Figura 01. Representação de um grão de arroz (NITZKE E BIEDRYCKI, 2012). .....	14
Figura 02. Corte longitudinal do grão de arroz (NITZKE E BIEDRYCKI, 2012).....	15
Figura 03. Representação do aprisionamento dos nutrientes no arroz parboilizado polido (TEIXEIRA, 2010). .....	16
Figura 04. Esquema simplificado das formas de aquecimento condutivo e por micro-ondas (KRUG e colaboradores, 2008). .....	18
Figura 05. Representação das reações envolvidas na digestão com ácidos diluídos (CASTRO, 2007). .....	20
Figura 06. Gráfico de Pareto para resposta múltipla do planejamento fatorial completo. ....	35
Figura 07. Gráfico de Pareto para resposta múltipla do planejamento Box-Behnken. ....	39
Figura 08. Superfície de Resposta para resposta múltipla do planejamento Box-Behnken. ....	39
Figura 09. Teor de carbono residual nas soluções resultantes dos experimentos do planejamento Box-Behnken.....	40
Figura 10. Concentração média ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) dos analitos nos três tipos de arroz estudados.....	51

## LISTA DE TABELAS

Tabela 01. Procedimentos e técnicas empregados para determinação elementar em amostras de arroz.....	25
Tabela 02. Identificação das amostras de arroz.....	28
Tabela 03. Programa de aquecimento do procedimento de referência (TEIXEIRA, 2010). .....	29
Tabela 04. Programa de aquecimento para o procedimento de digestão assistida por micro-ondas no planejamento fatorial.....	30
Tabela 05. Programa de aquecimento do procedimento proposto.....	31
Tabela 06. Parâmetros instrumentais e comprimento de onda nas determinações por ICP OES.....	32
Tabela 07. Parâmetros instrumentais e isótopos utilizados nas determinações por ICP-MS.....	33
Tabela 08. Matriz do planejamento fatorial completo e resposta dos analitos e da resposta múltipla, em percentagem de recuperação.....	36
Tabela 09. Matriz do planejamento fatorial desenho Box-Behnken para otimização multivariada de digestão de amostras de arroz.....	37
Tabela 10. Resultado do planejamento fatorial Box-Bhenken, em percentagem de recuperação e resposta múltipla, para digestão de amostras de arroz por micro-ondas com cavidade.....	38
Tabela 14. Limites de detecção e quantificação para as determinações por ICP OES e ICP-MS.....	42
Tabela 15. Curvas analíticas das amostras para o ICP OES e ICP-MS.....	43
Tabela 11. Comparação dos valores certificados e obtidos para CRM NIST 1568a determinados por ICP OES.....	44
Tabela 12. Comparação dos valores certificados e obtidos para SRM 1568a determinados por ICP-MS.....	45

Tabela 13. Resultados ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) do teste de repetitividade para determinações por ICP OES e ICP MS.....	46
Tabela 16. Resultados ( $\text{mg L}^{-1}$ ) do teste de recuperação dos elementos Al, Fe, Mn e Zn para determinação por ICP OES.....	48
Tabela 17. Resultados ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) do teste de recuperação dos elementos As, Mo e Se para determinação por ICP-MS. ....	48
Tabela 18. Razão entre os coeficientes angulares da curva analítica no meio da matriz e meio ácido. ....	49
Tabela 19. Concentração de Al, Cu, Fe, Mn e Zn ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) ( $n=3 \pm s$ ) nas amostras de arroz determinadas por ICP OES. ....	52
Tabela 20. Concentração de Ca, K, Mg e P ( $\text{mg g}^{-1}$ ) ( $n=3 \pm s$ ) nas amostras de arroz determinadas por ICP OES. ....	53
Tabela 21. Concentração de As, Cd, Mo e Se ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) ( $n=3 \pm s$ ) nas amostras de arroz determinadas por ICP-MS. ....	54
Tabela 22. Intervalo de concentração ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) de macro, micro e elementos traços em amostras de arroz.....	55
Tabela 23. Intervalo de concentração ( $\text{mg g}^{-1}$ ) de macro elementos em amostras de arroz. ....	55
Tabela 24. Teor de nutrientes inorgânicos ( $\text{mg } 100\text{g}^{-1}$ ) em amostras arroz declarados na literatura. Continua. ....	56
Tabela 25. Continuação. Teor de nutrientes inorgânicos ( $\text{mg } 100\text{g}^{-1}$ ) em amostras arroz declarados na literatura.....	57
Tabela 26. Concentração ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) de contaminantes inorgânicos em alimentos permitidos pela ANVISA. ....	58
Tabela 27. Concentrações de ingestão diária recomendada (IDR) e o limite máximo (LM) tolerado para cada analito.....	59

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AOAC	Do inglês American Association of Official Analytical Chemist
CRM	Do inglês Certified Reference Material (Material de Referência Certificado)
EDXRF	Do inglês: Energy Dispersive X-Ray Fluorescence (Fluorescência de Raios X de Energia Dispersiva)
F AAS	Do inglês: Flame Atomic Absorption Spectrometry (Espectrometria de Absorção Atômica com Chama)
GF AAS	Do inglês: Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry (Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite)
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ICP-MS	Do inglês: Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (Espectrometria de Massas com Plasma Indutivamente Acoplado)
ICP OES	Do inglês: Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado)
ICP-SF-MS	Do inglês Inductively Coupled Plasma Sector Field Mass Spectrometry
IDR	Ingestão Diária Recomendada
LMT	Limite Máximo Tolerado
LOD	Do inglês: Limit of Detection (Limite de Detecção)
LOQ	Do inglês: Limit of Quantification (Limite de Quantificação)
RSD	Do inglês: Relative Standard Deviation (Desvio Padrão Relativo)
RSM	Do inglês Response Surface Methodology (Metodologia de Superfície de Resposta)
WHO	Do inglês World Health Organization (Organização Mundial de Saúde)

# SUMÁRIO

RESUMO.....	5
ABSTRACT.....	6
LISTA DE FIGURAS.....	7
LISTA DE TABELAS.....	8
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	10
1. INTRODUÇÃO.....	13
1.1. Processamento do arroz.....	14
1.2. Digestão com ácidos diluídos e radiação micro-ondas.....	17
1.3. Planejamento experimental .....	21
1.4. Determinação de macro, micro e elementos traço em arroz.....	23
1.5. Objetivos.....	26
1.5.1. Objetivo geral.....	26
1.5.2. Objetivos específicos.....	26
2. EXPERIMENTAL.....	27
2.1. Reagentes e amostras.....	27
2.2. Equipamentos.....	28
2.3. Procedimentos experimentais.....	29
2.3.1. Procedimento de otimização.....	29
2.3.2. Validação do procedimento proposto.....	30
2.3.3. Digestão das amostras.....	30
2.4. Determinação dos analitos.....	31
2.4.1. Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP OES).....	31

2.4.2. Espectrometria de Massas com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-MS).....	33
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	34
3.1. Otimização multivariada.....	34
3.2. Validação do procedimento proposto.....	41
3.2.1. Limite de detecção e quantificação.....	41
3.2.2. Linearidade e faixa dinâmica linear.....	42
3.2.3. Exatidão.....	43
3.2.4. Precisão.....	45
3.2.5. Teste de recuperação.....	46
3.2.6. Efeito de matriz.....	47
3.3. Aplicação.....	50
4. CONCLUSÕES.....	61
5. REFERÊNCIAS.....	63

# 1. INTRODUÇÃO

Os grãos de cereais constituem uma fonte valiosa de proteínas para a alimentação humana. Dentre os cereais mais consumidos nas antigas e modernas civilizações destacam-se o arroz, a aveia, a cevada, o centeio, o milho e o trigo (TEIXEIRA, 2010).

O arroz (*Oryza sativa*) é uma excelente fonte de energia, devido à alta concentração de amido, fornecendo também proteínas, vitaminas e minerais, e possui baixo teor de lipídios. Devido à importância do arroz na dieta de grande parte da população, sua qualidade nutricional afeta diretamente a saúde humana (WALTER; MARCHEZAN e AVILA, 2008; VIEIRA e colaboradores, 2008).

O arroz pode ser utilizado para consumo humano em diversas formas: arroz em grãos (polido, parboilizado e integral); amido, alimentos infantis, óleo e farinha comercial de arroz, entre outros. Apenas uma pequena quantidade de arroz é consumida como ingrediente em produtos processados, sendo seu maior consumo na forma de grão. Os mais consumidos são, em ordem decrescente, o polido, o parboilizado e o integral. Entretanto, o consumo de arroz integral vem crescendo devido ao estímulo dado através de recomendações relacionadas a seu maior benefício para uma dieta mais saudável (WALTER; MARCHEZAN e AVILA, 2008; VIEIRA e colaboradores, 2008; OKADA e colaboradores, 2007).

Os minerais são amplamente difundidos na natureza em diferentes formas. A inalação e ingestão são as principais maneiras de entrarem no organismo humano. Os elementos químicos estão classificados de acordo com sua importância na saúde humana em: indispensáveis (necessários em grande quantidade como Ca, K, Na e Mg); essenciais (necessários às funções fisiológicas, mas em concentrações elevadas podem se tornar tóxicos como o Fe, Co, Mn e Zn); e não essenciais ou tóxicos (não tem função conhecida como Cd, Hg e Pb) (LEAL e colaboradores, 2009). Devido a essas diferenças é importante o desenvolvimento de métodos simples e eficientes para determinação de elementos traço.

A determinação dos teores de nutrientes, em vários níveis de concentração, em alimentos é de grande relevância devido à capacidade nutricional dos mesmos, e

que nestas podem conter espécies essenciais ou contaminantes a saúde humana. Para a realização de uma análise química, é necessário um tratamento adequado da amostra. Normalmente, é realizado um procedimento de digestão, no qual se busca simplicidade, rapidez, utilizar pequenos volumes de ácidos, permitir a dissolução de grande número de amostras e, finalmente, produzir resultados precisos e exatos (ARRUDA E SANTELL, 1997).

## 1.1. PROCESSAMENTO DO ARROZ

O arroz é um dos cereais mais produzidos e consumidos, sendo um principal alimento para mais da metade da população mundial, pois está presente na dieta de vários seres humanos (OKADA e colaboradores, 2007). Seu elevado consumo pode ser atribuído por se tratar de um alimento de baixo custo, de rápido e fácil preparo e bastante versátil, podendo ser utilizado na preparação ou acompanhamento de diversos tipos de pratos.

O arroz é uma planta pertencente à Família *Oryzae*. A espécie *Oryza sativa L.* é uma cultura extremamente versátil que se adapta a diferentes condições de solo, seja em terrenos secos ou alagados, com água corrente ou parada, em argila, pântanos ou em areia e em diferentes condições de clima, desde zonas tropicais a zonas temperadas. Entretanto, o maior sucesso na produção do grão desse cereal ocorre em regiões com água em abundância, seja de chuva, de inundações ou de irrigação (TEIXEIRA, 2010). A estrutura de um grão de arroz está representada nas Figuras 01 e 02.

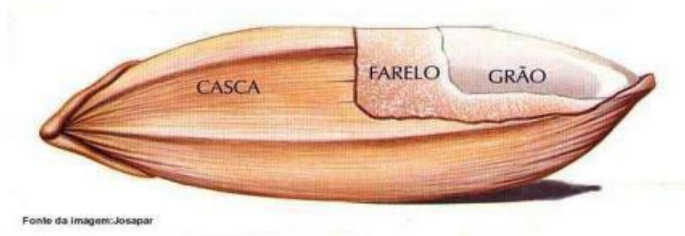


Figura 01. Representação de um grão de arroz (NITZKE E BIEDRYCKI, 2012).



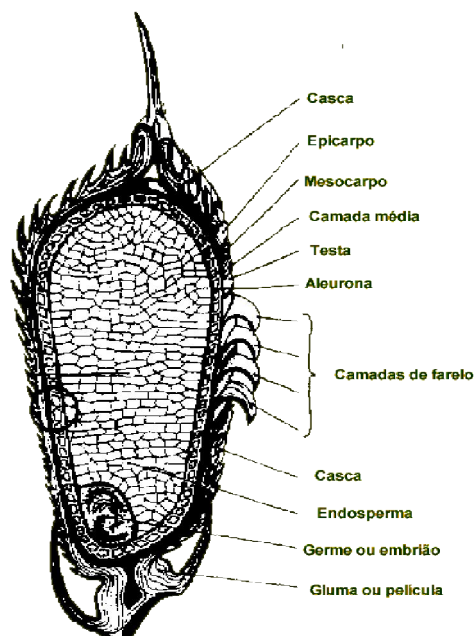


Figura 02. Corte longitudinal do grão de arroz (NITZKE E BIEDRYCKI, 2012).

Os grãos de arroz são submetidos a diferentes processos (polimento, parboilização ou apenas a retirada da casca) para que esteja na forma adequada para ser adquirido pelo consumidor (STORCK; SILVA e COMARELLA, 2005; TEIXEIRA, 2010; NITZKE E BIEDRYCKI, 2012).

O processamento se inicia com o descascamento, neste separa-se a casca do resto do grão, obtendo-se o arroz integral. Recomenda-se que este processo não seja realizado logo após a colheita e secagem do grão, pois várias pesquisas (NITZKE E BIEDRYCKI, 2012) têm demonstrado que o comportamento do arroz, tanto no processamento quanto no cozimento, melhora com a armazenagem. Algumas das vantagens são: maior absorção de água, menor tendência a aglomerar-se após o cozimento e uma menor perda de sólidos durante o cozimento.

Após essa etapa, os grãos podem ser submetidos ao polimento, para obtenção do arroz polido ou branco, neste processo retira-se uma parte da camada escura chamada de farelo. Esta etapa tem o objetivo de melhorar a aparência e o gosto do arroz. No entanto, como as camadas externas são as que apresentam maiores quantidades de proteínas, lipídios, fibra, minerais e vitaminas e o centro do grão é rico em amido, o polimento apresenta a desvantagem da redução do teor de

nutrientes, exceto de amido. Quanto maior a intensidade do polimento, maior número de camadas são perdidas, resultando em uma maior perda de nutrientes.

A parboilização, termo derivado da expressão em inglês: parboiled = partial (parcial) + boiled (cozido), também denominado de pré-cozimento (TEIXEIRA, 2010), foi criado para aumentar a renda do beneficiamento, pois reduz a adesividade do arroz no cozimento, esteriliza o grão, aumenta a vida na prateleira e aprisiona minerais e vitaminas, como representado na Figura 03. Esta etapa, que ocorre antes do descascamento, envolve o encharcamento do grão (o suficiente para gelatinizar o amido), em seguida um resfriamento e uma lenta secagem, o que reduz a ocorrência de grãos quebrados durante o polimento.



Figura 03. Representação do aprisionamento dos nutrientes no arroz parboilizado polido (TEIXEIRA, 2010).

