

AVALIAÇÃO DA MINERALIZAÇÃO DE ARROZ EM SISTEMA DE REFLUXO PARA A DETERMINAÇÃO DE Cu, Fe, Mn E Zn POR FAAS

Aline Colvara de Almeida Pinheiro, Meibel Teixeira Lisboa, Anderson Schwingel Ribeiro, Adriane Medeiros Nunes* e Alzira Yamasaki

Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, 96160-000 Capão do Leão – RS, Brasil

Recebido em 06/02/2013; aceito em 02/08/2013; publicado na web em 02/09/2013

EVALUATION OF RICE SAMPLE MINERALIZATION USING A REFLUX SYSTEM FOR DETERMINATION OF Cu, Fe, Mn AND Zn BY FAAS. This paper describes the evaluation of a new method of sample preparation using a cold finger system with continuous water flow for rice analysis by flame atomic absorption spectrometry. The limits of detection for Cu, Fe, Mn and Zn for the proposed method were 0.36, 1.84, 2.12 and 0.16 mg kg⁻¹, respectively. The RSDs were lower than 6.0% for all elements and the CRM analyzed showed values with 95% agreement. The proposed method is simple and safe for the proposed objective and does not require the use of mixtures of acid or special equipment for sample preparation.

Keywords: rice; sample preparation; cold finger system.

INTRODUÇÃO

O arroz (*Oryza sativa*) é um dos principais alimentos consumidos e produzidos no mundo. Atualmente, o Brasil é considerado o nono maior produtor mundial deste cereal e sua produção está distribuída entre os estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Mato Grosso. Dentre estes estados, o Rio Grande do Sul destaca-se como o maior produtor brasileiro, contribuindo com 54 % da produção nacional. As estimativas de produção de arroz no Brasil mostram que 14,12 milhões de toneladas de arroz será colhida na safra de 2019/2020, o que equivale a um aumento de 1,15 % nos próximos 10 anos. Sendo assim, seu consumo também deverá crescer (taxa média anual de 0,86 %), alcançando em média 14,37 milhões de toneladas para este mesmo período.^{1,2}

De acordo com a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO), o arroz é uma excelente fonte de energia e proteína, fornecendo também vitaminas e minerais.³ Porém, apesar de ser considerado um alimento importante na alimentação humana, sua composição nutricional deve ser periodicamente avaliada tendo em vista que diversos fatores podem influenciar seus valores nutricionais, como o tipo de cultivar (fertilização e condições do solo), bem como o processamento no qual cada tipo de arroz é submetido.^{4,5}

Para a obtenção do arroz integral, apenas a casca é retirada do grão. Por este motivo, este tipo de arroz apresenta um maior teor de nutrientes na sua composição, quando comparado ao branco e ao parboilizado. Já no arroz branco, todas as camadas externas (pericarpo, tegumento, camada de aleurona e embrião) são retiradas, com o intuito de melhorar o gosto e a aparência do arroz, consequentemente seu valor nutricional é diretamente influenciado, uma vez que parte dos minerais, vitaminas, fibra dietética, e outras substâncias de relevância nutricional apresentam-se em maior concentração nas camadas externas do grão. No processo de parboilização, normalmente observa-se um aumento no conteúdo mineral quando comparado ao arroz branco, o que pode estar relacionado à migração dos minerais presentes nas camadas externas do grão para o endosperma durante o respectivo tratamento.^{6,7} Sendo assim, estudos apontam para estes fatos e vêm evidenciando perdas significativas de alguns nutrientes devido ao polimento, o que ressalta a importância do desenvolvimento de métodos de análise confiáveis para a quantificação dos principais

nutrientes presentes em amostras de arroz, podendo, desta forma, garantir a qualidade nutricional deste alimento.

