

AVALIAÇÃO DE MÉTODOS DE PREPARO DE AMOSTRAS PARA A DETERMINAÇÃO DE As, Cd, Pb E Se EM ARROZ POR GF AAS

**RICHARD MACEDO DE OLIVEIRA¹; ANA CLARA NASCIMENTO ANTUNES²;
ALINE LISBOA MEDINA²; MARIANA ANTUNES VIEIRA²; ANDESÓN
SCHWINGEL RIBEIRO³**

^{1,2}*Laboratório de Metrologia Química, Universidade Federal de Pelotas, RS, Brasil –*
ricoliveiraqi@gmail.com

³*Laboratório de Metrologia Química, Universidade Federal de Pelotas, RS, Brasil –*
andersonsch@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

O arroz é um alimento de primeira necessidade, visto que é fonte de alimentação para metade da população mundial (FAO, 2013). Este cereal possui uma matriz complexa, rica em proteínas, vitaminas e minerais, porém, devido a grande exposição de poluentes ambientais, causada por diversas ações antropogênicas nas culturas de arroz, a presença de diversos contaminantes inorgânicos podem estar presentes nos grãos de arroz, entrando no organismo humano via oral (JULIANO, 1993) (GOMES, 2014). Desta forma, fica evidente que elementos, tais como, As, Cd, Pb e Se devem ser constantemente monitorados, a fim de evitar ao máximo a exposição destes elementos aos seres humanos.

Para realizar a determinação destes elementos, se faz necessário que uma técnica instrumental analítica consiga ser altamente seletiva e sensível, pois estes elementos encontram-se em nível de concentração traço (ppb) e ultra traço (ppt) em matrizes de cereais. Entre as técnicas analíticas, a espectrometria de absorção atômica em forno de grafite (GF AAS), se caracteriza por possuir estas particularidades, além de necessitar de 20 a 50 µL de solução da amostra para as determinações dos elementos. Entretanto, a introdução das amostras na maior parte dos equipamentos, necessita estar na forma líquida, e assim, deve ser aplicado um preparo de amostras adequado para o arroz. (WELZ, 1999)

A grande maioria dos métodos de preparo de amostras de arroz é feita em sistemas abertos por digestão ácida, que por sua vez, pode levar a secura do ácido utilizado para decomposição, além da possibilidade de volatilização dos elementos voláteis, tais como, As, Cd, Pb e Se (MATOS-REYS, 2010). Por outro lado, há decomposição de arroz em sistemas fechados, os quais evitam que estes inconvenientes interfiram nos resultados analíticos (OHNO, 2009). Entretanto, estes métodos não são simples, muitas vezes apresentam uma baixa frequência analítica, além de serem equipamentos sofisticados e caros, fazendo com que muitos laboratórios não utilizem esta tecnologia, pois também necessitam de profissionais altamente qualificados, dificultando assim a sua utilização em análise de rotina (ORESTE, 2013). Assim, fica evidente da necessidade no desenvolvimento de novos métodos de preparo de amostra de arroz, que consigam aliar, simplicidade, baixo custo, eficiência, além de evitar a volatilização de ácidos e elementos voláteis.

Tendo em vista esta necessidade, o objetivo deste trabalho é realizar a avaliação da decomposição ácida em um sistema semiaberto com acoplamento de um dedo frio com refluxo de água, além de avaliar a eficiência da dissolução ácida e básica assistida em banho ultrassônico, em amostras de arroz branco polido (AB), parboilizado (AP) e integral (AI) cru e cozido, para a posterior determinação de As, Cd, Pb e Se por GF AAS.

2. METODOLOGIA

Para o estudo foram utilizadas três diferentes formas de arroz: branco polido, parboilizado e integral, todas adquiridas em comércio local. Com a finalidade de validação dos três procedimentos estudados foi utilizado o Material de Referência Certificado (CRM) NIST 1568a (*Rice flour*), além do teste de adição e recuperação, no qual consistiu na adição de 1000,0; 20,0; 400,0 e 2000,0 ng g⁻¹ de As, Cd, Pb e Se, respectivamente, sobre todas as amostras de arroz cru e cozido.

As amostras foram preparadas utilizando três diferentes procedimentos, sendo que em todos os procedimentos foram utilizadas 0,75 g para as amostras reais e 0,25 g para o CRM, tendo ao final de cada procedimento, volumes aferido com água desionizada a 30 e 14 mL, respectivamente. Abaixo são apresentados os procedimentos avaliados.