Esses processos podem causar variações nas concentrações de nutrientes afetando o conteúdo deste alimento. Por isso o arroz integral contém maior teor de alguns nutrientes quando comparado ao polido e ao parboilizado.

## 1.2. DIGESTÃO COM ÁCIDOS DILUÍDOS E RADIAÇÃO MICRO-ONDAS

As análises por técnicas espectrométricas são amplamente utilizadas para a quantificação do teor de diversos elementos, e, para tal geralmente é requerido a inserção da amostra na forma de uma solução líquida. Para atender a esta exigência, amostras sólidas são submetidas à decomposição total ou parcial a partir do ataque ácido associado a diferentes fontes de energia (NOBREGA e colaboradores, 2009; KORN e colaboradores, 2009). Um método ideal de digestão de amostras deve ser simples, rápido, gerar resultados precisos e exatos, consumir pouco reagente e ser aplicável a muitas amostras (ARRUDA E SANTELLI, 1997).

Dois procedimentos são geralmente empregados para a preparação de amostras: a decomposição por via seca e por via úmida. De modo geral, os procedimentos de degradação da matéria orgânica consomem cerca de 70 a 95% de todo o processo analítico e estão sujeitos a perdas do analito e/ou contaminações (ARRUDA E SANTELLI, 1997, KORN e colaboradores, 2009).

Normalmente, a decomposição de material orgânico por via úmida implica no aquecimento da amostra na presença de um ácido mineral oxidante, sendo o  $\text{HNO}_3$  o mais utilizado, ou de misturas de ácidos oxidantes ou mistura de um ácido oxidante com um oxidante auxiliar (peróxido de hidrogênio).

O tratamento de amostras utilizando o aquecimento por radiação micro-ondas é um processo mais rápido, eficiente e seguro em comparação ao aquecimento condutivo. Isso se deve ao fato da radiação micro-ondas (onda eletromagnética) ser absorvida diretamente por todas as moléculas da solução, provocando movimentos rotacionais, alcançando assim uma temperatura elevada muito rapidamente, sem o aquecimento do frasco. Por sua vez, no aquecimento condutivo, como o próprio nome sugere, a transferência de calor ocorre por condução, levando assim um tempo maior para alcançar a temperatura desejada (SKOOG e colaboradores, 2006; KRUG e colaboradores, 2008). A Figura 04 apresenta o esquema simplificado para as diferentes formas de aquecimento.

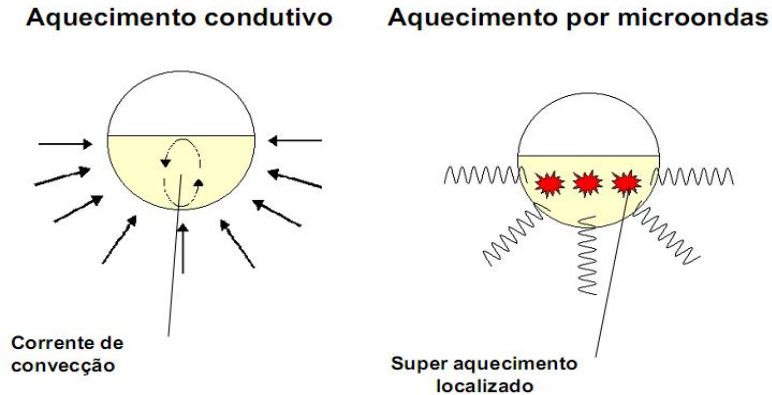


Figura 04. Esquema simplificado das formas de aquecimento condutivo e por micro-ondas (KRUG e colaboradores, 2008).

A radiação micro-ondas é composta de ondas eletromagnéticas (propagadoras de energia), que cobrem uma faixa de frequências no espectro que varia entre 300 e 3.000 MHz. Os fornos de micro-ondas de uso doméstico ou para laboratórios, empregam micro-ondas com frequência de 2.450 MHz, e a potência gerada, normalmente, é superior a 600 W. Em alguns equipamentos pode alcançar 1.400 W, o que significa um fornecimento de até  $20.076 \text{ cal min}^{-1}$  ( $1 \text{ kW} = 239 \text{ cal s}^{-1}$ ) (SANTOS, 2008; KRUG e colaboradores, 2008). No aquecimento por micro-ondas ocorre a interação da radiação com os íons dissolvidos e com os solventes, provocando os fenômenos de migração iônica e rotação de dipolos.

A migração iônica consiste no movimento eletroforético dos íons dissolvidos em solução. O campo elétrico oscilante produzido pelas micro-ondas promove o deslocamento dos íons dissolvidos em direção aos polos com cargas opostas. Este deslocamento produz um fluxo de corrente cujo movimento sofre resistência causada pelas outras espécies com fluxo oposto ao deslocamento. Como consequência ao deslocamento ocorre a produção de calor elevando a temperatura da solução. Já o fenômeno da rotação de dipolos corresponde ao efeito do campo elétrico oscilante das micro-ondas sobre as moléculas que possuem momento dipolar induzido ou permanente. Como as ondas eletromagnéticas geram campos elétricos positivos e negativos alternados, isso causa desordem e agitação das moléculas dipolares, logo a energia absorvida para o realinhamento das moléculas é transformada em calor (KRUG e colaboradores, 2008).

A etapa de preparo da amostra deve ser tornar mais fácil, mais barata e mais rápida de acordo com as tendências da química verde (NOBREGA e colaboradores, 2009). Segundo Prado (2003) a química verde visa “A criação, o desenvolvimento e a aplicação de produtos e processos químicos para reduzir ou eliminar o uso e a geração de substâncias tóxicas”, ou seja, o desenvolvimento de uma química sustentável, que busca a diminuição os danos causados ao meio ambiente. Os produtos ou processos da química verde podem ser divididos em três grandes categorias: 1) o uso de fontes renováveis ou recicladas de matéria-prima; 2) aumento da eficiência de energia, ou a utilização de menos energia para produzir a mesma ou maior quantidade de produto; 3) evitar o uso de substâncias persistentes, bioacumulativas e tóxicas (LENARDÃO, 2003).

Essas categorias resultaram em 12 princípios da química verde, que são: 1) prevenção; 2) economia de átomos; 3) síntese de produtos menos perigosos e com menor toxicidade; 4) desenvolvimento de produtos seguros; 5) diminuição de solventes e auxiliares; 6) busca pela eficiência energética; 7) uso de fontes renováveis de matéria-prima; 8) evitar a formação de derivados; 9) catálise; 10) desenvolvimento de compostos para degradação; 11) análise em tempo real para a prevenção da poluição; 12) química intrinsecamente segura para a prevenção de acidentes (LENARDÃO, 2003; PRADO, 2003).

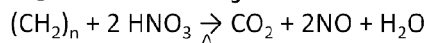
A digestão ácida assistida por radiação micro-ondas vem sendo bastante utilizada no preparo de amostras, principalmente, por permitir elevadas temperatura e pressão em sistema fechado, além de ter como vantagens a utilização de volumes pequenos de reagentes, minimização de perda de elementos voláteis, redução dos valores dos brancos analíticos e redução do tempo de decomposição (NOBREGA e colaboradores, 2002), que são problemas encontrados nos procedimentos convencionais (decomposição por via seca ou por via úmida com aquecimento condutivo) (ARRUDA E SANTELLI, 1997).

Com isso, é possível reduzir a concentração ácida mantendo a eficiência da digestão, gerando menor volume de resíduo e diminuindo o fator de diluição antes da análise (NOBREGA e colaboradores, 2010). Geralmente, são utilizados ácidos concentrados, contudo, alguns estudos demonstram que, em determinados casos é possível obter uma decomposição satisfatória com o uso de ácido nítrico diluído (NOBREGA e colaboradores, 2010; COSTA e colaboradores, 2006). Segundo Krug e

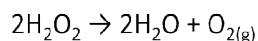
colaboradores (2008), é possível realizar uma decomposição satisfatória utilizando entre 0,4 e 2,0 mL de ácido por 200 mg de amostra, dependendo do teor de carbono.

A redução no volume do ácido no preparo da amostra torna-se atrativa por diversos fatores dentre eles: minimização de resíduos gerados e redução de custos, fatores que vão de encontro aos princípios da química verde; e digeridos com acidez residual menor, mais apropriado para a análise espectrométrica. Outro fator importante é o favorecimento da reação de decomposição a partir da regeneração do ácido nítrico dentro do frasco de reação, conforme representado na Figura 05, provocando o aumento da pressão do no frasco de reação e, por consequente, o aumento da temperatura de ebulição da mistura e a elevação do seu potencial oxidante (KRUG e colaboradores, 2008; KORN e colaboradores, 2009; BIZZI e colaboradores, 2011).

**Digestão com HNO<sub>3</sub> diluído**



**Oxidante auxiliar**



**Regeneração do reagente**

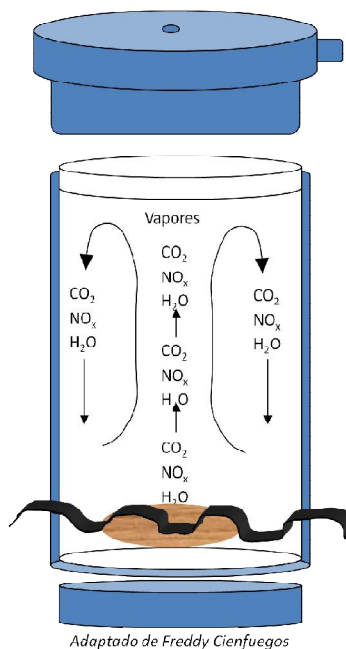
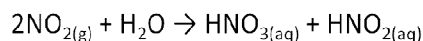
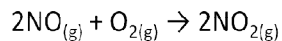


Figura 05. Representação das reações envolvidas na digestão com ácidos diluídos (CASTRO, 2007).

### 1.3. PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

Na otimização de um procedimento analítico é necessário ajustar muitas variáveis, como tempo, temperatura, concentração e/ou volume de reagentes, a fim de estabelecer as melhores condições para a análise ou decomposição da amostra. Caso seja realizada uma otimização univariada convencional, este processo pode consumir muito tempo, trabalho e reagentes, além de negligenciar as interações entre os diferentes fatores que podem afetar os resultados (BEZZERA, 2003; LOPES e colaboradores, 2009).

No planejamento de experimentos baseado em princípios estatísticos, os pesquisadores podem extrair o máximo de informação útil, fazendo um reduzido número de experimentos, atingindo seu objetivo mais rapidamente e com menor custo (BARROS NETO; SCARMINIO e BRUNS, 2001). Nos últimos anos, procedimentos envolvendo otimização por técnicas multivariadas vem sendo muito utilizados no desenvolvimento de métodos analíticos, o que permite a otimização de diversas variáveis simultaneamente (BEZZERA, 2003; LOPES e colaboradores, 2009).

Segundo Cunico e colaboradores (2008), planejar experimentos é definir uma sequência de coletas de dados experimentais para atingir certos objetivos. Dentre os métodos de planejamento experimentais disponíveis na literatura, o planejamento fatorial é o mais indicado quando se deseja estudar os efeitos de duas ou mais variáveis de influência, e todas as combinações possíveis dos níveis de cada variável investigada.

O tipo de planejamento experimental a ser usado dependerá do objetivo que se deseja atingir com a experimentação. Vale ressaltar que, inicialmente, deve-se realizar uma triagem, e escolher apenas as variáveis significativas, para não perder tempo otimizando uma variável que não influenciará efetivamente no procedimento, e em seguida, são realizados experimentos para todas as combinações possíveis dos níveis selecionados.

Em um planejamento fatorial são investigadas as influências de todas as variáveis experimentais de interesse e os efeitos de interação nas respostas. Normalmente, no planejamento fatorial, os níveis das variáveis quantitativas, como

concentração, pH e temperatura, são costumeiramente codificados com os sinais (+) e (-), a atribuição aos níveis superiores ou inferiores, respectivamente, porém o que importa é a relação inicial entre o sinal dado e o efeito obtido. Estes sinais também permitem esquematizar estas variáveis na forma de matrizes de planejamento, assim como determinar, por meio de cálculos, a influência das mesmas e das suas interações no sistema os níveis. Para variáveis qualitativas, como tipos de ácidos e catalisadores, não existem valores altos ou baixos, fica a critério do experimentalista nomear os seus níveis (ALMEIDA, 2007; CUNICO e colaboradores, 2008).

Com a utilização do ponto central (nível zero) no experimento, no qual o valor médio dos níveis de todas as variáveis é empregado, é possível avaliar a significância dos efeitos ou coeficientes, tanto em planejamentos de triagem como em metodologias de superfície de resposta. Além desta vantagem, recomenda-se este tipo de experimento, pois, o risco de perder a relação não linear entre os intervalos é minimizado e é possível estimar um modelo razoável e verificar se há falta de ajuste (ALMEIDA, 2007).

O planejamento Box-Behnken é descrito como uma classe de projetos de experimentos fatoriais incompletos de 3 níveis para a estimativa de coeficientes em um polinômio de segundo grau. Estes projetos satisfazem aproximadamente o critério de rotatibilidade (SOUZA, 2002; FERREIRA e colaboradores, 2007). O desenho experimental, composto por 3 fatores, 3 níveis e 15 experimentos, é constituído por um conjunto de pontos que se encontram no ponto médio de cada aresta e o ponto central replicados de um cubo multidimensional.

Comparando o planejamento Box-Behnken com outros modelos (matriz Doehlert, Pontos Centrais Compostos e Planejamento fatorial completo) o primeiro demonstrou ser ligeiramente mais eficiente e rápido, pois tem poucos ensaios, principalmente, quando comparado aos Pontos Centrais Compostos (SOUZA, 2002; FERREIRA e colaboradores, 2007). Outra vantagem do Box-Behnken é que ele não contém combinações nas quais todos os fatores estão simultaneamente nos seus níveis mais altos ou mais baixos. Logo, esses planejamentos são úteis para evitar experimentos realizados em condições extremas, evitando a ocorrência de resultados insatisfatórios (FERREIRA e colaboradores, 2007).



A Metodologia de Superfície de Resposta (RSM) é uma técnica de otimização baseada em planejamentos fatoriais que tem duas etapas distintas (modelagem e deslocamento) que devem ser repetidas tantas vezes forem necessárias, com o objetivo de atingir uma região ótima (máximo ou mínimo) da superfície estudada (BARROS NETO; SCARMINIO e BRUNS, 2001).

Para aplicar a RSM, são realizados experimentos fatoriais, cujos resultados são ajustados a modelos matemáticos. A modelagem normalmente é feita ajustando-se os modelos mais simples, como o linear e o quadrático. As superfícies representam uma boa maneira de ilustrar graficamente a relação entre diferentes variáveis experimentais e as respostas, oferecendo valiosas informações sob o comportamento das variáveis na região estudada (BARROS NETO; SCARMINIO e BRUNS, 2001; BEZZERA, 2003; ALMEIDA, 2007).