Dentre os métodos convencionais citados na literatura para determinação de metais em amostras de arroz, a etapa de pré-tratamento das amostras merece especial atenção, já que o arroz apresenta-se como uma matriz de difícil digestão, devido a sua estrutura conter carboidratos na sua constituição.¹ Desta forma, quando se faz uso de sistemas abertos de digestão com aquecimento, misturas de ácidos oxidantes normalmente são utilizadas para uma completa solubilização das amostras.⁸⁻¹⁰

Recentemente, o uso de sistemas de refluxo na preparação das amostras vem se apresentando como uma alternativa promissora aos métodos convencionais de digestão ácida. O dedo frio trata-se de um tubo de vidro acoplado aos tubos comerciais de digestão durante o procedimento de mineralização ácida com aquecimento. Nesse tubo, coloca-se água ou a água é continuamente circulada com o objetivo de promover o resfriamento da parte superior do tubo digestor, o que causa desta forma o refluxo da solução.¹¹

A condensação dos ácidos para dentro do tubo de digestão evita a necessidade de reposição destes reagentes durante o processo de mineralização das amostras, o que normalmente se faz necessário quando sistemas de digestão abertos são utilizados. Consequentemente, menos reagentes são consumidos e o risco de contaminação por estes pode ser consideravelmente diminuído, o que justifica o uso destes sistemas de refluxo em procedimentos de preparação das amostras para determinação de elementos como Cu, Fe, Mn, Zn, dentre outros.¹¹⁻¹³

Neste contexto, o trabalho teve como principal objetivo avaliar a aplicabilidade de um novo sistema de refluxo, o qual permite uma circulação contínua de água, para o preparo de amostras de arroz com subsequente determinação de Cu, Fe, Mn e Zn por espectrometria de absorção atômica com chama.

PARTE EXPERIMENTAL

Equipamentos e parâmetros instrumentais

Um espectrômetro de absorção atômica modelo AA-6300 (Shimadzu, Japão) com chama ar/acetileno e equipado com lâmpada de arco de deutério como corretor de fundo foi utilizado para a determinação de Cu, Fe, Mn e Zn em amostras comerciais de arroz e

*e-mail: adriane.mn@hotmail.com

material de referência certificado (CRM). Foram utilizadas lâmpadas de cátodo oco (Hamamatsu Photonics K.K, Japão), para cada elemento como fonte de linha e empregadas as condições operacionais recomendadas pelo fabricante do equipamento: comprimento de onda de 324,8, 248,3, 279,5 e 213,9 nm e corrente da lâmpada de 6/0, 12/0, 10/0 e 10/0 mA para Cu, Fe, Mn e Zn, respectivamente.

As amostras foram secas em uma estufa (Odontobrás, Brasil) e o processo de trituração foi feito a partir do uso de um miniprocessador de alimentos (Walita, Brasil). Para todos os processos de pesagem foi utilizada uma balança analítica com resolução de 0,1 mg e tara máxima de 210 g (Ohaus Adventurer, Modelo AR 2140, Pine Brook, NJ, E.U.A.).

Para a digestão das amostras pelo método proposto foi utilizado um bloco digestor convencional (Marconi, modelo MA 4025, Brasil), equipado com um sistema de dedo frio com circulação de água o qual foi adaptado por Orestes *et al.*,¹² em recente trabalho. A Figura 1 apresenta a ilustração do sistema de dedo frio utilizado:

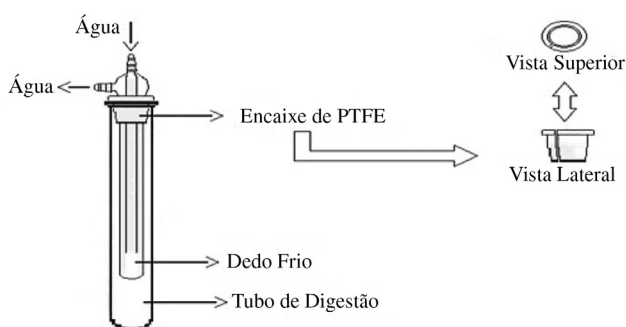


Figura 1. Esquema representativo do sistema de dedo frio com circulação de água¹² (adaptado de Orestes *et al.*, 2012)

Reagentes e soluções

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico. A água utilizada no preparo das amostras e das soluções foi obtida por um sistema de purificação de água Direct-Q 3 (Millipore Corporation, Bedford, MA, E.U.A.), com resistividade de 18,2 MΩ cm. Para o preparo das amostras foi utilizado Ácido perclórico (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil) e Ácido nítrico 65 % (m/m) (Synth, Brasil), o qual foi purificado a partir de um sistema de destilação de subebulição de quartzo MA-075 (Marconi, Piracicaba, SP, Brasil).

