

APLICAÇÃO DO PHOTOMETRIX NA QUANTIFICAÇÃO DE FERRO(II) APÓS EXTRAÇÃO ÁCIDA ASSISTIDA POR ULTRASSOM EM AMOSTRAS DE ARROZ

Marcella P. Di Girolamo¹; Eduarda V. Cunha¹; Pablo P. Azevedo¹; Maicon C. T. Almeida¹; Geovane S. Oliveira¹; André E. B. Lawinsky; Sulene A. de Araújo¹; Marcos A. Bezerra¹;

¹*Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB – Campus de Jequié/Ba – Av. José Moreira Sobrinho S/N*

E-mail: marcellapdgm@gmail.com.

Palavras-Chave: Matriz alimentar, Colorimetria, metais.

Introdução

Nas últimas décadas, os avanços científicos e tecnológicos têm permitido o desenvolvimento de métodos cada vez mais eficientes para a avaliação da qualidade nutricional dos alimentos, sobretudo na identificação e quantificação de componentes essenciais e contaminantes. Em particular, alimentos de composição complexa, como o arroz, exigem abordagens analíticas mais precisas, uma vez que os dados disponibilizados por tabelas oficiais, como a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TBCA) e a TACO, embora fundamentais, nem sempre contemplam a totalidade da composição elementar presente nos alimentos. Isso reforça a necessidade do uso de técnicas analíticas mais sensíveis e acessíveis, capazes de fornecer resultados confiáveis com rapidez e menor impacto ambiental. [1, 2]

Os minerais são micronutrientes essenciais que desempenham papéis fundamentais em diversas funções metabólicas no organismo humano. Entre eles, destaca-se o ferro (Fe), cuja deficiência está diretamente associada à anemia ferropriva, uma condição ainda prevalente no Brasil e no mundo. Por outro lado, seu excesso também pode ser prejudicial, estando relacionado a alterações organolépticas nos alimentos, como mudanças na cor, odor e sabor, além de contribuir para distúrbios metabólicos. Segundo a Resolução RDC Nº 269/2005 da Anvisa, a ingestão diária recomendada de ferro é de 14 mg para adultos e 6 mg para crianças, entretanto, o consumo médio ainda está abaixo desses valores, o que torna necessário o monitoramento constante desse mineral em alimentos amplamente consumidos, como o arroz. [3, 4, 5]

Tradicionalmente, a quantificação de metais como o ferro é realizada por técnicas instrumentais, como espectrometria de absorção atômica (FAAS) ou espectrometria de emissão óptica com plasma (ICP-OES), associadas a procedimentos de preparo de amostras demorados, custosos e que exigem o uso de reagentes tóxicos e condições severas de pressão e temperatura. Visando a superação dessas limitações, métodos alternativos vêm sendo desenvolvidos, como a extração assistida por ultrassom, que apresenta vantagens como maior rapidez, simplicidade operacional, economia de reagentes e preservação de analitos voláteis. [6, 7]

No mesmo contexto de inovação, a utilização de ferramentas digitais tem crescido consideravelmente na química analítica, destacando-se a colorimetria com imagem digital. Essa técnica, aliada ao uso do aplicativo PhotoMetrixPRO, tem se mostrado uma alternativa eficaz, de baixo custo e elevada portabilidade. O PhotoMetrixPRO permite a captura e o processamento de imagens de soluções coloridas por meio de modelos matemáticos, viabilizando a

quantificação de substâncias com confiabilidade. Aplicações bem-sucedidas do aplicativo já foram relatadas para a determinação de ferro em suplementos, ácido ascórbico em polpas de frutas e etanol em bebidas, o que demonstra sua versatilidade. [8, 9]

Diante desse cenário, o presente trabalho teve como objetivo desenvolver uma metodologia simples, eficiente e sustentável para a quantificação de íons ferro (Fe^{2+}) em diferentes tipos de arroz comercializados na cidade de Jequié – BA, utilizando a extração ácida assistida por ultrassom seguida de análise colorimétrica por imagem digital. A metodologia baseou-se na extração ácida das amostras utilizando como ácido extrator HNO_3 , otimizada por Oliveira et al. (2024), onde aplicaram o planejamento experimental Doehlert com o objetivo de otimizar três variáveis primordiais para o método: tempo de extração, massa da amostra de arroz e concentração do ácido extrator. Em seguida há o ajuste de pH com NaOH e posterior complexação do Fe^{2+} com orto-fenantrolina, após a redução do Fe^{3+} com hidroxilamina. As soluções foram então submetidas à análise por imagem no PhotoMetrixPRO, cujas concentrações determinadas variaram de 150,63 $\mu\text{g/g}$ a 463,17 $\mu\text{g/g}$. [10, 11]

Este estudo contribui significativamente para a ampliação de métodos analíticos acessíveis, rápidos e sustentáveis aplicados à análise de alimentos. A abordagem proposta poderá ser utilizada em contextos com infraestrutura laboratorial limitada, oferecendo uma alternativa viável para o monitoramento de ferro em matrizes alimentares e fortalecendo as ações voltadas à segurança alimentar e nutricional.