#### **1.4. DETERMINAÇÃO DE MACRO, MICRO E ELEMENTOS TRAÇO EM ARROZ**

O arroz representa um dos alimentos mais importantes no mundo, pois é o produto de base alimentar para mais de mil milhões de seres humanos. O consumo nacional deste alimento é elevado e é necessário propor estratégias para avaliar a composição nutricional de forma a contribuir para a Tabela de composição dos alimentos. Além disso, com o uso constante de fertilizantes e agrotóxicos é necessário determinar também a concentração de elementos não essenciais de forma a garantir a qualidade e preservar a saúde dos consumidores.

Heinemann e colaboradores (2005) apresentou a composição química do arroz branco, parboilizado e integral, comercializados no Brasil, e a contribuição dos minerais na ingestão diária recomendada em cada um dos tipos de arroz. O tratamento da amostra foi realizado de acordo com o método padrão da AOAC, que consiste na incineração da amostra em forno mufla. Apesar deste ser um procedimento de referência e ter como vantagens a simplicidade e o baixo custo, apresenta desvantagens quando comparado a outros procedimentos mais atuais como: perdas de voláteis; alto risco de contaminação; baixa frequência de análise e algumas cinzas são de difícil dissolução.

Teixeira (2010) investigou um método alternativo no qual a determinação P, Mn e Zn foram realizadas na amostra sólida por espectrometria de fluorescência de raios X de energia dispersiva, dispensando assim a etapa de decomposição da amostra. Os resultados obtidos utilizando o procedimento proposto foram comparados com encontrados quando as amostras foram submetidas a procedimento de digestão assistida por radiação micro-ondas, que utiliza 250 mg de amostra, 7,0 mL de HNO<sub>3</sub> concentrado e 1,0 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> concentrado. Avaliou-se a calibração com pastilhas de arroz tornadas padrões mediante caracterização por digestão em forno de micro-ondas e quantificação dos analitos por ICP OES e ICP-MS. Para avaliar a exatidão do procedimento proposto foram analisadas cinco pastilhas preparadas com a amostra certificada de farinha de arroz (1568a NIST) e não foi verificada diferença significativa entre os valores certificados e obtidos ao nível de confiança de 95% (TEIXEIRA e colaboradores, 2012).

Mihucz e colaboradores (2010) investigou a remoção de elementos traços de amostras de arroz para determinação de As, Cd, Cu, Mn, Ni, Ti e Zn por Inductively Coupled Plasma Sector Field Mass Spectrometry (ICP-SF-MS). Para a digestão em forno de micro-ondas com cavidade utilizou-se H<sub>2</sub>O, HNO<sub>3</sub> e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> na proporção de 1:5:1. Foram comparados os resultados obtidos nas amostras que passaram por etapas de pré-tratamento como lavagem e cozimento, com a finalidade de avaliar a possível perda de elementos durante a prática culinária.

Em trabalho recente, Oliveira e colaboradores (2012) desenvolveram um método de extração de metais utilizando uma solução de EDTA amoniacal e ultrassom, para determinação de Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, P e Zn por ICP OES. Para validar o procedimento proposto, esse foi comparado com o procedimento de decomposição assistido por radiação micro-ondas. A digestão ácida foi realizada com 0,25 g da amostra, em seguida, adição de 4 mL de HNO<sub>3</sub> 65%, 1 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30% e 3 mL de água ultrapura. O procedimento de extração proposto foi adequado para determinação dos analitos em amostras de 3 tipos de arroz (integral, paraboilizado e agulhinha), com exceção do Fe.

Algumas aplicações dos procedimentos e técnicas relacionadas ao preparo de amostras e a determinação de macro, micro e elementos traço em amostras de arroz estão apresentados na Tabela 01.

Tabela 01. Procedimentos e técnicas empregados para determinação elementar em amostras de arroz.

<b>Analito</b>	<b>Preparo da amostra</b>	<b>Técnica de determinação</b>	<b>Referência</b>
As, Cd, Cu Fe, Pb e Zn	Digestão com HNO <sub>3</sub> em forno micro-ondas	GF AAS	NRIAGU E LIN, 1995
As, Cu, Mn, Ni, Se e Zn	Digestão com HNO <sub>3</sub> em forno micro-ondas	ICP-MS	ROYCHOWDHURY; TOKUNAGA E MASANORI, 2003
Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P, Se e Zn	Calcinação	ICP - OES	HEINEMANN e colaboradores, 2005
Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P, Zn	Digestão com HCl em placa de aquecimento	ICP - OES	OKADA e colaboradores, 2007
Al, Ca, Cd, Co, Cu, Fe, I, K, Mg, Mn, Na, Ni, P, S, Si, Se e Zn	Não especificado	Não especificado	WALTER; MARCHEZAN e AVILA, 2008
As, Cd e Pb	Calcinação e digestão com HNO <sub>3</sub> em forno micro-ondas	GF AAS e ICP-MS	JORHEM e colaboradores, 2008
Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na e Zn	Calcinação	ICP-MS	JIANG e colaboradores, 2008
Al, As, Br, Ca, Cd, Cl, Fe, Hg, K, Mg, Mn e Zn	Lavagem, secagem da amostra em estufa e moagem	GF AAS e INAA	PARENGAM e colaboradores, 2010
P, Mn e Zn	Moagem e digestão com HNO <sub>3</sub> em forno micro-ondas	FAAS, ICP OES, ICP-MS e EDXRF	TEIXEIRA, 2010
As, Cd, Cu, Mn, Ni, Ti e Zn	Liofilização ou fervura ou moagem e digestão com HNO <sub>3</sub> em forno micro-ondas	ICP-SF-MS	MIHUCZ e colaboradores, 2010
As	Digestão com HNO <sub>3</sub> em forno micro-ondas	ICP-MS	BATISTA e colaboradores, 2011
Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, P e Zn	Extração com EDTA e digestão com HNO <sub>3</sub> em forno de micro-ondas	ICP OES	OLIVEIRA e colaboradores, 2012

## **1.5. OBJETIVOS**

### **1.5.1. OBJETIVO GERAL**

Propor um procedimento analítico de digestão assistida por radiação micro-ondas com ácido nítrico diluído para posterior determinação de macro, micro e elementos traço em amostras de arroz de forma a traçar um perfil para os diferentes tipos de processamento.

### **1.5.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Realizar um planejamento fatorial de experimentos no processo de otimização multivariada do procedimento de digestão.
- Estabelecer as melhores condições para digestão assistida por radiação micro-ondas com ácido nítrico diluído.
- Validar o procedimento analítico proposto.
- Aplicar o procedimento proposto em diversas amostras de arroz comercializadas em Salvador, Bahia.
- Contribuir para tabela de composição mineral do arroz, a nível regional.

## 2. EXPERIMENTAL

### 2.1. REAGENTES E AMOSTRAS

Para os procedimentos analíticos, todas as vidrarias, frascos plásticos e materiais em geral foram lavados com detergente neutro e, em seguida, foram submersos em solução de HNO<sub>3</sub> 10%, por no mínimo 12 h para descontaminação. Posteriormente, os materiais foram lavados com água deionizada por três vezes.

As soluções utilizadas foram preparadas a partir de reagentes analíticos com alto grau de pureza e as diluições feitas com água ultrapura com resistividade específica de 18,2 MΩ cm, de um sistema de purificação Milli-Q (Millipore, Bedford, MA, USA).

Nas digestões em forno de micro-ondas com cavidade foi utilizado ácido nítrico destilado 16 mol L<sup>-1</sup> (Merck, Alemanha) e peróxido de hidrogênio 30 % (Merck, Alemanha).

Para a avaliação da concentração dos analitos foram preparadas soluções multielementares, sendo: 50 mg L<sup>-1</sup> para os elementos Al, Cu, Fe, Mn e Zn, a partir da diluição das soluções padrão de 1.000 ou 4.000 mg L<sup>-1</sup> de cada elemento (Specsol, Brasil); de 500 mg L<sup>-1</sup> para os macro elementos K, Ca, Mg e P, partir da diluição das soluções padrão de 4.000 ou 10.000 mg L<sup>-1</sup> de cada elemento (Specsol, Brasil) e 500 μg L<sup>-1</sup> para os elementos traço As, Cd, Mo e Se, partir da diluição das soluções padrão de 1.000 mg L<sup>-1</sup> de cada elemento (Specsol, Brasil). Para a determinação do carbono residual foi preparada uma solução estoque 5000 mg L<sup>-1</sup> de carbono a partir de ácido cítrico monohidratado (Merck, Alemanha). Estas soluções foram utilizadas para o preparo das curvas analíticas de calibração.

As amostras de arroz polido, parboilizado e integral foram adquiridas em supermercados de Salvador, Bahia, transportadas até o laboratório, onde foram trituradas por 5 minutos e peneiradas. Foram adquiridas 23 amostras de 13 fornecedores diferentes, sendo 8 amostras de arroz polido, 5 amostras de arroz integral e 10 amostras de arroz parboilizado. A identificação destas amostras está apresentada na Tabela 02. Para validação do procedimento proposto, foi usado o

material de referência certificado (CRM) de farinha de arroz 1568a NIST (National Institute of Standards and Technology).

Tabela 02. Identificação das amostras de arroz.

Arroz Branco		Arroz Integral		Arroz Parboilizado	
Código	Fornecedor	Código	Fornecedor	Código	Fornecedor
AB1	Fornecedor 1	AI1	Fornecedor 1	AP1	Fornecedor 1
AB2	Fornecedor 7	AI2	Fornecedor 2	AP2	Fornecedor 10
AB3	Fornecedor 8	AI3	Fornecedor 9	AP3	Fornecedor 11
AB4	Fornecedor 2	AI4	Fornecedor 3	AP4	Fornecedor 12
AB5	Fornecedor 3	AI5	Fornecedor 4	AP5	Fornecedor 2
AB6	Fornecedor 4			AP6	Fornecedor 6
AB7	Fornecedor 5			AP7	Fornecedor 4
AB8	Fornecedor 6			AP8	Fornecedor 5
				AP9	Fornecedor 3
				AP10	Fornecedor 13

## 2.2. EQUIPAMENTOS

A trituração das amostras foi realizada em moinho de bolas SPEX Sampleprep 800M MIXER/MILL, e peneiradas em malha de nylon 500 µm.

As digestões das amostras foram realizadas em forno de micro-ondas com cavidade Milestone, Start D (Bergamo, Itália), em frascos de perfluoralcoxi (PFA).

As análises multielementares foram realizadas em espectrômetro de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES), simultâneo, com visão axial VISTA PRO (Varian, Mulgrave, Austrália), com câmara de nebulização *Sturman-Master* e nebulizador *V-Groove* e em espectrômetro de massa com plasma indutivamente acoplado, modelo XSeriesII (Thermo Electron Corporation, Germany).

## 2.3. PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

### 2.3.1. PROCEDIMENTO DE OTIMIZAÇÃO

Para estabelecer o procedimento experimental de digestão de amostras de arroz por forno de micro-ondas com cavidade, foi realizado uma otimização multivariada utilizando planejamento fatorial a fim de comparar com o procedimento proposto por Teixeira (2010). Neste pesou-se 250 mg das amostras em pó, em seguida, adicionou-se 7 mL de HNO<sub>3</sub> concentrado e 1 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30%. As soluções digeridas foram diluídas para 20,0 mL com água ultrapura. O programa de aquecimento utilizado esta descrito na Tabela 03.

Tabela 03. Programa de aquecimento do procedimento de referência (TEIXEIRA, 2010).

<b>Etapa</b>	<b>Tempo (min)</b>	<b>T (°C)</b>	<b>Potência máxima (W)</b>	<b>Pressão (bar)</b>
1	4	90	500	35
2	2	90	500	35
3	8	180	750	35
4	15	180	750	35
Ventilação	10	-	0	-

De forma a possibilitar a utilização de uma única amostra em todos os experimentos, foi preparada e homogeneizada, conforme descrito o item 2.2, uma grande quantidade da amostra AB5. Foi utilizado do programa STATISTICA 6.0 para estabelecer o modelo experimental e a análise dos resultados.

Inicialmente foi feito um planejamento fatorial completo de dois níveis com três fatores (2<sup>3</sup>): temperatura (190, 200 e 210 °C) e tempo (15, 20 e 25 min), ambos no último patamar, e concentração de HNO<sub>3</sub> (2,0; 8,0; e 14,0 mL) e foram realizadas três réplicas no ponto central. O volume de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30%, massa e granulometria da amostra foram fixados em 1,0 mL, 250 mg e 500 µm, respectivamente. Na Tabela 04 está mostrado o programa de aquecimento utilizado neste experimento.

Tabela 04. Programa de aquecimento para o procedimento de digestão assistida por micro-ondas no planejamento fatorial.

<b>Etapa</b>	<b>Tempo (min)</b>	<b>T (°C)</b>	<b>Potência máxima (W)</b>	<b>Pressão (bar)</b>
1	4	90	750	35
2	2	90	750	35
3	10	*	1000	35
4	*	*	1000	35
Ventilação	10	-	0	-

Com a finalidade de obter os valores críticos da digestão foi realizado o planejamento tipo Box-Behnken, mantendo o mesmo programa de aquecimento, bem como os fatores de estudos e os níveis dos fatores tempo e temperatura do planejamento fatorial completo. Os níveis do fator concentração de ácido nítrico mudaram para 2,0; 4,5 e 7,0 mol L<sup>-1</sup>.

### **2.3.2. VALIDAÇÃO DO PROCEDIMENTO PROPOSTO**

Após a obtenção dos valores críticos para os fatores estudados na otimização multivariada, o procedimento proposto foi validado pela obtenção de alguns parâmetros de desempenho como: limite de detecção e de quantificação, precisão, exatidão, recuperação e repetitividade).

### **2.3.3. DIGESTÃO DAS AMOSTRAS**

As amostras foram digeridas em forno micro-ondas com cavidade conforme programa de aquecimento apresentado na Tabela 05. Para tal procedimento foi pesado, no frasco de PFA, aproximadamente, 250 mg da amostra triturada, em seguida, adicionou-se 2 mL de HNO<sub>3</sub> destilado, 5 mL de água ultrapura e 1 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30%. Todas as amostras foram digeridas em triplicata. Os brancos analíticos constituíram-se da mesma mistura, ácido nítrico, água e peróxido de hidrogênio, usada para decompor as amostras, submetida ao mesmo programa de



aquecimento, sem a presença da amostra. Ao final das digestões, as soluções resultantes foram diluídas com água ultrapura até um volume final de 15 mL.

Tabela 05. Programa de aquecimento do procedimento proposto.