Soluções padrão de Cu, Fe, Mn e Zn foram diariamente preparadas a partir da diluição de soluções estoques contendo 1000 mg L⁻¹ (Fluka, Buchs, Alemanha) de cada elemento em água deionizada. As curvas de calibração foram construídas a partir desses padrões em concentrações que variaram entre 0,5 e 2,5 mg L⁻¹ para Mn, 0,05 e 0,4 mg L⁻¹ para Zn, 0,25 e 2,0 mg L⁻¹ para Cu e Fe.

Os frascos de polipropileno (PP), materiais de vidro e os tubos do bloco digestor foram lavados primeiramente com água de torneira, seguidos de imersão em uma solução de HNO₃ 10% (v/v) por pelo menos 48 h, sendo posteriormente lavados com água deionizada e secos, sendo que os materiais de vidro foram secos em estufa. Para obter uma melhor eficiência de descontaminação, antes de passar pelo banho de HNO₃, os tubos do bloco digestor também passaram por um banho de KOH 10% (v/v).

Preparo das amostras

As amostras de arroz branco, parboilizado e integral utilizadas foram adquiridas no comércio local da cidade de Pelotas, RS. Inicialmente, cerca de 20 g das amostras foram diretamente pesadas

em um frasco de vidro e levadas até uma estufa, onde foram secas a uma temperatura em torno de 60 °C por 48 horas. Após esta etapa permaneceram em um dessecador até atingirem temperatura ambiente para posterior pesagem. Dando continuidade ao procedimento, as amostras foram submetidas a um processo de trituração até que o grão adquirisse a forma de um pó homogêneo. Posteriormente, estas foram colocadas em frascos de polipropileno (PP) previamente calibrados e acondicionadas em dessecador até o momento da análise.

As amostras comerciais (arroz parboilizado, branco e integral) foram tratadas a partir de três diferentes procedimentos de preparo para determinação de Cu, Fe, Mn e Zn, os quais serão descritos abaixo. Os procedimentos 2 e 3 foram utilizados para verificar a exatidão do método proposto por meio da comparação dos resultados obtidos. Para verificar também a exatidão do método proposto, o CRM citado anteriormente foi preparado somente pela digestão ácida com sistema de refluxo.

Procedimento 1 – Digestão ácida com sistema de refluxo

Para o desenvolvimento do método de preparo de amostra por digestão ácida com sistema de refluxo, aproximadamente 0,50 g de cada amostra de arroz foi pesada diretamente nos tubos de digestão, seguido da adição de 5,0 mL de HNO₃ e levados para o bloco digestor. A seguir, o sistema de refluxo foi acoplado aos tubos de digestão e submetido ao aquecimento imediato no bloco digestor com temperatura de 210 °C por um período de 3 h. Após o resfriamento, as amostras foram transferidas de forma quantitativa para os frascos de polipropileno e avolumadas a 20,0 mL com água deionizada.

Procedimento 2 – Método convencional 1

Amostras de arroz foram digeridas segundo o método descrito por Tedesco *et al.*¹⁴ Para este procedimento foi pesado aproximadamente 1,0 g de amostra, diretamente nos tubos de digestão, onde foram adicionados 6,0 mL de HNO₃ e deixados em repouso durante a noite. Após este período, essa solução foi levada a aquecimento em bloco digestor por 30 min a 85 °C. Posteriormente, a temperatura foi elevada a 120 °C e mantida até restar 1 mL de solução da amostra. Essa solução foi resfriada até temperatura ambiente e a ela foi adicionado 1,0 mL de HClO₄, sendo esta aquecida à temperatura do bloco digestor de 185 °C. Ao atingir a estabilização da temperatura e ocorrer o desprendimento dos gases, foi adicionado um funil na saída dos tubos, evitando-se desta forma a secura total da amostra devido a possíveis perdas de ácido por volatilização. Essa temperatura foi mantida por 2 h, sendo a solução resfriada à temperatura ambiente e posteriormente transferida para frascos de polipropileno, os quais foram avolumados a 20 mL com água deionizada.