Material e Métodos

Dentre os reagentes utilizados na extração assistida por ultrassom e na digestão ácida por via úmida incluem-se o Ácido Nítrico P.A (Aldrich Chemical Co.), com pureza de 70% e Peróxido de Hidrogênio P.A (NEON Co.) com pureza de 35%. Para determinação das concentrações dos analitos a partir das absorbâncias foi aplicado o método do padrão externo, com isso foram utilizadas as soluções-padrão de Fe com concentração de 1000 mg L^{-1} (SigmaAldrich, Suíça), diluídas nas seguintes concentrações: 1, 2, 3, 4 e 5 mg L^{-1} .

As soluções foram preparadas em vidrarias previamente descontaminadas em banho de ácido nítrico (HNO_3) 5% v.v⁻¹ por 24 horas, utilizando para posterior enxague água deionizada.

Utilizou-se amostras de arroz comercial de 5 tipos, (parboilizado, integral e preto), adquiridas no comércio local do município de Jequié – BA. Todas as amostras foram submetidas há um pré-preparo, no qual houve a secagem das amostras em 70°C na estufa (SL100 - Estufa de Secagem e Esterilização - Solab). Posteriormente, foram trituradas com grau e pistilo e peneiradas para homogeneização e aumento da superfície de contato e armazenadas em tubos tipo Falcon graduados de 50 mL com tampa de rosca (Corning) até o momento das extrações.

No procedimento de extração um equipamento de banho ultrassom (Cristófoli, Campo Mourão - PR) foi utilizado para promover as extrações. Adicionou-se cerca de 2,8 L de água à cuba do equipamento de ultrassom, na qual tubos cônicos graduados de centrifuga foram colocados, um por vez, sempre na mesma posição (no centro da cuba de ultrassom) para promover a extração. As quantidades de amostra (0,2 g), concentração de HNO_3 (5 mol/L) e

tempo de ultrassom (25 min.) foram previamente estabelecidos após otimização simultânea do método com planejamento experimental Doehlert, Geovane et al. (2024).

A extração foi realizada em 5 tipos de arroz (parboilizado, integral, vermelho, arbório e preto). Todo procedimento foi realizado em triplicata, as amostras foram pesadas em balança analítica (SHIMADZU/MARTE ANALÍTICA - MODELO ATX-224R) mediu-se aproximadamente 0,2 g e adicionou aos tubos cônicos. Em seguida, foram adicionados entre 1490 µL de solução extratora (HNO_3) e 3510 µL de água deionizada formando uma solução de 5 mol·L⁻¹, os tubos foram submetidos a um banho de ultrassom à 25 minutos a uma temperatura de 25°C. Após, os tubos foram retirados do banho ultrassônico e filtrados com auxílio de um papel filtro C41(Unifil) e os filtrados foram centrifugadas a 3500 rpm por cinco minutos e o sobrenadante retirado e avolumado em tubos tipo Falcon em 10 mL e utilizado para quantificação de Fe através da técnica de colorimetria de imagem digital.

Para a digestão ácida das amostras por via úmida, aproximadamente 0,2 g de amostra foram pesados e transferidos para tubos de Kjeldahl. Em seguida, adicionou-se 2,0 mL de HNO_3 e 1,0 mL de H_2O_2 . As amostras foram aquecidas em um bloco digestor, inicialmente a 25°C e depois a temperatura foi aumentada e estabilizada em 110°C por 2 horas. Após o processo de digestão, as soluções resultantes foram diluídas até 10 mL em tubos tipo falcon com água deionizada, para posterior análise. A quantificação de Ca foi feita por espectrometria de absorção atômica com chama, o método do padrão externo foi aplicado com soluções padrões desses metais com concentrações variando entre 0 e 5 mg·L⁻¹.