<b>Etapa</b>	<b>Tempo (min)</b>	<b>T (°C)</b>	<b>Potência máxima (W)</b>	<b>Pressão (bar)</b>
1	4	90	750	35
2	2	90	750	35
3	10	200	1000	35
4	20	200	1000	35
Ventilação	10	-	0	-

## **2.4. DETERMINAÇÃO DOS ANALITOS**

### **2.4.1. ESPECTROMETRIA DE EMISSÃO ÓPTICA COM PLASMA INDUTIVAMENTE ACOPLADO (ICP OES)**

Para a determinação de micro e macro elementos nas amostras (Al, C, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, P e Zn) foi utilizado espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) simultâneo com visão axial. O sistema óptico do ICP OES foi calibrado com solução de referência multielementar e o alinhamento da tocha foi realizado com uma solução de Mn 5,0 mg L<sup>-1</sup>. As linhas espectrais foram selecionadas considerando as intensidades dos sinais de emissão, sensibilidade e ausência de interferências. Na Tabela 06 são listados os parâmetros instrumentais e os comprimentos de onda utilizados para determinação dos analitos.

Tabela 06. Parâmetros instrumentais e comprimento de onda nas determinações por ICP OES.

<b>Parâmetros instrumentais</b>			
Potência RF (kW)			1,3
Vazão do gás de nebulização (L min <sup>-1</sup> )			0,70
Vazão do gás auxiliar (L min <sup>-1</sup> )			1,5
Vazão do gás do plasma (L min <sup>-1</sup> )			15
Tempo de integração (s)			2,0
Tempo de estabilização (min)			15
Tempo de leitura (min)			1
Replicatas			3
Nebulizador			V-Groove
Câmara de Nebulização			Sturman-Master
<b>Elementos e respectivos comprimentos de onda</b>			
Elemento	Comprimentos de onda (nm)		
<b>Al</b>	<u>237,312</u>	396,152	167,019
<b>C</b>	<u>193,027</u>	175,122	247,856
<b>Ca</b>	393,366	<u>396,847</u>	422,673
<b>Cu</b>	213,598	324,754	<u>327,395</u>
<b>Fe</b>	234,350	<u>238,204</u>	259,940
<b>K</b>	404,721	<u>766,491</u>	769,897
<b>Mg</b>	279,553	280,270	<u>285,213</u>
<b>Mn</b>	<u>257,610</u>	259,372	260,568
<b>P</b>	177,434	178,222	<u>213,618</u>
<b>Zn</b>	202,548	<u>206,200</u>	213,857

## 2.4.2. ESPECTROMETRIA DE MASSAS COM PLASMA INDUTIVAMENTE ACOPLADO (ICP-MS)

Para a quantificação dos elementos traços nas amostras foi utilizado espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS). Os elementos selecionados para as determinações foram: As, Cd, Cr, Hg, Mo, Pb e Se. Não foi possível realizar as quantificações das espécies Cr, Hg e Pb, visto que suas concentrações encontravam-se abaixo do limite de quantificação tanto no CRM quanto nas amostras. Foi utilizado como padrão interno uma solução multielementar de Ge, Rh, Sc e Ti, pois estes elementos possuem características físico-químicas semelhantes às dos analitos (As, Cd, Mo e Se), permitindo assim corrigir erros associados às variações instrumentais.

Na Tabela 07 são listados os parâmetros instrumentais utilizados para determinação dos analitos.

Tabela 07. Parâmetros instrumentais e isótopos utilizados nas determinações por ICP-MS.

<b>Parâmetros Instrumentais</b>	
<b>Potência</b>	1350 W
<b>Fluxo de gás de nebulização</b>	0,87 L min <sup>-1</sup>
<b>Fluxo de gás do plasma</b>	13 L min <sup>-1</sup>
<b>Fluxo de gás auxiliar</b>	0,7 L min <sup>-1</sup>
<b>Modo análise</b>	Peak Jump
<b>Sweeps</b>	100
<b>Dwell time</b>	10 ms
<b>Isótopos</b>	<sup>75</sup> As, <sup>111</sup> Cd, <sup>95</sup> Mo e <sup>82</sup> Se.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1. OTIMIZAÇÃO MULTIVARIADA

Nos últimos anos, o planejamento fatorial tem se tornado uma ferramenta bastante empregada nas otimizações multivariadas, pois possibilita ajustar vários fatores e o efeito de possíveis interações entre as variáveis de estudo, que afetam os procedimentos analíticos (COSTA e colaboradores, 2006; LOPES e colaboradores, 2009). Nesta etapa, anteriormente as digestões foi necessário a moagem, para diminuição do tamanho das partículas e, por consequente, conseguir uma melhor homogeneidade entre os resultados das amostras. Foi selecionada a amostra AB5, que foi preparada em grande quantidade, visando o uso de uma única amostra em todos os experimentos.

No planejamento fatorial completo foram obtidas recuperações médias dos analitos na faixa de 32 a 104 %, comparado com os resultados do método de referência, proposto por Teixeira (2010), como mostrado na Tabela 08. Para avaliar a eficiência simultânea na determinação multivariada, para cada experimento, foi utilizada a equação 1 (SANTOS e colaboradores, 2009) com a finalidade de fazer o escalamento dos dados, onde RM é a resposta múltipla,  $R_x$  é a recuperação de um analito em um dado experimento e  $R_{máx\ x}$  é a maior recuperação no conjunto de experiências para o analito x.

$$RM = \left( \frac{R_{Cu}}{R_{máx\ Cu}} \right) + \left( \frac{R_K}{R_{máx\ K}} \right) + \left( \frac{R_{Mn}}{R_{máx\ Mn}} \right) + \left( \frac{R_{Zn}}{R_{máx\ Zn}} \right) \quad \text{Equação 1}$$

A partir da análise do gráfico de Pareto para a resposta múltipla, Figura 06, observa-se que, no domínio experimental estudado considerando a resposta múltipla, os fatores temperatura e tempo e a interação temperatura X concentração foram significativos (efeito positivo), e os melhores resultados foram encontrados nos níveis máximos de tempo, intermediário de temperatura e máximo e mínima da concentração ácida.

Nestas condições, as percentagens de recuperação variaram entre 54 e 98 %, sendo assim necessário realizar novos estudos de forma a propiciar a utilização do procedimento de digestão de amostras de arroz com ácido nítrico diluído para um maior numero de analitos. Assim foi desenvolvido um novo planeamento fatorial utilizando desenho Box-Behnken com a finalidade de definir os valores críticos para esta matriz.

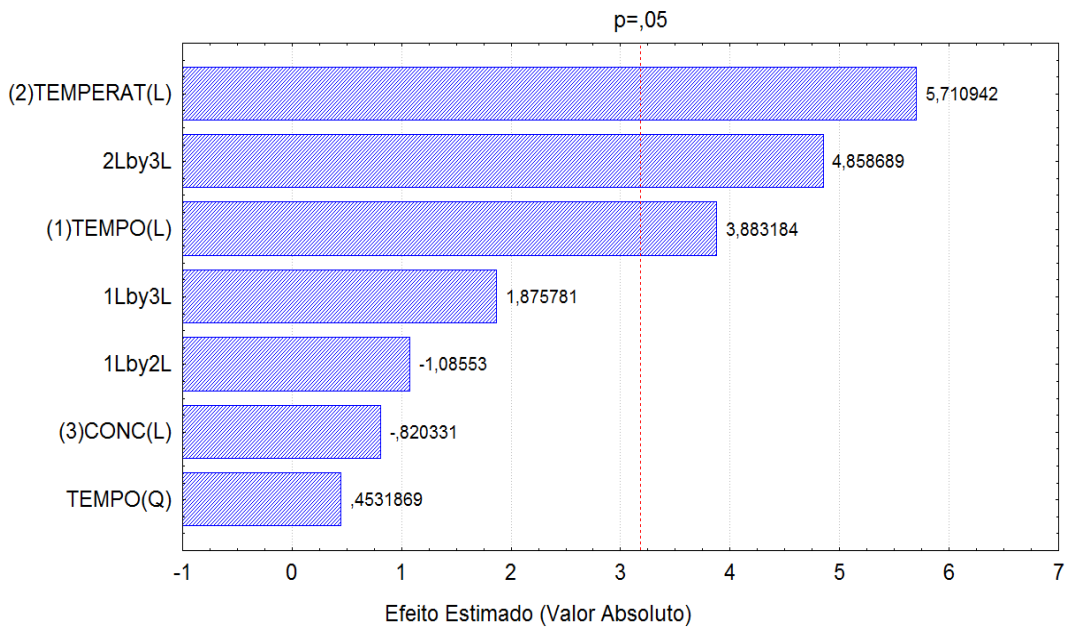


Figura 06. Gráfico de Pareto para resposta múltipla do planeamento fatorial completo.

Tabela 08. Matriz do planejamento fatorial completo e resposta dos analitos e da resposta multipla, em porcentagem de recuperaçao.

<b>Experimento</b>	<b>Conc. HNO<sub>3</sub></b>	<b>Temperatura</b>	<b>Tempo</b>	<b>Cu</b>	<b>Fe</b>	<b>Mn</b>	<b>P</b>	<b>Zn</b>	<b>RM</b>
<b>1</b>	+1	+1	+1	42,65	52,05	92,84	79,24	64,87	3,98
<b>2</b>	+1	+1	-1	52,24	46,39	94,44	79,62	65,03	4,10
<b>3</b>	+1	-1	+1	44,64	56,46	90,95	75,33	62,92	3,97
<b>4</b>	+1	-1	-1	59,17	60,64	93,14	77,82	61,55	4,28
<b>5</b>	-1	+1	+1	0,0	61,64	92,82	53,9	54,21	2,96
<b>6</b>	-1	+1	-1	31,89	74,92	97,06	70,46	58,16	3,90
<b>7</b>	-1	-1	+1	59,68	90,14	96,87	64,86	54,58	4,42
<b>8</b>	-1	-1	-1	60,63	70,14	97,92	98,18	63,86	4,70
<b>9 PC</b>	0	0	0	35,25	63,68	100,37	74,99	60,05	3,94
<b>10 PC</b>	0	0	0	43,26	61,48	104,05	85,29	60,65	4,20
<b>11 PC</b>	0	0	0	37,64	86,03	102,11	76,99	57,4	4,22
<b>12 PC</b>	0	0	0	32,55	68,39	103,48	77,69	57,13	3,96

No planejamento Box-Behnken os fatores de estudos e os níveis dos fatores tempo e temperatura não foram alterados, logo utilizou-se os do planejamento fatorial completo,. No entanto, os níveis do fator concentração de ácido nítrico mudaram para 2,0; 4,5 e 7,0 mol L<sup>-1</sup>, a partir do ácido nítrico destilado 16 mol L<sup>-1</sup>. Os experimentos foram realizados conforme a matriz apresentada na Tabela 09.

Tabela 09. Matriz do planejamento fatorial desenho Box-Behnken para otimização multivariada de digestão de amostras de arroz.

<b>Experimento</b>	<b>Conc. HNO<sub>3</sub></b>	<b>Temperatura</b>	<b>Tempo</b>
<b>1</b>	-1	-1	0
<b>2</b>	1	-1	0
<b>3</b>	-1	1	0
<b>4</b>	1	1	0
<b>5</b>	-1	0	-1
<b>6</b>	1	0	-1
<b>7</b>	-1	0	1
<b>8</b>	1	0	1
<b>9</b>	0	-1	-1
<b>10</b>	0	1	-1
<b>11</b>	0	-1	1
<b>12</b>	0	1	1
<b>13 PC</b>	0	0	0
<b>14 PC</b>	0	0	0
<b>15 PC</b>	0	0	0

A realização dos experimentos da matriz Box-Behnken geraram os resultados, em percentagem de recuperação (Tabela 10) utilizando também como referência os valores obtidos na digestão assistida por micro-ondas usando o procedimento validado por TEIXEIRA, 2010.

Tabela 10. Resultado do planejamento fatorial Box-Bhenken, em porcentagem de recuperação e resposta múltipla, para digestão de amostras de arroz por micro-ondas com cavidade.

Experimento	Analitos (%)				RM
	Cu	K	Mn	Zn	
1	20,8	113,4	121,9	96,8	2,965
2	92,1	98,8	90,3	80,9	3,095
3	17,9	136,5	123,8	100,2	3,155
4	96,6	110,5	93,7	76,4	3,204
5	33,5	135,9	117,7	95,1	3,193
6	101,3	113,0	96,8	75,4	3,281
7	7,1	137,7	119,8	97,2	3,003
8	100,4	110,4	94,2	78,4	3,262
9	108,7	113,8	97,9	79,0	3,399
10	95,8	114,2	103,3	83,6	3,373
11	100,6	114,8	105,0	78,0	3,378
12	100,2	116,5	105,8	80,4	3,418
13 PC	101,4	116,3	104,2	80,4	3,415
14 PC	102,6	114,5	105,2	83,5	3,451
15 PC	109,5	116,0	105,8	74,5	3,441

Avaliando apenas os resultados da resposta múltipla, pode-se perceber que as maiores recuperações dos analitos, entre 74 e 116 %, foram obtidas no ponto central e no experimento 12 e, conseqüentemente, os maiores valores de RM, logo o procedimento proposto poderá ser realizado em uma dessas condições. É importante observar que em ambas utiliza-se o volume de 2,0 mL de HNO<sub>3</sub> destilado para a digestão de 250 mg da amostra, condição que se encaixa dentro do considerado adequado por Krug e colaboradores (2008), no qual recomenda-se utilizar entre 0,4 e 2,0 mL de ácido por 200 mg de amostra.

Esta redução no volume do reagente no desenvolvimento de um procedimento analítico torna-se importante, visto que ocorre o favorecimento da reação de decomposição a partir da regeneração do ácido nítrico dentro do frasco de reação, provocando o aumento da pressão do no frasco de reação e, por conseqüente, o aumento da temperatura de ebulição da mistura e a elevação do seu potencial



oxidante (KRUG e colaboradores, 2008; BIZZI e colaboradores, 2011). Além de possibilitar a minimização de resíduos gerados, redução de custos, obtenção de menores valores de branco e digeridos com acidez residual menor, mais apropriados para a análise espectrométrica.

Para confirmar o observado e determinar os valores ótimos para a digestão da amostra após essa otimização foram avaliados os Gráficos de Pareto e as Superfícies de Resposta, Figura 07 e 08 respectivamente.