Procedimento 3 – Método convencional 2

Amostras de arroz foram digeridas segundo o método descrito por Malavolta *et al.*¹⁵ Para o método convencional 2, foi pesado aproximadamente 0,50 g de amostra diretamente nos tubos de digestão e foi adicionado uma mistura de 4,0 mL de HNO₃ com 2,0 mL de HClO₄, totalizando um volume ácido de 6,0 mL. Essa solução foi levada a aquecimento, com um aumento gradativo da temperatura até chegar a 160 °C no bloco digestor, e mantida até o volume se reduzir a metade. Depois a temperatura do bloco digestor foi elevada a 210 °C e mantida até que o extrato ficasse incolor, o que necessitou de aproximadamente 20 min de aquecimento. Essa solução foi resfriada e transferida para frascos de polipropileno e avolumadas a 20,0 mL com água deionizada.

Metodologia

Primeiramente, os estudos foram realizados com o objetivo de verificar possíveis erros de pesagem, eliminando a umidade da

Tabela 1. Valores de concentrações de Cu, Fe, Mn e Zn em diferentes amostras de arroz utilizando diferentes procedimentos de digestão ácida (n=3)

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

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

amostra, conforme descrito no item de preparo das amostras. Por meio deste estudo foi possível calcular também o teor de umidade referente a cada amostra de arroz analisada.

A fim de avaliar a possibilidade da construção das curvas analíticas em meio aquoso, para os diferentes elementos determinados, um estudo adicional de calibração comparando-se a inclinação das curvas foi realizado. Visto que as curvas obtidas, tanto em meio aquoso como nos demais meios de preparo, não apresentaram diferenças significativas, as análises foram feitas a partir da preparação das curvas de calibração em soluções aquosas.

Como descrito anteriormente, a fim da validação da metodologia proposta, as amostras de arroz foram tratadas por meio de diferentes procedimentos de preparo, bem como a partir do uso de um material de referência certificado (CRM 1568-Farinha de arroz), produzido pelo NIST (National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD, USA).

Cabe salientar também que todas as soluções mineralizadas das amostras, quando necessário, foram diluídas com água deionizada, até que estas ficassem dentro da faixa linear de calibração.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Comparação entre os procedimentos de preparo das amostras

Quando se faz uso de sistemas abertos de digestão, frequentemente, os métodos de preparo de amostras para análise de alimentos empregando técnicas espectrométricas utilizam misturas ácidas ou meios ácidos na presença de reagentes oxidantes para a sua completa digestão.¹⁶ Entretanto, recentemente, os sistemas de refluxo com dedo frio vêm apresentando grande aplicabilidade no preparo de amostras de diferentes matrizes, sejam elas orgânicas ou inorgânicas. O uso destes sistemas possibilita a condensação dos ácidos utilizados, o que evita a reposição destes durante a etapa de digestão, propiciando uma redução no consumo de reagentes e dispensando um controle minucioso da temperatura. Isso possibilita a operação em temperaturas mais elevadas, reduzindo o tempo de preparo e minimizando os riscos de contaminação, justificando a utilização destes sistemas no preparo de amostras para determinação de elementos como Cu, Fe, Mn e Zn.^{11-13,17}

Conforme os resultados apresentados na Tabela 1, foi possível observar que o procedimento proposto baseado na digestão ácida com sistema de refluxo (procedimento 1), aplicado à análise de três diferentes amostras de arroz (parboilizado, integral e branco) para a determinação de Cu, Fe, Mn e Zn por FAAS, apresentou resultados satisfatórios em relação a sua exatidão, pois quando comparado com métodos convencionais de preparo das amostras as concentrações obtidas estão em concordância para os analitos em estudo, não apresentando diferenças significativas, como se verificou por meio do teste *t-student* pareado com 95% de confiança.

Com o mesmo objetivo de avaliar a exatidão do método proposto, a análise de uma amostra de material de referência certificado (farinha de arroz NIST 1568a) foi feita por FAAS e os respectivos analitos foram quantificados. Com base nos resultados apresentados na Tabela 2, pode-se verificar também que, os valores de concentração para Cu, Fe, Mn e Zn obtidos foram satisfatórios, com aproximadamente 95% de concordância entre os valores encontrados e os valores certificados.