Após os procedimentos de preparo de amostras, com base no estudo de Cardoso et al. (1993), adicionou-se 10 mL de NaOH (VETEC Co.) 2 mol·L⁻¹ a uma alíquota de 5 mL da amostra com a intenção de elevar o pH do meio para 9,2, visto que para maior complexação do Fe^{2+} com a o-fenantrolina (VETEC Co.) é mais estável nessa faixa e encontra-se livre de interferentes. Foram adicionados 1 mL de cloridrato de hidroxilamina (NEON Co.) 10% para promover a redução do Fe^{3+} presente na amostra para Fe^{2+} , depois de 10 minutos de reação, adicionou-se 2 mL da solução de orto-fenantrolina 0,1% para formar os respectivos quelatos com os íons Fe^{2+} e as amostras foram submetidas à análise por colorimetria de imagem digital através do aplicativo Photometrix PRO.

A captura das imagens das amostras e análise pelo aplicativo PhotoMetrix foi efetuada em tubos de ensaio de 15 mL. Para a captura das amostras, foi construído um dispositivo em MDF, revestido com chapa branca e totalmente fechada para minimizar a interferência da luz ambiente. O compartimento interno foi forrado com MDF branco e como fonte de iluminação foi introduzindo lâmpadas LED na cor branca, posicionadas na parte de baixo da caixa.

As análises foram feitas em triplicata e as amostras em branco, contendo todos os reagentes exceto a amostra, foram analisadas paralelamente para identificar possíveis contaminações nos reagentes ou no procedimento.

Resultados e Discussão

Neste trabalho, aplicou-se uma metodologia para quantificação de íons Fe^{2+} empregando o método colorimétrico, onde há uma dependência da coloração da amostra e sua intensidade que está diretamente dependente da concentração do respectivo metal de estudo.

Com base nessa perspectiva, aplicou-se em 6 diferentes tipos de arroz (preto, integral, arbório, parboilizado e vermelho) a extração ácida assistida por ultrassom (Figura 1), como demonstra a figura, utilizando os seguintes parâmetros: 0,2 g da amostra de arroz, 25 minutos de extração e 5 mL de HNO_3 5 mol·L⁻¹.

Figura 1. Dispositivo desenvolvido para detecção dos analitos de interesse via PhotometrixPRO



Com o processo de extração dos analitos realizado, as amostras foram filtradas e avolumadas para 10 mL. Posteriormente, alíquotas de 5 mL foram coletadas e houve um ajuste do pH do meio reacionário para aproximadamente 9,2. Há a necessidade de tal ajuste por que a literatura cita que o complexo $[\text{Fe}(\text{o-fen})_3]^{2+}$ é formado entre 2 até 9, mas o complexo tem máxima estabilização em pH = 9,2. Após o ajuste, foram adicionados 1mL de cloridrato de hidroxilamina 10% e esperou-se 10 minutos para a redução dos íons Fe^{3+} e formação dos íons Fe^{2+} , os quais se complexa com a orto-fenantrolina.

A análise colorimétrica tem base na formação das colorações desejadas, assim, a análise possui os fundamentos espectrofotometria de absorção molecular, contudo não se empregou métodos clássicos de análises como o uso do espectrofotômetro UV-VIS, no lugar deste tipo de equipamento fez-se a detecção através do emprego do aplicativo PhotoMetrixPRO com o auxílio de um aparelho celular Samsung modelo A34 com câmera que possui uma resolução de 48 megapixels, a amostra foi colocada em um tubo de ensaio dentro de uma caixa de MDF branca, sem aberturas e com o uso de uma lâmpada de Led acoplada na parte de baixo do dispositivo, como apresentado na Figura 2.

A curva de calibração foi construída para determinação de Fe^{2+} usando cinco soluções padrão do elemento em uma faixa de concentração de 1 a 5 mg·L⁻¹, como apresentada na Figura 3. A Figura 4 apresenta a curva analítica obtida diretamente pelo aplicativo e as concentrações de três réplicas da amostra de arroz parboilizado com os valores de 1.617, 1.519 e 1.492 mg·L⁻¹. Os pontos na coloração vermelha representam as concentrações dos padrões e os pontos na cor azul correspondem às concentrações encontradas na amostra de arroz.