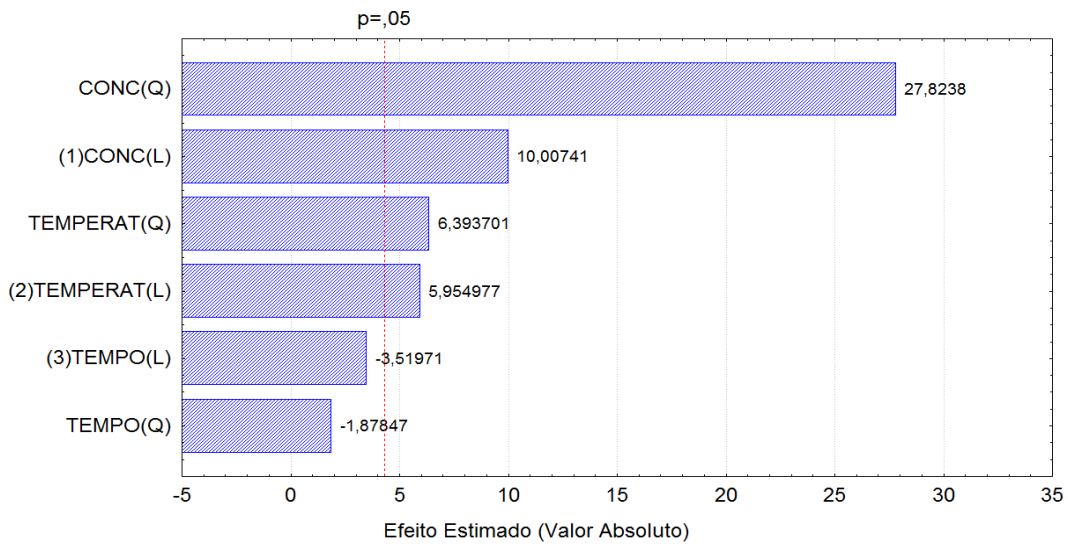


Figura 07. Gráfico de Pareto para resposta múltipla do planejamento Box-Behnken.

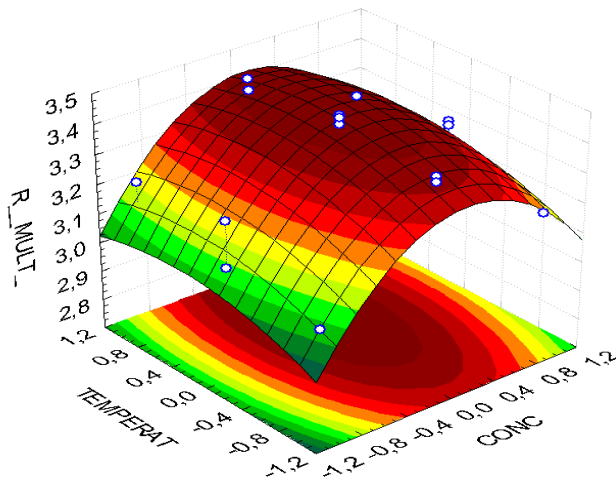


Figura 08. Superfície de Resposta para resposta múltipla do planejamento Box-Behnken.

No gráfico de Pareto, observa-se que os fatores concentração e temperatura foram significativos (efeito positivo) para resposta múltipla. No gráfico de superfície de resposta, confirma-se o observado na análise dos valores da resposta múltipla. No entanto, visando aumentar a vida útil do equipamento e diminuir o tempo de digestão, foram selecionadas como ótimas as condições do ponto central para a digestão das amostras de arroz. O procedimento proposto está descrito no item 2.3.3.

A eficiência do procedimento de decomposição da amostra pode ser avaliada com base na concentração de carbono residual nas soluções do digerido. Os resultados do teor de carbono residual estão apresentados na Figura 09.

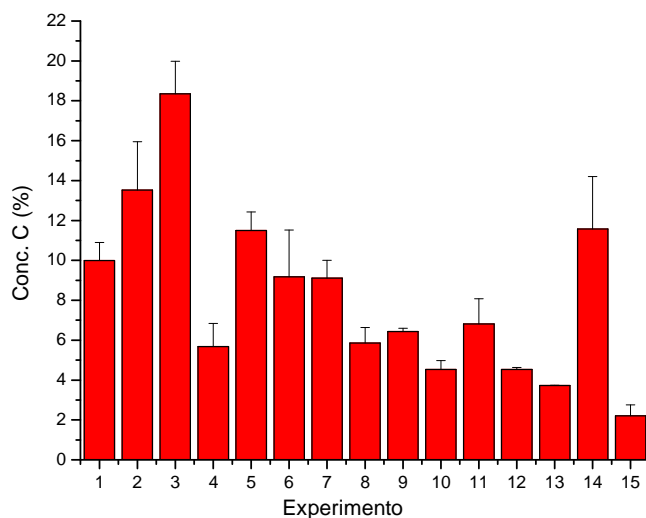


Figura 09. Teor de carbono residual nas soluções resultantes dos experimentos do planejamento Box-Behnken.

Os teores de carbono residual determinados por ICP OES para as soluções dos digeridos obtidos em todos os experimentos do planejamento Box-Behnken variaram entre 2,21 e 18,4 % (m/m)%, mostrando-se adequados em todas as condições investigadas. Segundo Nóbrega e colaboradores (2002), os teores de carbono residual de até 13% não causaram interferência na determinação de metais por ICP OES, em amostras de plantas. Logo, as concentrações obtidas sugerem uma boa eficiência de decomposição das amostras de arroz na maioria das

condições investigadas para a otimização do procedimento, com exceção dos experimentos 2 e 3, que apresentaram concentrações de carbono residual superiores a 13%.

### **3.2. VALIDAÇÃO DO PROCEDIMENTO PROPOSTO**

A validação de um método analítico é fundamental para a confiabilidade dos resultados obtidos (ANVISA, 2003). Normalmente, a validação de métodos ocorre após a obtenção de alguns parâmetros de desempenho como: linearidade e faixa de trabalho; precisão; exatidão; limite de detecção e de quantificação; repetitividade, precisão, exatidão, recuperação e repetitividade (RIBANI e colaboradores,2004).

#### **3.2.1. LIMITE DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO**

O limite de detecção (LOD) é a menor concentração do analito detectado, mas não necessariamente quantificado. Já o limite de quantificação (LOQ) é a menor concentração do analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis sob as condições experimentais estabelecidas (ANVISA 2003). Os valores de LOD e LOQ para o procedimento proposto estão apresentados na Tabela 14, e foram calculados considerando a média e desvio padrão de 10 brancos analíticos.

Tabela 11. Limites de detecção e quantificação para as determinações por ICP OES e ICP-MS

Analito	Concentração ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	
	LOD	LOQ
<b>Al</b>	0,8	2,4
<b>As</b>	0,05	0,17
<b>Ca</b>	1,5	5,0
<b>Cd</b>	0,002	0,006
<b>Cu</b>	0,1	0,3
<b>Fe</b>	0,1	0,3
<b>K</b>	0,7	2,3
<b>Mg</b>	2,3	7,7
<b>Mn</b>	0,1	0,3
<b>Mo</b>	0,02	0,06
<b>P</b>	0,7	2,2
<b>Se</b>	0,03	0,1
<b>Zn</b>	0,2	0,6

### 3.2.2. LINEARIDADE E FAIXA DINÂMICA LINEAR

A linearidade corresponde à capacidade do método em fornecer resultados diretamente proporcionais à concentração do analito em uma amostra (RIBANI e colaboradores, 2004). Para avaliar a linearidade, utiliza-se o coeficiente de correlação (R) e o coeficiente de determinação ( $R^2$ ). Segundo a ANVISA (2003), a análise da linearidade deve ser feita a partir de determinação de, no mínimo, 5 concentrações distintas, e o critério mínimo aceitável ser 0,99 para R e 0,98 para  $R^2$ .

A faixa dinâmica linear ou faixa de aplicação corresponde à faixa de concentração que pode ser determinada com uma curva de calibração linear, sendo composta em seu limite inferior, geralmente, pelo limite de quantificação, e em seu limite superior pela concentração na qual o sinal analítico desviada linearidade (SKOOG e colaboradores, 2006).

Os resultados das curvas analíticas estão apresentados resumidamente na Tabela 15. Os coeficientes de determinação são superiores a 0,99, o que implica na linearidade das curvas conforme condições recomendadas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO) (RIBANI e colaboradores, 2004).

Tabela 12. Curvas analíticas das amostras para o ICP OES e ICP-MS

<b>Analito</b>	<b>Equação da reta</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>Faixa dinâmica (mg L<sup>-1</sup>)</b>
<b>Al</b>	$y = 1219,7x + 32,974$	0,9999	0,2 - 10
<b>Ca</b>	$y = 2 \cdot 10^6 x + 251848$	0,9999	0,4 - 10
<b>Cu</b>	$y = 16740x + 465,01$	0,9999	0,3 - 10
<b>Fe</b>	$y = 26384x + 514,87$	0,9999	0,2 - 10
<b>K</b>	$y = 12373x + 1571,4$	1,0	0,2 - 100
<b>Mg</b>	$y = 25179x + 11635$	0,9995	0,6 - 100
<b>Mn</b>	$y = 106555x + 3277,8$	0,9999	0,3 - 10
<b>P</b>	$y = 435,31x - 1,9114$	0,9999	0,2 - 100
<b>Zn</b>	$y = 22268x + 317,73$	0,9998	0,04 - 10
<b>Analito</b>	<b>Equação da reta</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>Faixa dinâmica (µg L<sup>-1</sup>)</b>
<b>As</b>	$y = 1,0019x - 0,0314$	0,9999	0,2 - 25
<b>Cd</b>	$y = 0,9987x + 0,0202$	0,9998	0,01 - 25
<b>Mo</b>	$y = 1x - 0,0002$	0,9998	0,1 - 25
<b>Se</b>	$y = 1,0007x - 0,0114$	0,9997	0,2 - 25

### 3.2.3. EXATIDÃO

A exatidão representa o grau de concordância entre os resultados obtidos pelo método proposto e um valor de referência aceito como verdadeiro. A utilização de materiais de referência e a comparação de métodos são processos bastante utilizados para avaliar a exatidão de um método (RIBANI e colaboradores, 2004).

Para este estudo foi utilizado o material de referência certificado (CRM) de farinha de arroz 1568a NIST, que foi digerido em forno de micro-ondas, em

quintuplicata, e quantificado em ICP OES e ICP-MS. Os resultados encontrados e o percentual de recuperação estão na Tabela 11 e 12.

Nas determinações feitas por ICP-MS, o CRM foi analisado duas vezes, sendo a primeira com modo XT, modo normal de operação do equipamento e a segunda com o modo CCT, com a célula de colisão ligada, que visa eliminar as interferências poliatômicas. Como pode ser visto na Tabela 12, para os analitos As e Se as percentagens de recuperação foram diferentes, sendo o modo XT o melhor para a quantificação desses analitos e o modo escolhido para as demais quantificações. Os maiores valores obtidos para As e Se quando se utilizou o modo CCT podem-se creditados a interferências espectroscópicas que não foram resolvidas mesmo em modo CCT.

Tabela 13. Comparação dos valores certificados e obtidos para CRM NIST 1568a determinados por ICP OES.

<b>Elemento</b>	<b>Valor certificado (% mg g<sup>-1</sup>)</b>	<b>Valor obtido (% mg g<sup>-1</sup>)</b>	<b>Recuperação (%)</b>
Ca	0,0118 ± 0,0006	0,0101 ± 0,0002	85,4
K	0,1280 ± 0,0008	0,1079 ± 0,0028	84,3
Mg	0,056 ± 0,002	0,056 ± 0,001	100,8

<b>Elemento</b>	<b>Valor certificado (µg g<sup>-1</sup>)</b>	<b>Valor obtido (µg g<sup>-1</sup>)</b>	<b>Recuperação (%)</b>
Al	4,4 ± 1,0	4,5 ± 0,7	102,1
Cu	2,4 ± 0,3	1,9 ± 0,1	80,1
Fe	7,4 ± 0,9	7,1 ± 0,2	95,3
Mn	20,0 ± 1,6	17,6 ± 0,1	88,0
Zn	19,4 ± 0,5	16,6 ± 0,1	85,4

Tabela 14. Comparação dos valores certificados e obtidos para SRM 1568a determinados por ICP-MS.

<b>Elemento</b>	<b>Valor certificado (<math>\mu\text{g g}^{-1}</math>)</b>	<b>Valor Obtido modo XT (<math>\mu\text{g g}^{-1}</math>)</b>	<b>Recuperação (%)</b>
<b>As</b>	0,29 $\pm$ 0,03	0,24 $\pm$ 0,01	81,2
<b>Cd</b>	0,022 $\pm$ 0,02	0,0207 $\pm$ 0,002	93,9
<b>Mo</b>	1,46 $\pm$ 0,08	1,41 $\pm$ 0,05	96,8
<b>Se</b>	0,38 $\pm$ 0,04	0,31 $\pm$ 0,02	81,6

<b>Elemento</b>	<b>Valor certificado (<math>\mu\text{g g}^{-1}</math>)</b>	<b>Valor Obtido modo CCT (<math>\mu\text{g g}^{-1}</math>)</b>	<b>Recuperação (%)</b>
<b>As</b>	0,29 $\pm$ 0,03	0,56 $\pm$ 0,02	194,5
<b>Cd</b>	0,022 $\pm$ 0,02	0,0200 $\pm$ 0,003	90,8
<b>Mo</b>	1,46 $\pm$ 0,08	1,30 $\pm$ 0,05	89,1
<b>Se</b>	0,38 $\pm$ 0,04	1,21 $\pm$ 0,09	317,8

### 3.2.4. PRECISÃO

A precisão é a avaliação da proximidade dos resultados obtidos em uma série de medidas de uma amostragem múltipla de uma mesma amostra (ANVISA, 2003). Matematicamente, a precisão é expressa pelo desvio padrão absoluto (s) ou desvio padrão relativo (RSD) (RIBANI e colaboradores, 2004).

A repetitividade (precisão intra-corrída) corresponde concordância entre os resultados dentro de um curto período de tempo com o mesmo analista e mesma instrumentação (ANVISA, 2003).

Para avaliar a repetitividade do procedimento proposto foram realizadas duas digestões, em dois dias consecutivos, de uma amostra de arroz do tipo polido com sete réplicas cada, totalizando quatorze determinações. Não foi possível analisar a repetitividade para os analitos Cd e Se visto que estes ficaram abaixo do LOD.

De modo geral, houve uma boa precisão no teste, como mostrado na Tabela 13, com RSD inferior a 10 %, sendo que para os analitos Cu, K, Mg, Mn, Mo, P e Zn o RSD foi inferior a 4%.

Tabela 15. Resultados ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) do teste de repetitividade para determinações por ICP OES e ICP MS.