1º. Decomposição com HNO₃ em sistema de refluxo:

Todas as amostras foram pesadas diretamente em tubos digestores, seguido da adição de 10,0 mL de HNO₃ e após o acoplamento do dedo frio em cada frasco, o conjunto foi posicionado no bloco digestor e submetidos a uma etapa de aquecimento a 120 °C por 1 h e 30 min, com o sistema de refluxo ativado com circulação de água a 15 °C. Após o resfriamento das amostras a temperatura ambiente, as soluções resultantes foram transferidas a frascos volumétricos e aferidos com água desionizada.

A pesagem das amostras reais de arroz cru e cozidos, a quantidade de ácido utilizado, bem como o tempo e temperatura de decomposição utilizada, foram escolhidas de acordo com os resultados obtidos pelo estudo de otimização de um Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR).

2º. Decomposição com HNO₃ em banho ultrassônico:

Todas as amostras foram pesadas diretamente em frascos de polietileno de 50 mL previamente calibrados, seguidos da adição de 5,0 mL de HNO₃ e submetidos a digestão assistida em banho ultrassônico com aquecimento a 80 °C por 2 h com os frascos semiabertos, para alívio da pressão e evitar risco de explosão durante o procedimento. Após o resfriamento a temperatura ambiente, os frascos foram aferidos com água desionizada.

3º. Solubilização Alcalina com TMAH:

Todas as amostras foram pesadas diretamente em frascos de polietileno de 15 ou 50 mL previamente calibrados, seguidos da adição de 2,3 e 1,2 mL da solução de hidróxido de tetrametilamônio (25% m/v em H₂O) para as amostras cruas e cozidas, respectivamente, enquanto que para o CRM foi adicionado 1,25 mL. Posteriormente, todos os frascos contendo as amostras e reagente, foram colocados em banho ultrassônico com aquecimento a 60 °C por 2 h, a fim de aumentar a velocidade de solubilização das amostras. Após o resfriamento a temperatura ambiente, os frascos foram aferidos com água desionizada.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A fim de garantir a determinação dos elementos livres de interferências, que permita a calibração do equipamento com soluções aquosas e que ainda possam resultar em uma máxima sensibilidade e precisão dos resultados, fez-se a otimização de tempo e temperatura de pirólise e atomização de As, Cd, Pb e Se através do programa do forno de grafite, conforme está apresentado na Tabela 1. Assim, avaliou-se a estabilidade térmica dos quatro analitos em meio aquoso e na

presença da matriz da amostra de arroz cru do tipo branco, em meio de TMAH e HNO_3 , com e sem o presença da modificação química, obtida através da mistura de 3 μg de Mg + 5 μg de Pd.

Tabela 1: Programa de tempo e temperatura do forno de grafite para a determinação de As, Cd, Pb e Se em amostras de arroz tratadas em meio de HNO_3 e TMAH.

Etapas	Temperatura (°C)	Rampa (°C s ⁻¹)	Tempo de permanência (s)	Vazão do gás (L min ⁻¹)
Secagem 1*	110	5	30	250
Secagem 2*	130	15	30	250
Pirólise	400 ^a e 680 ^{a,t} ; 900 ^b ; 1000 ^{c,d}	10	20	250
Atomização	1200 ^{a,at} ; 1800 ^b ; 1800 ^c ; 2200 ^d	0	5	0
Limpeza*	2450	1	3	250

* Estágios recomendados pelo fabricante do equipamento;

a: Cd; at: Cd (TMAH); b: Pb; c: Se, d: As.

Como parâmetros de mérito, as curvas para os diferentes procedimentos e elementos obtiveram boa linearidade, pois os valores do coeficiente de correlação linear (R^2) foi maior que 0,99. Em comparação aos procedimentos pode-se observar que em meio ácido (HNO_3), as maiores sensibilidades, observado pelo coeficiente de correlação angular (a), e os menores limites de detecção e quantificação (LD) e (LQ) foram alcançados para os diferentes analitos, enquanto que, em meio básico (TMAH) menores sensibilidades e maiores LDs e LQs foram observados.

Tabela 2: Parâmetros de mérito para As, Cd, Pb e Se, para os três procedimentos estudados.