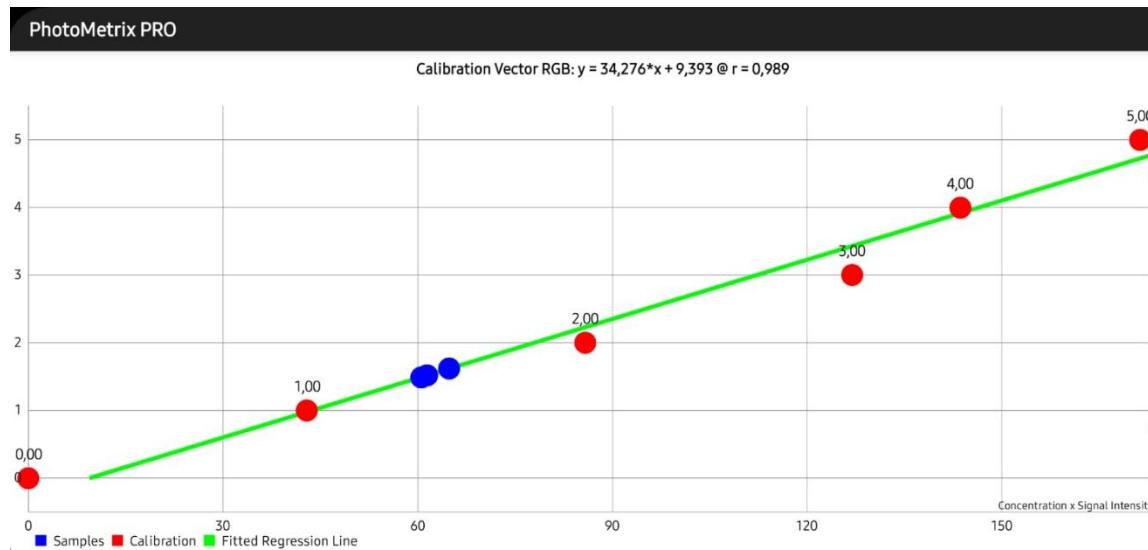
Figura 2. Caixa de MDF construída para detecção de Fe^{2+} via PhotometrixPRO.



Figura 3. Padrões de Ferro (0 a 5 mg L⁻¹), após a reação colorimétrica para obtenção da curva analítica do Fe^{2+} usando o PhotometrixPRO.



Figura 4. Curva analítica de Fe^{2+} (0 a 5 mg L⁻¹) e concentrações de três réplicas da amostra de arroz parboilizado obtidas através do PhotometrixPRO.



O coeficiente de determinação calculado pelo aplicativo demonstra uma boa correlação entre o sinal e a concentração, com valor de 0,989. Os valores dos LDs e LQs obtidos no PhotoMetrixPRO foi de 0,02067 e 0,0147 mg·L⁻¹, respectivamente.

O método proposto foi aplicado para a determinação da concentração de Fe²⁺ em sei amostras de arroz, obtidas no comércio local do município de Jequié-BA, e os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 1 onde se comparou a metodologia de extração assistida por ultrassom com a digestão ácida. Considerando as amostras analisadas, todas obtiveram êxito na quantificação de Fe²⁺, pois não foram obtidas diferenças significativas entre a metodologia estabelecida (digestão ácida) e a proposta (extração assistida por ultrassom). As amostras de arroz preto e vermelho submetidas ao método proposto apontaram uma concentração significativamente superior ao comparar as mesmas submetidas a digestão ácida. Todas as concentrações encontradas estavam acima do LOQ estabelecido para o método. Os resultados obtidos para as amostras analisadas foram posteriormente comparados com a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos – TBCA.

Tabela 1. Concentração de Fe em amostras de Arroz obtidas por extração assistida por ultrassom e digestão por via úmida.

Amostra	Extração Assistida por Ultrassom	Digestão Ácida
	Fe²⁺ ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Fe²⁺ ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)
Preto	229,24 ± 5,15	92,20 ± 3,88
Vermelho	161,73 ± 1,38	41,64 ± 1,74
Arbório	83,09 ± 1,34	30,27 ± 2,00
Parboilizado	74,71 ± 1,048	35,70 ± 0,83
Integral	95,42 ± 1,68	35,19 ± 3,98

Fe²⁺, LOQ = 1,469 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. média ± desvio padrão para extração. Fe²⁺, LOQ = 0,246 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. média ± desvio padrão para extração.

Os dados expressos na Tabela 2 representam as concentrações de Fe²⁺ em cada espécie de peixe estudado, com uma massa de aproximadamente de 0,1 g. Com isso, comparou-se as concentrações obtidas com base na extração assistida por ultrassom, onde para todas as amostras apontam uma concentração superior a estimada pela TBCA.

Tabela 2. Concentrações estabelecidas pela tabela TBCA para 0,1 gramas de amostras.