<b>Analito</b>	<b>Concentração média (<math>\mu\text{g g}^{-1}</math>)</b>	<b>Desvio padrão</b>	<b>RSD (%)</b>
<b>Al</b>	4,5	0,4	9,3
<b>As</b>	0,0948	0,0075	7,9
<b>Ca</b>	41,0	2,9	7,0
<b>Cu</b>	2,18	0,07	3,3
<b>Fe</b>	2,0	0,2	7,3
<b>K</b>	546,0	14,3	2,6
<b>Mg</b>	144,6	3,2	2,2
<b>Mn</b>	12,4	0,3	2,2
<b>Mo</b>	0,488	0,016	3,3
<b>P</b>	1575,7	3,5	2,2
<b>Zn</b>	12,7	0,5	3,6

### 3.2.5. TESTE DE RECUPERAÇÃO

A recuperação do analito pode ser estimada pela análise de amostras adicionadas com quantidades conhecidas do mesmo (spike) antes da digestão. Este teste tem como limitação o fato do analito adicionado não está, necessariamente, na mesma forma que na amostra (INMETRO, 2011). A presença de analitos adicionados em uma forma mais facilmente detectável e avaliar possíveis perdas de analito durante o procedimento.

Na Tabela 16 e 17 encontram-se os resultados obtidos no teste de recuperação (n=3) para as determinações empregando ICP OES e ICP-MS. Pode-se notar que, para todos os analitos, houve uma boa recuperação, variando entre 92 e 115 %.



### 3.2.6 EFEITO DE MATRIZ

O efeito de matriz é um tipo de interferência espectroscópica que pode ocorrer nas análises (AGATEMOR e BEAUCHEMIN, 2011), de tal modo que pode interferir na etapa de determinação, visto que influencia na sensibilidade e na intensidade da emissão das linhas atômicas e iônicas. Este erro é resultante de substâncias orgânicas não decompostas (LEHN e colaboradores, 2003; KRUG e colaboradores, 2008).

Para avaliar se há efeito de matriz deve-se observar a razão entre os coeficientes angulares das curvas analíticas obtidas no meio da matriz e no meio ácido (PINHO, 2009), conforme apresentado na Tabela 18.

Considerando os valores das razões entre os coeficientes angulares da curva analítica no meio da matriz e meio ácido, pode-se concluir que não houve diferença significativa entre os coeficientes angulares das curvas analíticas nos meios estudados, sendo possível concluir que não existe efeito de matriz para as amostras de arroz.

Tabela 16. Resultados ( $\text{mg L}^{-1}$ ) do teste de recuperação dos elementos Al, Fe, Mn e Zn para determinação por ICP OES.

Amostra	Concentração adicionada	Al		Fe		Mn		Zn	
		Média	%	Média	%	Média	%	Média	%
Arroz Polido		0,2596	103,8	0,2462	98,5	0,2712	108,5	0,2626	105,0
Arroz Parboilizado	0,25	0,2633	105,3	0,2874	115,0	0,2673	106,9	0,2659	106,4
Arroz Intergral		0,2547	101,9	0,2470	98,8	---	---	0,2414	96,6

Amostra	Concentração adicionada	Al		Fe		Mn		Zn	
		Média	%	Média	%	Média	%	Média	%
Arroz Polido		3,44	114,6	3,34	111,4	3,34	111,4	3,29	109,8
Arroz Parboilizado	3,0	3,35	111,7	3,26	108,6	3,19	106,4	3,19	106,2
Arroz Intergral		3,27	109,0	3,24	108,1	3,13	104,3	3,15	105,0

Tabela 17. Resultados ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) do teste de recuperação dos elementos As, Mo e Se para determinação por ICP-MS.

Amostra	Concentração adicionada	As		Mo		Se	
		Média	%	Média	%	Média	%
Arroz Polido		30,86	92,8	31,28	94,1	34,33	102,5
Arroz Parboilizado	33,25	30,62	92,1	31,93	96,0	34,0	102,3
Arroz Intergral		32,22	96,9	33,45	100,6	35,32	106,2

Tabela 18. Razão entre os coeficientes angulares da curva analítica no meio da matriz e meio ácido.

<b>Analito</b>	<b>HNO<sub>3</sub> 2 mol L<sup>-1</sup></b>	<b>Arroz polido</b>	<b>Razão</b>	<b>Arroz parboilizado</b>	<b>Razão</b>	<b>Arroz</b>
<b>Al</b>	1222,0	1257,6	1,03	1284,9	1,05	1
<b>As</b>	0,99831	1,02594	1,03	1,05853	1,06	1
<b>Ca</b>	1735830,0	1670990,0	0,96	1661470,0	0,96	16
<b>Cd</b>	0,99831	1,02594	1,03	1,05853	1,06	1
<b>Cu</b>	16761,8	17428,5	1,04	17293,0	1,03	1
<b>Fe</b>	26409,5	27402,4	1,04	27128,6	1,03	2
<b>K</b>	12372,6	12392,6	1,00	11289,8	0,91	9
<b>Mg</b>	25274,7	23942,8	0,95	22590,5	0,90	2
<b>Mn</b>	106702,1	112061,8	1,05	111289,3	1,04	11
<b>Mo</b>	0,99172	0,9927	1,00	0,98848	1,00	0
<b>Se</b>	1,00639	1,08452	1,08	1,11491	1,10	1
<b>Zn</b>	22268,1	23468,0	1,05	23538,3	1,06	2

### 3.3. APLICAÇÃO

O procedimento proposto validado para digestão de amostras de arroz em forno de micro-ondas com cavidade com ácido nítrico diluído foi aplicado em 23 amostras de arroz polido, parboilizado e integral comercializados em supermercados de Salvador, Bahia. Das amostras digeridas e analisadas, 10 foram de arroz parboilizado, 8 de arroz polido e 5 de arroz integral, de 13 fornecedores diferentes, como apresentado na Tabela 02.

As amostras foram digeridas, em triplicata, conforme procedimento descrito no item 2.3.3. Foram determinados os teores de Al, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, P e Zn por ICP OES e de As, Cd, Mo e Se por ICP-MS. As concentrações encontradas estão nas Tabelas 19, 20 e 21.

A partir das Tabelas 22 e 23, pode-se comparar os intervalos de concentração de macro e micro elementos nos três diferentes tipos de amostras. De acordo com a Figura 10, percebe-se que a concentração dos analitos diferencia de acordo com o tipo de arroz, sendo a maior concentração encontrada no arroz integral. Essa diferença na concentração esta relacionada com o processamento do arroz, pois o arroz passa apenas pela etapa de descascamento a qual não leva a redução das quantidades destes micronutrientes presentes nos grãos. Já em relação às amostras de arroz polido e parboilizado, a concentração do analito irá depender de como eles estão distribuídos no grão. Assim, os elementos que estiverem nas camadas mais externas serão removidos no polimento, assim como o processo de parboilização pode reter alguns analitos junto ao amido do grão (STORCK; SILVA e COMARELLA,, 2005; TEIXEIRA, 2010; NITZKE E BIEDRYCKI, 2012).

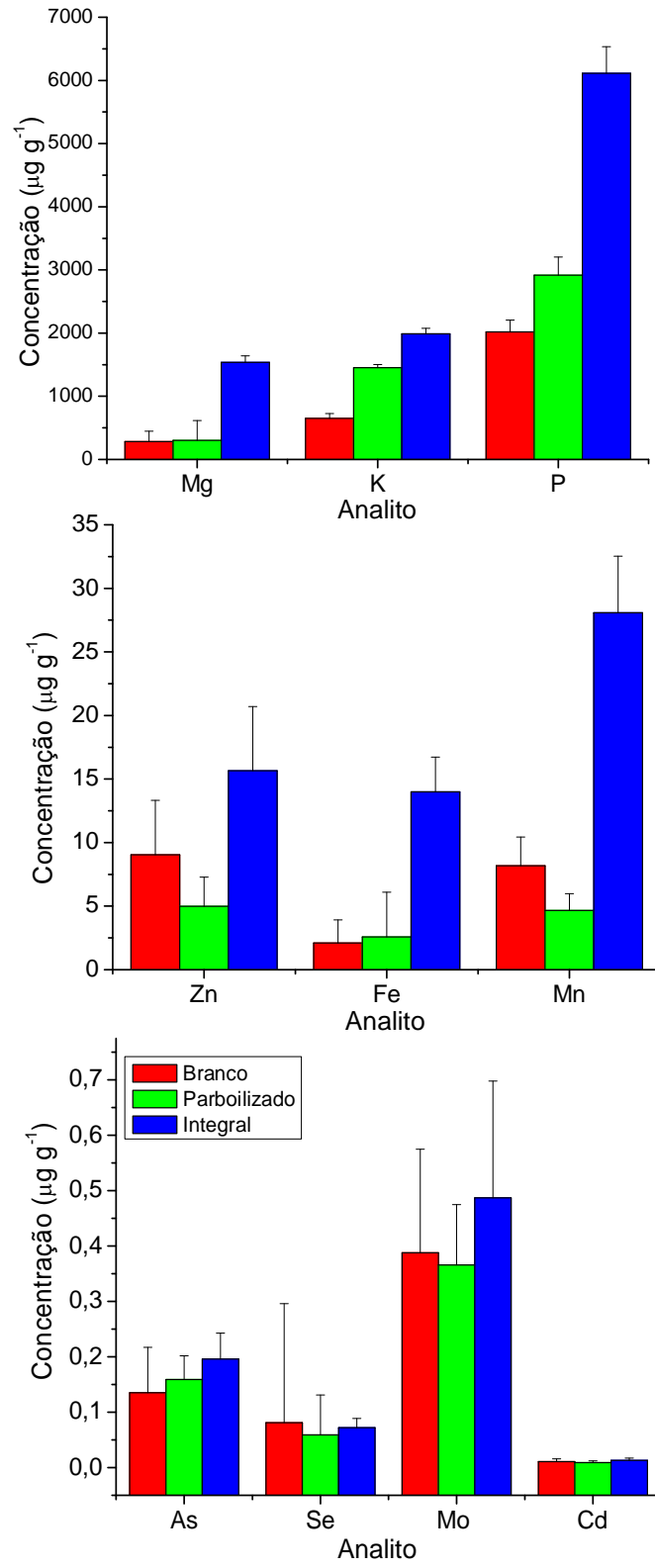


Figura 10. Concentração média ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) dos analitos nos três tipos de arroz estudados.

Tabela 19. Concentração de Al, Cu, Fe, Mn e Zn ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) ( $n=3 \pm s$ ) nas amostras de arroz determinadas por ICP OES.

<b>Amostra</b>	<b>Al</b>	<b>Cu</b>	<b>Fe</b>	<b>Mn</b>	<b>Zn</b>
<b>AB1</b>	8,4 $\pm$ 1,0	<LOQ	7,20 $\pm$ 0,03	8,3 $\pm$ 0,2	13,0 $\pm$ 0,4
<b>AB2</b>	<LOQ	<LOQ	2,10 $\pm$ 0,02	7,26 $\pm$ 0,05	13,8 $\pm$ 0,3
<b>AB3</b>	<LOQ	<LOQ	3,39 $\pm$ 0,06	5,33 $\pm$ 0,02	14,93 $\pm$ 0,04
<b>AB4</b>	<LOQ	0,24 $\pm$ 0,07	2,2 $\pm$ 0,1	11,7 $\pm$ 0,1	12,0 $\pm$ 0,1
<b>AB5</b>	4,5 $\pm$ 0,4	2,18 $\pm$ 0,07	2,0 $\pm$ 0,2	12,4 $\pm$ 0,3	12,7 $\pm$ 0,5
<b>AB6</b>	<LOQ	<LOQ	<LOQ	6,9 $\pm$ 0,3	13,4 $\pm$ 0,9
<b>AB7</b>	4,6 $\pm$ 0,5	<LOQ	1,3 $\pm$ 0,2	8,0 $\pm$ 0,2	8,3 $\pm$ 0,3
<b>AB8</b>	8,57 $\pm$ 0,02	<LOQ	1,81 $\pm$ 0,05	8,94 $\pm$ 0,07	9,5 $\pm$ 0,4
<b>AI1</b>	2,9 $\pm$ 0,3	0,73 $\pm$ 0,03	10,5 $\pm$ 0,5	34,9 $\pm$ 1,4	17,1 $\pm$ 0,7
<b>AI2</b>	<LOQ	0,62 $\pm$ 0,03	11,0 $\pm$ 0,8	31,0 $\pm$ 2,7	16,5 $\pm$ 1,0
<b>AI3</b>	7,8 $\pm$ 0,6	<LOQ	15,1 $\pm$ 0,8	24,7 $\pm$ 0,7	15,9 $\pm$ 0,5
<b>AI4</b>	<LOQ	<LOQ	14,1 $\pm$ 0,5	28,6 $\pm$ 0,8	15,0 $\pm$ 0,2
<b>AI5</b>	<LOQ	<LOQ	17,4 $\pm$ 0,4	23,7 $\pm$ 1,6	16,5 $\pm$ 0,8
<b>AP1</b>	15,3 $\pm$ 0,2	<LOQ	12,5 $\pm$ 0,5	5,3 $\pm$ 0,1	6,13 $\pm$ 0,08
<b>AP2</b>	<LOQ	0,20 $\pm$ 0,02	3,6 $\pm$ 0,2	6,2 $\pm$ 0,6	6,3 $\pm$ 0,4
<b>AP3</b>	<LOQ	<LOQ	1,8 $\pm$ 0,1	4,1 $\pm$ 0,4	5,2 $\pm$ 0,5
<b>AP4</b>	<LOQ	0,2 $\pm$ 0,1	4,1 $\pm$ 0,3	6,6 $\pm$ 0,1	7,8 $\pm$ 0,1
<b>AP5</b>	<LOQ	0,33 $\pm$ 0,04	2,73 $\pm$ 0,04	4,6 $\pm$ 0,3	5,82 $\pm$ 0,07
<b>AP6</b>	<LOQ	<LOQ	2,8 $\pm$ 0,2	3,5 $\pm$ 0,3	5,2 $\pm$ 0,2
<b>AP7</b>	<LOQ	<LOQ	2,4 $\pm$ 0,2	6,6 $\pm$ 0,3	7,8 $\pm$ 0,4
<b>AP8</b>	<LOQ	<LOQ	0,97 $\pm$ 0,08	3,6 $\pm$ 0,2	6,3 $\pm$ 0,1
<b>AP9</b>	3,9 $\pm$ 0,3	<LOQ	<LOQ	2,78 $\pm$ 0,09	4,8 $\pm$ 0,4
<b>AP10</b>	<LOQ	<LOQ	<LOQ	4,7 $\pm$ 0,3	5,3 $\pm$ 0,2

Tabela 20. Concentração de Ca, K, Mg e P ( $\text{mg g}^{-1}$ ) ( $n=3 \pm s$ ) nas amostras de arroz determinadas por ICP OES.