Analito	Faixa ($\mu\text{g L}^{-1}$)	HNO ₃ (Refluxo)			HNO ₃ (Ultrassom)			TMAH		
		a (L μg^{-1})	LD (ng g ⁻¹)	LQ (ng g ⁻¹)	a (L μg^{-1})	LD (ng g ⁻¹)	LQ (ng g ⁻¹)	a (L μg^{-1})	LD (ng g ⁻¹)	LQ (ng g ⁻¹)
Cd	0,25 – 1,0	0,0505	1,20	3,40	0,5538	2,70	8,20	0,0304	1,94	5,90
Pb	5,0 – 20,0	0,0008	99,64	301,94	0,0006	91,26	276,56	0,0006	120,14	364,06
Se	25,0 – 100,0	0,0012	450,37	1364,78	0,0012	471,28	1428,13	0,0007	1287,48	3941,48
As	10,0 – 40,0	0,0018	197,20	598,01	0,0019	186,40	564,84	0,0015	252,97	766,58

A concentração média de Cd nas amostras de AB, AP e AI cruas foi de 7,6, 11,3 e 17,2 ng g^{-1} , respectivamente, enquanto que para Pb, foram observadas concentrações médias de 150,2, 120,9 e 260,1 ng g^{-1} para AB, AP e AI, respectivamente. Deste modo, pode-se perceber que o AI tem maior facilidade em absorver estes elementos em comparação às outras formas estudadas. Em relação às amostras cozidas, pode-se observar diminuições de até 61,0 e 22,6% da concentração de Cd e Pb, respectivamente. Para todos os procedimentos, as concentrações de As e Se não puderam ser determinadas com confiabilidade, pois permaneceram abaixo do LD.

Na CRM as concentrações de As, Cd, Pb e Se estiveram de acordo com o valores certificados, confirmando a validação dos três procedimentos. Além disto, foram obtidos recuperações de 80 a 115%, no teste de adição e recuperação. Quando aplicado o teste *t*-student a 95% de confiança, não foi observado diferenças significativas entre os métodos para todos os analitos estudados.

4. CONCLUSÕES

Com a grande busca em alternativas para o preparo de amostras de arroz, que possam ser de fácil manipulação, de baixo custo e que ao mesmo tempo possam tornar possível a determinação de elementos facilmente volatilizados, os três métodos apresentados possuíram tais características. Entretanto, quando comparado a eficiência destes três métodos, o procedimento de digestão com refluxo de água no dedo frio, mostrou-se mais seguro, eficiente na decomposição orgânica, além de apresentar ótimos valores de sensibilidade e LDs. Os procedimentos utilizando banho ultrassônico em meio de HNO_3 e TMAH obtiveram respostas analíticas adequadas e ótimas recuperações no teste de adição e CRM, porém, algumas desvantagens foram encontradas, tais como, a baixa homogeneidade das ondas ultrassônicas, além do risco de explosão causada principalmente pela liberação de gases na digestão ácida.

Em relação aos níveis dos elementos, ficou evidente que o AI é a forma de arroz que tem a maior capacidade de retenção destes metais provenientes da poluição humana, principalmente por possuir em sua constituição o farelo. Nas amostras cozidas, atenuações na concentração de Cd foi mais acentuada em relação ao Pb. Infelizmente, não se pode determinar a concentração de Se e As com confiabilidade, pois os LDs dos dois elementos foram muito superiores para a detecção na técnica de GF AAS.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- FAO - **Food Agricultural Organization Statistical Yearbook**. World food and agriculture, 2013.
- GOMES, M. A. F.; BARIZON, R. R. M. **Panorama da Contaminação Ambiental por Agrotóxicos e Nitrato de origem Agrícola no Brasil: cenário 1992/2011**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2014, 36p. (Embrapa Meio Ambiente, Documentos, 98).
- JULIANO, B.O. **Rice in human nutrition**. Rome: FAO, 1993.
- MATOS-REYES, M. N.; CERVERA, M. L.; CAMPOS, R. C.; DE LA GUARDIA, M. Total content of As, Sb, Se, Te and Bi in Spanish vegetables, cereals and pulses and estimation of the contribution of these foods to the Mediterranean daily intake of trace elements. **Food Chemistry**, v. 122, p.188–194, 2010.
- OHNO, K.; MATSUO, Y.; KIMURA, T.; YANASE, T.; RAHMAN, M. H.; MAGARA, Y. Effect of rice-cooking water to the daily arsenic intake in Bangladesh: results of field surveys and rice-cooking experiments, **Water Sci. Technol.**, v. 59, p. 195–201, 2009.
- ORESTE, E. Q.; DE JESUS, A.; OLIVEIRA, R. M.; DA SILVA, M. M.; VIEIRA, M. A.; RIBEIRO, A. S. New design of cold finger for sample preparation in open system: Determination of Hg in biological samples by CV-AAS. **Microchemical Journal (Print)**, v. 109, p. 5-9, 2013.
- WELZ, B.; SPERLING, M.; **Atomic Absorption Spectrometry**, 3rd ed., Wiley-VCH: Weinheim, 1999.