Tabela 2. Valores de concentração de Cu, Fe, Mn e Zn encontrados no CRM por FAAS (média ± desvio padrão, n=3) através do processo de digestão ácida com sistema de refluxo

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

RSD = Desvio Padrão Relativo.

Cabe salientar que este método também mostrou ser simples, pois dispensa o uso do ácido perclórico ou misturas ácidas no preparo das amostras, conforme utilizados nos métodos convencionais de análise. Dessa forma, evita-se a necessidade de reposição do ácido durante o processo de digestão e minimizam-se os custos referentes à análise, bem como possíveis contaminações. É importante salientar também que o sistema utilizado é facilmente adaptado aos sistemas de digestão convencionais.

Resultados analíticos

De acordo com a FAO, o arroz, de uma forma em geral, é um cereal de extrema importância para o ser humano, sendo ele capaz de suprir as necessidades diárias de um adulto (20% de energia e 15% de proteína) e de se apresentar como fonte de vitaminas e minerais.³ No entanto, sabe-se que o conteúdo mineral do arroz pode ser fortemente influenciado pelas condições de cultivo, bem como aos diferentes tipos de processamento aos quais estes são submetidos.^{4,5}

Com base nos resultados da Tabela 1, que apresenta as concentrações dos analitos em estudo (Cu, Fe, Mn e Zn), para as diferentes amostras de arroz analisadas (parboilizado, integral e branco) pode-se verificar que o teor dos nutrientes é realmente influenciado pelo processamento. Das amostras analisadas, observou-se que, de forma geral, o arroz integral foi o que apresentou maior quantidade de minerais, o que está em concordância com o esperado, sendo que os resultados para Cu não apresentaram diferenças significativas em relação a todas as amostras analisadas. No entanto, é importante salientar que no arroz integral, devido aos maiores teores de fibra e ácido fítico, não necessariamente esta maior concentração de Fe, Mn e Zn será absorvida pelo organismo, pois a biodisponibilidade destes elementos pode ser diretamente afetada pela natureza da matriz da amostra.¹⁸

Como os minerais apresentam-se normalmente em maiores concentrações nas camadas externas do grão, é esperado que, devido às etapas de processamento do arroz branco polido, ocorram perdas nos teores de nutrientes. Porém, de acordo com os resultados apresentados na Tabela 1, os valores encontrados para Mn e Zn na amostra de arroz parboilizado apresentaram concentrações menores quando comparado à amostra de arroz branco polido, o que de acordo com Storck e Heinemann *et al.*^{19,4} pode estar relacionado aos diferentes padrões de migração durante o processo de parboilização, que é característico a cada elemento, o que vem a justificar as diferentes concentrações encontradas nos grãos analisados.

Parâmetros de mérito

Os parâmetros de mérito obtidos para as curvas de calibração para Cu, Fe, Mn e Zn por FAAS, a partir do método proposto de preparo das amostras por digestão ácida com sistema de refluxo (procedimento 1), estão apresentados na Tabela 3. Como podem ser observados, os valores do coeficiente de correlação (R) foram superiores a 0,99, atestando a boa linearidade do método, referente à faixa linear específica para cada analito.

Tabela 3. Parâmetros de Mérito para determinação de Cu, Fe, Mn e Zn em amostras de arroz pelo método proposto de digestão ácida com sistema de refluxo por FAAS

Analito	Faixa Linear (mg L ⁻¹)	a (mg L ⁻¹)	R	LD (mg L ⁻¹)	LQ (mg L ⁻¹)	LD* (mg kg ⁻¹)
Cu	0,25-2,0	0,114	1,000	0,009	0,030	0,36
Fe	0,25-2,0	0,039	0,995	0,046	0,150	1,84
Mn	0,50-2,5	0,119	0,999	0,053	0,179	2,12
Zn	0,05-0,4	0,399	0,994	0,004	0,015	0,16

a- Sensibilidade; R- Coeficiente de correlação linear; LD- Limite de Detecção Instrumental; LQ- Limite de Quantificação Instrumental; LD*- Limite de Detecção do Método.

De acordo com os desvios padrão relativos (RSD \leq 6,0 %) apresentados na Tabela 1, verificou-se que o método se mostrou preciso, apresentando também limites de detecção satisfatórios para os elementos em questão.