<b>Amostra</b>	<b>Ca</b>	<b>K</b>	<b>Mg</b>	<b>P</b>
<b>AB1</b>	0,057 $\pm$ 0,004	0,64 $\pm$ 0,01	0,72 $\pm$ 0,02	2,12 $\pm$ 0,04
<b>AB2</b>	0,049 $\pm$ 0,003	0,592 $\pm$ 0,003	0,246 $\pm$ 0,001	2,01 $\pm$ 0,01
<b>AB3</b>	0,048 $\pm$ 0,001	0,53 $\pm$ 0,01	0,30 $\pm$ 0,01	2,04 $\pm$ 0,05
<b>AB4</b>	0,046 $\pm$ 0,002	0,76 $\pm$ 0,01	0,287 $\pm$ 0,005	2,12 $\pm$ 0,03
<b>AB5</b>	0,041 $\pm$ 0,003	0,55 $\pm$ 0,01	0,145 $\pm$ 0,003	1,58 $\pm$ 0,03
<b>AB6</b>	<LOQ	0,71 $\pm$ 0,03	0,33 $\pm$ 0,01	2,19 $\pm$ 0,06
<b>AB7</b>	0,1148 $\pm$ 0,0003	0,66 $\pm$ 0,01	0,259 $\pm$ 0,006	1,89 $\pm$ 0,04
<b>AB8</b>	0,1122 $\pm$ 0,0001	0,67 $\pm$ 0,01	0,282 $\pm$ 0,004	1,94 $\pm$ 0,02
<b>AI1</b>	0,098 $\pm$ 0,005	2,09 $\pm$ 0,01	1,54 $\pm$ 0,04	6,81 $\pm$ 0,06
<b>AI2</b>	0,101 $\pm$ 0,002	2,03 $\pm$ 0,06	1,5 $\pm$ 0,1	6,8 $\pm$ 0,4
<b>AI3</b>	0,140 $\pm$ 0,078	1,94 $\pm$ 0,03	1,62 $\pm$ 0,04	6,03 $\pm$ 0,09
<b>AI4</b>	0,155 $\pm$ 0,003	1,98 $\pm$ 0,12	1,37 $\pm$ 0,03	5,93 $\pm$ 0,04
<b>AI5</b>	0,151 $\pm$ 0,002	1,99 $\pm$ 0,06	1,571 $\pm$ 0,090	6,1 $\pm$ 0,3
<b>AP1</b>	0,023 $\pm$ 0,002	1,46 $\pm$ 0,02	1,33 $\pm$ 0,06	3,14 $\pm$ 0,01
<b>AP2</b>	0,022 $\pm$ 0,001	1,39 $\pm$ 0,03	0,33 $\pm$ 0,03	3,0 $\pm$ 0,1
<b>AP3</b>	0,016 $\pm$ 0,002	1,43 $\pm$ 0,02	0,28 $\pm$ 0,03	2,9 $\pm$ 0,1
<b>AP4</b>	0,032 $\pm$ 0,001	1,43 $\pm$ 0,03	0,46 $\pm$ 0,01	3,34 $\pm$ 0,03
<b>AP5</b>	0,018 $\pm$ 0,001	1,47 $\pm$ 0,02	0,31 $\pm$ 0,03	2,97 $\pm$ 0,06
<b>AP6</b>	0,064 $\pm$ 0,003	1,52 $\pm$ 0,01	0,291 $\pm$ 0,009	2,71 $\pm$ 0,05
<b>AP7</b>	<LOQ	1,51 $\pm$ 0,05	0,42 $\pm$ 0,01	3,2 $\pm$ 0,2
<b>AP8</b>	0,024 $\pm$ 0,004	1,43 $\pm$ 0,01	0,236 $\pm$ 0,007	2,56 $\pm$ 0,01
<b>AP9</b>	0,026 $\pm$ 0,002	1,42 $\pm$ 0,06	0,20 $\pm$ 0,01	2,5 $\pm$ 0,1
<b>AP10</b>	<LOQ	1,46 $\pm$ 0,04	0,28 $\pm$ 0,01	2,69 $\pm$ 0,05

Tabela 21. Concentração de As, Cd, Mo e Se ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) ( $n=3 \pm s$ ) nas amostras de arroz determinadas por ICP-MS.

<b>Amostra</b>	<b>As</b>	<b>Cd</b>	<b>Mo</b>	<b>Se</b>
<b>AB1</b>	0,19 $\pm$ 0,01	0,0166 $\pm$ 0,0004	0,78 $\pm$ 0,08	0,177 $\pm$ 0,029
<b>AB2</b>	0,11 $\pm$ 0,01	0,0166 $\pm$ 0,0005	0,3 $\pm$ 0,01	<LOQ
<b>AB3</b>	0,18 $\pm$ 0,01	0,0085 $\pm$ 0,0007	0,38 $\pm$ 0,03	0,062 $\pm$ 0,012
<b>AB4</b>	0,21 $\pm$ 0,02	0,014 $\pm$ 0,001	0,81 $\pm$ 0,07	0,093 $\pm$ 0,025
<b>AB5</b>	< LOQ	< LOQ	0,49 $\pm$ 0,02	< LOD
<b>AB6</b>	< LOQ	0,0101 $\pm$ 0,0008	0,35 $\pm$ 0,02	0,112 $\pm$ 0,009
<b>AB7</b>	0,32 $\pm$ 0,02	0,0076 $\pm$ 0,0003	0,30 $\pm$ 0,01	<LOQ
<b>AB8</b>	< LOQ	0,011 $\pm$ 0,001	0,39 $\pm$ 0,01	0,077 $\pm$ 0,009
<b>AI1</b>	0,21 $\pm$ 0,02	0,0117 $\pm$ 0,0003	0,53 $\pm$ 0,03	0,050 $\pm$ 0,006
<b>AI2</b>	0,24 $\pm$ 0,02	0,017 $\pm$ 0,001	0,49 $\pm$ 0,03	0,075 $\pm$ 0,004
<b>AI3</b>	0,12 $\pm$ 0,01	0,010 $\pm$ 0,001	0,38 $\pm$ 0,01	< LOD
<b>AI4</b>	0,20 $\pm$ 0,02	0,013 $\pm$ 0,001	0,45 $\pm$ 0,04	<LOQ
<b>AI5</b>	0,14 $\pm$ 0,01	0,013 $\pm$ 0,001	0,38 $\pm$ 0,01	0,079 $\pm$ 0,007
<b>AP1</b>	0,27 $\pm$ 0,04	0,010 $\pm$ 0,002	<LOQ	0,271 $\pm$ 0,016
<b>AP2</b>	0,19 $\pm$ 0,02	0,0068 $\pm$ 0,0004	0,40 $\pm$ 0,02	0,050 $\pm$ 0,003
<b>AP3</b>	0,14 $\pm$ 0,01	0,0094 $\pm$ 0,0004	0,42 $\pm$ 0,01	0,050 $\pm$ 0,003
<b>AP4</b>	0,14 $\pm$ 0,02	0,0081 $\pm$ 0,0011	0,36 $\pm$ 0,02	0,052 $\pm$ 0,005
<b>AP5</b>	0,14 $\pm$ 0,01	0,0040 $\pm$ 0,0007	0,45 $\pm$ 0,02	0,053 $\pm$ 0,007
<b>AP6</b>	0,16 $\pm$ 0,01	0,0085 $\pm$ 0,0008	0,34 $\pm$ 0,02	<LOQ
<b>AP7</b>	0,16 $\pm$ 0,01	0,0082 $\pm$ 0,0008	0,38 $\pm$ 0,03	0,054 $\pm$ 0,005
<b>AP8</b>	0,16 $\pm$ 0,01	0,017 $\pm$ 0,001	0,291 $\pm$ 0,008	<LOQ
<b>AP9</b>	0,149 $\pm$ 0,005	<LOQ	0,32 $\pm$ 0,03	<LOQ
<b>AP10</b>	0,166 $\pm$ 0,006	0,0076 $\pm$ 0,0007	0,34 $\pm$ 0,01	0,064 $\pm$ 0,004



Tabela 22. Intervalo de concentração ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) de macro, micro e elementos traços em amostras de arroz.

<b>Analito</b>	<b>Arroz polido</b>	<b>Arroz parboilizado</b>	<b>Arroz integral</b>
<b>Al</b>	<LOQ – 8,57	<LOQ - 15,3	<LOQ – 7,8
<b>As</b>	<LOQ – 0,32	<LOQ – 0,166	<LOQ -0,24
<b>Cd</b>	< LOQ	<LOQ – 0,017	0,010 – 0,017
<b>Cu</b>	<LOQ -2,18	<LOQ – 0,33	<LOQ -0,73
<b>Fe</b>	<LOQ - 7,20	<LOQ – 12,5	10,5 -17,4
<b>Mn</b>	5,33 – 12,4	2,78 – 6,6	23,7 – 34,9
<b>Mo</b>	0,30 – 0,81	<LOQ – 0,45	0,38 -0,53
<b>Se</b>	<LOQ – 0,177	<LOQ – 0,271	<LOQ – 0,079
<b>Zn</b>	8,3 -14,93	4,8 – 7,8	15,0 – 17,1

Tabela 23. Intervalo de concentração ( $\text{mg g}^{-1}$ ) de macro elementos em amostras de arroz.

<b>Analito</b>	<b>Arroz polido</b>	<b>Arroz parboilizado</b>	<b>Arroz integral</b>
<b>Ca</b>	<LOQ - 0,1148	<LOQ - 0,016	0,098 - 0,155
<b>K</b>	0,53 - 0,76	1,39 - 1,52	1,94 - 2,09
<b>Mg</b>	0,145 - 0,72	0,20 - 0,46	1,37 - 1,62
<b>P</b>	1,58 - 2,19	2,5 - 3,34	5,93 - 6,81

Também foram comparados os intervalos de concentração dos analitos determinados nas 23 amostras de arroz com os valores já existentes na literatura, para a mesma matriz, como apresentado nas Tabelas 24 e 25.

Observando as Tabelas 24 e 25, pode-se perceber que as concentrações obtidas neste trabalho, de modo geral, encontram-se concordantes com os valores publicados na literatura.

Tabela 24. Teor de nutrientes inorgânicos (mg 100g<sup>-1</sup>) em amostras arroz declarados na literatura. Continua.

<b>Arroz polido</b>						<b>Fonte</b>
<b>Al</b>	<b>As</b>	<b>Ca</b>	<b>Cu</b>	<b>Cd</b>	<b>Fe</b>	
<LOQ - 0,86	<LOQ - 0,03	<LOQ - 11,5	<LOQ - 0,22	<LOQ - 0,017	<LOQ - 0,72	Este trabalho
ND	ND	4,0	0,11	ND	0,7	TACO, 2006
ND	ND	4,3	0,2	ND	0,3	OKADA, 2007
0,01 - 0,22	ND	10 - 30	0,2 - 0,3	0,0025	0,2 - 2,8	WALTER, 2008
ND	ND	6,7	0,18	ND	0,4	HEINEMANN, 2005
1,0	0,01	ND	ND	0,0013	ND	PARENGAM, 2010
ND	ND	5,0	0,27	ND	0,28	OLIVEIRA, 2012
<b>Arroz integral</b>						<b>Fonte</b>
<b>Al</b>	<b>As</b>	<b>Ca</b>	<b>Cu</b>	<b>Cd</b>	<b>Fe</b>	
<LOQ - 0,8	0,012 - 0,024	9,8 - 15,5	<LOQ - 0,073	0,001 - 0,0017	1,1 - 1,7	Este trabalho
ND	ND	8,0	0,070	ND	0,900	TACO, 2006
0,03 - 2,6	ND	10 - 50	0,1 - 0,6	0,002 - 0,016	0,2 - 5,2	WALTER, 2008
ND	ND	6,9	0,2	ND	0,6	HEINEMANN, 2005
1,7	0,018	ND	ND	0,001	ND	PARENGAM, 2010
ND	ND	8,0	0,21	ND	0,95	OLIVEIRA, 2012
<b>Arroz parboilizado</b>						<b>Fonte</b>
<b>Al</b>	<b>As</b>	<b>Ca</b>	<b>Cu</b>	<b>Cd</b>	<b>Fe</b>	
<LOQ - 1,53	0,014 - 0,017	<LOQ - 1,6	<LOQ - 0,033	<LOQ - 0,0017	<LOQ - 1,25	Este trabalho
ND	ND	4,6	0,2	ND	0,4	HEINEMANN, 2005
ND	ND	3,0	0,22	ND	0,84	OLIVEIRA, 2012

ND – valor não declarado.

Tabela 25. Continuação. Teor de nutrientes inorgânicos (mg 100g<sup>-1</sup>) em amostras arroz declarados na literatura.

<b>Arroz polido</b>						
<b>K</b>	<b>Mg</b>	<b>Mn</b>	<b>Mo</b>	<b>P</b>	<b>Se</b>	<b>Zn</b>
53 - 76	14,5 - 72	0,53 – 1,24	0,03 – 0,08	158 - 219	<LOQ - 0,018	0,83 – 1,5
62	30	1,0	ND	104	ND	1,2
ND	ND	0,6 -1,4	ND	130	ND	1,9 – 2,1
58	26	1,1	ND	92	ND	1,2
70 - 130	20 - 50	0,6 – 1,7	ND	80 - 150	0,03	0,6 – 2,3
65	15	0,5	ND	42	0,03	2,1
62	4,1	0,7	ND	ND	ND	2,2
39	13	1,5	< 0,02	64	ND	1,2
<b>Arroz integral</b>						
<b>K</b>	<b>Mg</b>	<b>Mn</b>	<b>Mo</b>	<b>P</b>	<b>Se</b>	<b>Zn</b>
194 - 209	137 - 162	2,4 – 3,5	0,038 – 0,053	593 - 681	<LOQ - 0,008	1,5 – 1,7
173	110	2,99	ND	251	ND	1,4
ND	ND	2,6 -4,5	ND	300	ND	1,9 - 2,5
60 - 280	20 -150	0,2 – 3,6	ND	170 - 430	0,03	0,6 – 2,8
182	17	0,4	ND	61	0,04	2,0
218	79	2,1	ND	ND	ND	2,7
149	108	1,9	< 0,02	255	ND	1,6
<b>Arroz parboilizado</b>						
<b>K</b>	<b>Mg</b>	<b>Mn</b>	<b>Mo</b>	<b>P</b>	<b>Se</b>	<b>Zn</b>
139 - 152	20 - 46	0,28 – 0,66	<LOQ - 0,045	250 - 334	<LOQ - 0,027	0,48 – 0,78
ND	ND	0,6 – 0,8	ND	130 - 200	ND	1,3 – 1,5
143	15	0,3	ND	59	0,03	1,2
116	34	0,5	< 0,02	138	ND	0,8

ND – valor não declarado.

A ANVISA (1965) regulamenta os limites máximos tolerados de contaminantes em alimentos, como apresentado na Tabela 26. Comparando o intervalo de concentração dos analitos (Tabela 22 e 23), nos três tipos de arroz estudado, com a concentração regulamentada, pode-se observar que todos os elementos encontram-se abaixo do limite máximo tolerado, logo as amostras estão de acordo com as normas da ANVISA.