Amostra	Fe²⁺ ($\mu\text{g/g}$)
Integral	10,4
Vermelho	12,1
Parboilizado	12,4
Arbório	4,6
Preto	30,1

Conclusões

A utilização do aplicativo PhotoMetrix aliada a extração ácida assistida por ultrassom para determinação de Fe^{2+} mostrou-se adequado e eficiente, sendo uma alternativa economicamente viável e ecológica frente aos espectrofotômetros e a preparamos de amostras mais laborosos. O método apresentou uma ótima linearidade na curva de calibração. A concentração dos íons Fe^{2+} nas amostras analisadas encontra-se dentro da faixa linear, com baixos índices de erros. Dessa forma, o aplicativo é uma ferramenta rápida, confiável, de baixo custo e acessível. Além das características mencionadas, o pequeno volume de amostras e reagentes usados para obtenção dos dados também demonstrou grande vantagem.

Agradecimentos

Agradecemos ao Laboratório de Química Analítica 2 da Universidade Estadual da Bahia - UESB à CAPES, CNPq, FAPESB pelo suporte e contribuições fundamentais para a realização deste trabalho.

Referências

- [1] Tabela brasileira de composição de alimentos (TACO)/NEPA – UNICAMP. 4. ed. rev. e ampl.- Campinas: NEPA-UNICAMP, p. 161, 2011.
- [2] Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TBCA). Universidade de São Paulo (USP). Food Research Center (FoRC). Versão 6.0. São Paulo, 2017. Disponível em: <http://www.fcf.usp.br/tbca/>.
- [3] BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 360, de 23 de dezembro de 2003. Aprova o Regulamento Técnico sobre a Ingestão Diária Recomendada (IDR) de Proteína, Vitaminas e Minerais. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 26 dez. 2003. Seção 1.
- [4] ROY, Choudhury S. A rare cause of chronic heart failure. British Medical Journal (BMJ), 2023. Disponível em: <https://casereports.bmjjournals.com/content/16/6/e253697>. Acesso em: 11 set. 2024.
- [5] ISLAM, Md Salehuddin; SARWAR, Sayedur Rahman. Zinc deficiency: An emerging health problem in children. Tropical Pediatrics, v. 55, n. 5, p. 324–329, 2023. Disponível em: <https://academic.oup.com/troped/article/55/5/324/1676829>. Acesso em: 11 set. 2024.
- [6] KRUG, F. J.; ROCHA, F. R. P. (Ed.). Métodos de preparo de amostras para análise elementar. 2. ed. São Paulo: Edit SBQ, 2017.
- [7] ORESTE, Eliézer Quadro; SOUZA, Alexander Ossanes de; PEREIRA, Camila Corrêa; VIEIRA, Mariana Antunes; RIBEIRO, Anderson Schwingel. Decomposição ácida assistida por ultrassom para a determinação de Cu, Fe, Mg e Zn por F AAS em cerâmicas de uso doméstico. Fev. 2017.
- [8] HELFER, G. A.; MAGNUS, V. S.; Böck, F. C., TEICHMANN, M. F.; FERRÃO, A. B. C. PhotoMetrix: An Application for Univariate Calibration and Principal Components Analysis Using Colorimetry on Mobile Devices. J. Braz. Chem. Soc., v. 28, n. 2, p. 328-335, 2017.
- [9] von Mühlen, L.; Prestes, O.D.; Ferrão, M.F.; Sirtori, C. Miniaturized Method for Chemical Oxygen Demand Determination Using the PhotoMetrix PRO Application. Molecules 2022, 27, 4721. <https://doi.org/10.3390/molecules27154721>.
- [10] OLIVEIRA, G. S.; BEZERRA, M. A.; ARAÚJO, S. A.; CLETH, C. F.; GOMES, L. S.; ALMEIDA, M. C. T.; SANTOS, J. V. R. Extração assistida por ultrassom para determinação de Fe, Mn e Zn em amostras de arroz comerciais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA, 63., 2024, Fortaleza. Anais eletrônicos... Fortaleza: Associação Brasileira de Química, 2024. Disponível em: <https://www.abq.org.br/cbq/trabalhos/4/A4T25853-1726776921.pdf>
- [11] CARDOSO, C. D.; ADAIME, M. B.; VIARO, N. S. S. Determinação do pH de formação do complexo $[\text{Fe}(\text{o-fen})_3]^{2+}$. Ciência e Natura, Santa Maria, v. 15, p. 57–61, 1993.