Com o intuito de verificar a repetibilidade do sistema, análises do material de referência certificado foram feitas em diferentes dias e os

valores de RSDs para Zn e Fe foram menores que \leq 5,0 %.

CONCLUSÃO

O método de digestão ácida acoplado ao sistema de refluxo utilizado para o preparo das amostras de arroz apresentou-se como um método eficiente e simples para as determinações de Cu, Fe, Mn e Zn por FAAS.

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

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelas bolsas concedidas, ao Ministério da Agricultura e Abastecimento (CNPQ/MAPA/DAS-578261/2008-1), bem como ao Projeto Casadinho n° 552197/2011-4 pelo suporte financeiro. Os autores também agradecem a Prof. Dra. Solange Cadore por sua contribuição, o que possibilitou a validação da metodologia proposta.

REFERÊNCIAS

- Walter, M.; Marchezan, E.; Avila, L.A.; *Ciênc. Rural*. **2008**, *38*, 1184.
- <http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/arroz>, acessada em Setembro 2012.
- <http://www.fao.org>, acessada em outubro de 2012.
- Heinemann, R.J.B.; Fagundes, P.L.; Pinto, E.A.; Pentead, M.V.C.; Lanfer-Marquez, U.M.; *J. Food Compos. Anal.* **2005**, *18*, 287.
- Zhou, Z.; Robards, K.; Helliwell, S.; Blanchard, C.; *Int. J. Food Sci. Technol.* **2002**, *37*, 849.
- Denardin, C.C.; Silva, L.P.; Storck, C.R.; Nornberg, J.L.; *Alim. Nutr.* **2004**, *15*, 125.
- Castro, E.M.; Vieira, N.R.A.; Rabelo, R.R.; Silva, S.A.; *Qualidade de grãos em arroz*. Embrapa Arroz e Feijão: Santo Antônio de Goiás, 1999.
- Keawkim, K.; Chuanuwatanakul, S.; Chailapakul, O.; Motomizu, S.; *Food Control* (2012), doi: 10.1016/j.foodcont.2012.09.025.
- Chen, H.; Xu, S.; Fang, Z.; *Anal. Chem. Acta* **1994**, *298*, 167.
- Krug, F.J.; *Métodos de Preparo de Amostras: Fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar*, 1 ed., Edição do autor, Piracicaba: São Paulo, 2010.
- Ferreira, S.L.C.; Silva, L.O.B.; Santana, F.A.; Junior, M.M.S.; Matos, G.D.; Santos, W.N.L.; *Microchem. J.* (2012), doi: 10.1016/j.microc.2012.08.015.
- Orestes, E.Q.; Jesus, A.; Oliveira, R.M.; Silva, M.M.; Vieira, M.A.; Ribeiro, A.S.; *Microchem. J.* (2012), doi:10.1016/j.microc.2012.05.034.
- Oreste, E.Q.; Oliveira, R.M.; Nunes, A.M.; Vieira, M.A.; Ribeiro, A.S.; *Anal. Methods*, no prelo.
- Tedesco, M. J.; Gianello, C.; Bissani, C. A.; Bohnen, H.; Volkweiss, S. J.; *Análises de solo, plantas e outros materiais*, 2 ed., Departamento de solos: Porto Alegre, 1995.
- Malavolta, E.; Vitti, G.C.; Oliveira, S.A.; *Avaliação do estado nutricional; princípios e aplicações*, 2 ed., Piracicaba: São Paulo, 1997.
- Korn, M. G. A.; Boa Morte, E. S.; Santos, D. C. M. B.; Castro, J. T.; Barbosa, J. T. P.; Teixeira, A. P.; Fernandes, A. P.; Welz, B.; Santos, W. P. C.; Santos, E. B. G. N.; *Appl. Spectrosc. Rev.* **2008**, *43*, 67.
- Zmozinski, A.V.; Jesus, A.; Vale, M.G.R.; Silva, M.M.; *Talanta* **2010**, *83*, 637.
- <http://www.fao.org/inpho/content/documents/vlibrary/t0567e/t0567e00.htm>, acessada em Outubro 2012.
- Storck, C. R.; Silva, L. P.; Comarella, C.G.; *Alim. Nutr.* **2005**, *16*, 259.