Tabela 26. Concentração ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) de contaminantes inorgânicos em alimentos permitidos pela ANVISA.

<b>Analito</b>	<b>As</b>	<b>Cd</b>	<b>Cu</b>	<b>Se</b>	<b>Zn</b>
<b>Limite máximo tolerado</b>	1,00	1,00	30,0	0,30	50,0

Para avaliar os perfis nutricionais e/ou toxicológicos destas amostras, deve-se considerar, além das concentrações determinadas, a taxa de ingestão diária de arroz cerca de 160 g para um adulto brasileiro (IBGE, 2011). Com base nestas considerações, pode-se verificar que o consumo está dentro do limite adequado. As concentrações de ingestão diária recomendada (IDR) e o limite máximo tolerável (LMT) para os analitos investigados, exceto potássio, encontram-se na Tabela 27.

Tabela 27. Concentrações de ingestão diária recomendada (IDR) e o limite máximo (LM) tolerado para cada analito.

Analito	Sexo	IDR	LMT	IDR	LMT	IDR
		(mg/dia) <sup>a</sup>	(mg/dia) <sup>a</sup>	(mg/dia) <sup>b</sup>	(mg/dia) <sup>b</sup>	(mg/dia) <sup>c</sup>
Al	Masculino	ND	500	ND	ND	ND
	Feminino		420			
As	Masculino	ND	1,0	ND	ND	ND
	Feminino		0,9			
Ca	Masculino	1.000	2.500	ND	ND	1.000
	Feminino					
Cd	Masculino	ND	0,5	ND	ND	ND
	Feminino		0,4			
Cu	Masculino	0,9	10,0	1,2	12,0	0,9
	Feminino			1,0	10,0	
Fe	Masculino	8,0	45,0	ND	ND	14,0
	Feminino	18,0				
Mn	Masculino	2,3	11,0	2,9	5,0	2,3
	Feminino	1,8				
Mg	Masculino	ND	ND	ND	ND	260
	Feminino					
Mo	Masculino	0,045	ND	ND	ND	0,045
	Feminino					
P	Masculino	ND	ND	ND	ND	700
	Feminino					
Se	Masculino	0,055	0,4	0,03	0,4	0,034
	Feminino			0,04		
Zn	Masculino	11,0	40,0	13,5	45	7,0
	Feminino	8,0		9,4	35	

ND – valor não declarado. <sup>a</sup> COZZOLINO, 2005. <sup>b</sup> WHO,1996. <sup>c</sup> ANVISA,2004.

Na maioria das amostras de arroz as concentrações correspondentes ao consumo diário de cada analito ficaram abaixo do considerado como adequado. Entretanto as concentrações dos analitos Mo e Se, nos três tipos de arroz, e Mg, P e Mn, no arroz integral, encontram-se superiores ao IDR, porém abaixo do LMT. De modo geral, considerando as amostras analisadas neste trabalho pode-se considerar que o consumo de arroz não apresenta nenhum risco de contaminação humana para estes analitos, e para a maioria dos elementos investigados, os valores apontam que este cereal não deve ser a única fonte de ingestão diária.

Vale resaltar que este estudo foi realizado com as amostras cruas e os valores encontrados correspondem ao teor total dos elementos na matriz. Para uma avaliação mais detalhada da contribuição do consumo de arroz para a IDR deve-se levar em consideração que pode ocorrer perdas ou enriquecimento de alguns analitos durante o cozimento, a depender das condições e do recipiente que será utilizado. Além disso, sabe-se que o teor total do analito nem sempre está disponível para ser absorvido pelo organismo, a depender da forma que a espécie encontra-se, sendo necessário um estudo mais aprofundado sobre a biodisponibilidade dos elementos nas amostras.

## 4. CONCLUSÕES

Neste trabalho foi proposto um procedimento de digestão de amostras de arroz utilizando ácido nítrico diluído e radiação micro-ondas para determinação de macro, micro e elementos traço por ICP OES e ICP-MS.

A otimização multivariada com o planejamento Box-Behnken e a metodologia de superfície de resposta possibilitaram encontrar as melhores condições para a decomposição das amostras, utilizando um reduzido número de experimentos, reduzindo custo, tempo de preparo e de análise quando comparado a uma otimização univariada. Os resultados obtidos no planejamento experimental permitiram a otimização das condições de tempo e temperatura no último patamar do programa de aquecimento do forno de micro-ondas, bem como do volume de ácido nítrico, sendo definidas como condições ótimas o tempo de 20 minutos, temperatura de 200 °C e volume de 2 mL de HNO<sub>3</sub>.

O procedimento avaliado apresentou uma boa exatidão e precisão, evidenciadas pelos percentuais de recuperação da digestão do CRM NIST 1568a e do teste de recuperação para os analitos investigados, que variaram entre 80,1 e 102,1 % e 96,6 e 109,8 %, respectivamente, e pelo desvio padrão relativo sempre inferior a 10%, inclusive no teste de repetitividade. Somado a isso, foram alcançados baixos limites de detecção e quantificação, coeficientes de correlação maiores que 0,999 e inexistência de efeito de matriz para ambas as técnicas. Estes resultados indicam a viabilidade de aplicação deste procedimento na determinação do teor de Al, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, P e Zn por ICP OES e As, Cd, Mo e Se por ICP-MS, em amostras de arroz.

O procedimento proposto foi aplicado a 23 amostras de arroz dos tipos polido, parboilizado e integral comercializadas em Salvador-BA, para determinação de Al, As, Ca, Cd, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, P, Se e Zn, contribuindo com as tabelas de composição mineral, principalmente, para o arroz parboilizado, que há poucos trabalhos na literatura. De modo geral, os resultados obtidos encontram-se concordantes com faixas de concentração descritas na literatura.

O procedimento proposto atende aos critérios para a escolha de um método analítico: simplicidade, segurança, boa frequência analítica, rapidez e utilização de uma pequena quantidade de ácido nítrico. Este último de acordo com as tendências atuais da química verde. Também foi possível a quantificação de elementos não essenciais. Na literatura, são poucos os trabalhos que tratam destas espécies, no entanto é de grande relevância o conhecimento dessas concentrações, visto que mesmo em pequenas quantidades podem trazer prejuízos à saúde humana.

Para complementação deste estudo, é importante a investigação da biodisponibilidade de micronutriente, bem como a especiação dos mesmos, em especial, das espécies não essenciais ao organismo humano.



## 5. REFERÊNCIAS

- AGATEMOR, C.; BEAUCHEMIN, D. Matrix effects in inductively coupled plasma mass spectrometry: A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 706, p. 66-83, 2011.
- ALMEIDA, Vanessa V. **Otimização do processo de desidratação de folhas de cenoura (*Daucus carota* L.) visando a conservação de ácidos graxos ômega-3**. 2007. 68 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Departamento de Química, Universidade Estadual de Maringá, 2007.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Normas reguladoras do emprego de aditivos para alimentos**. Decreto nº 55871, de 26 de março de 1965.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos**. Resolução - RE nº 899, de 29 de maio de 2003.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais**. Consulta Pública nº 80, de 13 de dezembro de 2004.
- ARRUDA, M. A. Z.; SANTELLI, R.E. Mecanização no preparo de amostras por microondas: o estado da arte. **Química Nova**, v. 20, n. 6, p. 638-643, 1997.
- BARROS NETO. B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R.E. **Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**. Campinas, SP: Unicamp, 2001.
- BATISTA, B. L. et al. Speciation of arsenic in rice and estimation of daily intake of different arsenic species by Brazilians through rice consumption. **Journal of Hazardous Materials**, v. 191, p. 342-348, 2011.
- BIZZI, C. A. et al. Understanding the process of microwave-assisted digestion combining diluted nitric acid and oxygen as auxiliary reagent. **Microchemical Journal**, v. 99, p. 193–196, 2011.
- COSTA, L. M. et al. Planejamento fatorial aplicado à digestão de amostras de feijão assistida por radiação microondas. **Química Nova**, v. 29, n. 1, p. 149-152, 2006.
- CASTRO, Jacira Teixeira, 2007. **Estratégias analíticas para determinação de metais e ametais em amostras de café por espectrometria atômica**. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal da Bahia, 2007.
- COZZOLINO, Silvia M.F. **Biodisponibilidade de nutrientes**. 1ª Edição. Barueri, SP: Manole, 2005.
- CUNICO, M. W. M. et al. Planejamento fatorial: uma ferramenta estatística valiosa para a definição de parâmetros experimentais empregados na pesquisa científica. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v.9, n.1, jan. - jun. 2008.
- FERREIRA, S.L.C. et al. Box-Behnken design: An alternative for the optimization of analytical methods. **Analytica Chimica Acta**, v. 597, p. 179–186, 2007.
- HEINEMANN, R.J.B. et al. Comparative study of nutrient composition of commercial brown, parboiled and milled rice from Brazil. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.18, p. 287–296, 2005.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa de orçamentos familiares 2008-2009**: análise do consumo alimentar pessoal no Brasil. Rio de Janeiro : IBGE, 2011.

INMETRO. Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia. **Orientação sobre validação de métodos analíticos**. DOQ-CGCRE-008, jul. 2011.

JIANG S. L. et al. Genotypic variation of mineral elements contents in rice (*Oryza sativa* L.). **European Food Research and Technology**, v. 228, p.115-122, 2008.

JORHEM, L. et al. Elements in rice from the Swedish market: Cadmium, lead and arsenic (total and inorganic). **Food Additives and Contaminants**, v.25, n. 3, p. 284-292, Mar. 2008.

KORN, M. G. A. et al. A critical evaluation of digestion procedures for coffee samples using diluted nitric acid in closed vessels for inductively coupled plasma optical emission spectrometry. **Talanta**, v. 78, p. 1378-1382, 2009.

KRUG, F. J. et al. **Métodos de preparo de amostras**. Fundamentos sobre o preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar. 1ª edição. Piracicaba, SP: CENA/USP, 2008.

LEAL, F. et al. Importância da especiação de metais na avaliação do seu impacto na saúde humana – desenvolvimento de metodologias voltamétricas com eletrodos de filme de bismuto. **Revista de Faculdade de Ciências e Saúde**, Porto, v. 6, p. 220-230, 2009.

LEHN, S. A. et al. Effect of sample matrix on the fundamental properties of the inductively coupled plasma. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 58, p. 1785-1806, 2003.

LENARDÃO, E. J. Green chemistry” – Os 12 princípios da química verde e sua inserção nas atividades de ensino e pesquisa. **Química Nova**, v. 26, n. 1, p. 123-129, 2003.

LOPES, W.L. et al. Application of multivariate techniques in the optimization of a procedure for the determination of bioavailable concentrations of Se and As in estuarine sediments by ICP OES using a concomitant metals analyzer as a hydride generator. **Talanta**, v. 79, p.1276-1282, 2009.

MIHUCZ, V. G. et al. 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**, v.121, p. 290–297, 2010.

NITZKE J. A.; BIEDRZYCKI, A. **Terra de arroz**. Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Disponível em <<http://www.ufrgs.br/alimentus/terradearroz/index.htm>>. Acesso em 03 de jul. de 2012.

NOGUEIRA, A. R. A. et al. Effect of acid concentration on closed-vessel microwave-assisted digestion of plant materials. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 57, p. 2121-2132, 2002.

NOGUEIRA, A. R. A. et al. Microwave-assisted digestion procedures for biological samples with diluted nitric acid: Identification of reaction products. **Talanta**, v. 79, p. 396-401, 2009.

NOGUEIRA, A. R. A. et al. Microwave-assisted digestion in closed vessels: effect of pressurization with oxygen on digestion process with diluted nitric acid. **Analytical Methods**, v. 2, p. 734–738, 2010.

NRIAGU, J. O.; LIN, T. Trace metals in wild rice sold in the United States. **The Science of the Total Environment**, v. 172, p. 223-228, 1995.

OKADA, I. A. et al. Validação e aplicação de metodologia analítica na determinação de nutrientes inorgânicos em arroz polido. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 3, p. 492-497, 2007.

OLIVEIRA, A.; BACCAN, N.; CADORE, S. Evaluation of Metal Ions in Rice Samples: Extraction and Direct Determination by ICP OES. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 23, n. 5, p. 838-845, 2012.

PARENGAM, M. et al. Study of nutrients and toxic minerals in rice and legumes by instrumental neutron activation analysis and graphite furnace atomic absorption spectrophotometry. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 23, p. 340–345, 2010.

PINHO, Gevany P. **Efeito de componentes da matriz na análise de agrotóxicos por cromatografia gasosa**. 2009. 226 f. Tese (Doutorado) –Universidade Federal de Viçosa, 2009.

PRADO, Alexandre G. S. Química verde, os desafios da química do novo milênio. **Química Nova**, v. 26, n. 5, p. 738-744, 2003.

RIBANI, M. et al. Validação em Métodos Cromatográficos e Eletroforéticos. **Química Nova**, v.27, n. 5, p. 771-780, 2004.

,T.; TOKUNAGA,H.; MASANORI, A. Survey of arsenic and other heavy metals in food composites and drinking water and estimation of dietary intake by the villagers from an arsenic-affected area of West Bengal, India. **The Science of the Total Environment**, v.308, p.15-35, 2003.

SANTOS, WAGNA P. C. **Estratégias para avaliação da composição mineral de leguminosas produzidas e comercializadas no Estado da Bahia**. 2008. 226 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia, 2008.

SANTOS, W. P. C. et al. Application of multivariate optimization in the development of an ultrasound-assisted extraction procedure for multielemental determination in bean seeds samples using ICP OES. **Microchemical Journal**, v.91, p. 153-158, 2009.

SKOOG, D. A. et al. **Fundamentos de Química Analítica**, 8 ed., São Paulo: Thomson, 2006.

SOUZA, Valmir Z. **Otimização dos parâmetros de controle de um processo de fabricação de latas**. 2002. 76 f. Dissertação (Mestrado Engenharia de Produção) – Universidade Federal de Itajubá, 2002.

STORCK C. R.; SILVA, L. P.; COMARELLA, C. G. Influência do processamento na composição nutricional de grãos de arroz. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v.16, n.3, p. 259-264, 2005.

TEIXEIRA, ALETE P. **Determinação de elementos essenciais em arroz empregando espectrometria de fluorescência de raios X de energia dispersiva**.

2010. 71 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia, 2010.

TEIXEIRA, A. P. et al. Determinação de Mn e Zn em arroz empregando espectrometria de fluorescência de raios X de energia dispersiva. **Química Nova**, v. 35, n. 6, p. 1133-1136, 2012.

VIEIRA, C.R. et al. Extração enzimática das proteínas da farinha de arroz. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 3, p. 599-606, 2008.

WALTER, M.; MARCHEZAN, E.; AVILA, L. A. Arroz: composição e características nutricionais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.4, p. 1184-1192, 2008.

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