Artigo

Método de Solubilização Alcalina Aplicado à Amostras de Pão Industrializado Para Subsequente Determinação de Cu, Fe, K, Mg, Na e Zn Por Espectrometria Atômica

Luckow, A. C. B.; Bonemann, D. H.; Pereira, C. C.; De Souza, A. O.; Ribeiro, A. S.; Nunes, A. M.*

Rev. Virtual Quim., 2020, 12 (2), 368-377. Data de publicação na Web: 9 de Abril de 2020

<http://rvq.sbg.org.br>

Alkaline Solubilization Method Applied to Industrialized Bread Samples For Subsequent Determination of Cu, Fe, K, Mg, Na and Zn by Atomic Spectrometry

Abstract: Bread is a food widely consumed worldwide due to its nutritional quality, presenting a high concentration of carbohydrates, which are an excellent source of energy, in addition to containing minerals and vitamins, making it essential in human food. In this study, a sample preparation method was developed using tetramethylammonium hydroxide for the alkaline solubilization of industrialized bread samples. The objective of the present work was to evaluate the concentration of Cu, Fe, K, Mg, Na and Zn by atomic spectrometry, the determination was made after the solubilization of the samples using ultrasonic bath and at room temperature (overnight). The proposed method allowed complete solubilization of samples using small amounts of tetramethylammonium hydroxide, presenting itself as a simple and fast method, in addition to being a better alternative to conventional mineralization procedures. A method of acid decomposition and addition of analyte was used to evaluate the accuracy of the proposed method. From this study it was possible to verify that did not show a significant difference between the methods and good recovery values ranging from 80 to 120 % were obtained for the analytes. Moreover, was obtained low detection limits 0.073; 0.051; 0.021; 0.008; 0.003 and 0.043 mg kg⁻¹ for Cu, Fe, K, Mg, Na and Zn respectively.

Keywords: Alkaline solubilization; industrialized bread; metals; atomic spectrometry.

Resumo

O pão é um alimento muito consumido mundialmente devido a sua qualidade nutricional, apresentando alta concentração de carboidratos, os quais são excelente fonte de energia, além de conter minerais e vitaminas, tornando-se essencial na alimentação humana. Neste estudo, um método de preparo de amostras foi desenvolvido utilizando o hidróxido de tetrametilamônio para a solubilização alcalina de amostras de pão industrializado. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a concentração de Cu, Fe, K, Mg, Na e Zn por espectrometria atômica, a determinação foi feita após a solubilização das amostras utilizando banho ultrassônico e a temperatura ambiente (overnight). O método proposto permitiu a solubilização completa das amostras usando pequenas quantidades de hidróxido de tetrametilamônio, apresentando-se como um método simples e rápido, além de ser uma melhor alternativa frente aos procedimentos de mineralização convencional. Utilizou-se um método de decomposição ácida e adição de analito para avaliar a exatidão do método. A partir desse estudo foi possível verificar que não houve diferença significativa entre os métodos, além de bons valores de recuperação, variando de 80 a 120 % para os analitos. Além disso, foram obtidos baixos limites de detecção 0,073; 0,051; 0,021; 0,008; 0,003 e 0,043 mg kg⁻¹ para Cu, Fe, K, Mg, Na e Zn, respectivamente.

Palavras-chave: Solubilização alcalina; pão industrializado; metais; espectrometria atômica.

* Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), Programa de Pós-Graduação em Química, Laboratório de Metrologia Química (LabMeQui), Campus Capão do Leão, CEP 96010-900, Capão do Leão-RS, Brasil.

adriane.mn@hotmail.com
DOI: [10.21577/1984-6835.20200029](https://doi.org/10.21577/1984-6835.20200029)

Método de Solubilização Alcalina Aplicado à Amostras de Pão Industrializado para Subsequente Determinação de Cu, Fe, K, Mg, Na e Zn Por Espectrometria Atômica

Ana Claudia Beduhn Luckow, Daisa Hakbart Bonemann, Camila Corrêa Pereira, Alexander Ossanes de Souza, Anderson Schwingel Ribeiro, Adriane Medeiros Nunes

Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Programa de Pós-Graduação em Química, Laboratório de Metrologia Química (LabMeQui), Campus Capão do Leão, CEP 96010-900, Capão do Leão-RS, Brasil.

*adriane.mn@hotmail.com

Recebido em 7 de Julho de 2019. Aceito para publicação em 9 de Março de 2020

1. Introdução

2. Parte Experimental

2.1. Equipamentos e parâmetros instrumentais

2.2. Reagentes e soluções

3. Preparo das Amostras

3.1. Solubilização alcalina com hidróxido de tetrametilamônio – método proposto

3.2. Decomposição ácida com HNO_3 – método comparativo

4. Resultados e Discussões

4.1. Parâmetros de mérito

4.2. Validação da metodologia proposta e aplicação do método

5. Conclusão

1. Introdução

O pão é um dos alimentos mais antigos e populares no mundo, sendo amplamente consumido em várias refeições durante o dia devido a sua praticidade e baixo custo.¹⁻³ No ano de 2017, o Brasil comercializou cerca de 430 mil toneladas do produto o que resultou em 5,6 bilhões de reais ao país.⁴

Devido à sua qualidade nutricional o pão é considerado um alimento essencial na nutrição humana apresentando alta concentração de carboidratos, sendo uma excelente fonte de energia, além de conter vitaminas e minerais.⁵⁻⁷

No mercado são encontrados diferentes tipos de pães, os quais são fabricados de diferentes formas através da utilização de diversos ingredientes, como farinha integral ou refinada, grãos variados, entre outros. Uma variação desse produto comumente encontrado são as bisnaguinhas, um tipo de pão industrializado que apresenta uma aparência agradável, crosta fina, bastante miolo e sabor adocicado. São populares nos lanches em geral, sendo bastante consumidos por adultos e crianças, sobretudo, pela maciez e facilidade de mastigação.^{1,2}

Além da farinha e água, diversos ingredientes como leite, ovos, açúcar, agentes conservantes e de fermentação são adicionados durante o

processo de fabricação do pão industrializado com a finalidade de enriquecer a composição química e fornecer mais nutrientes aos consumidores.²

Com base nesse contexto, a caracterização elementar dessas amostras se faz necessário, pois cada grupo de alimentos é fonte de nutrientes específicos, os quais são fundamentais para o bom funcionamento do organismo. Além disso, sabe-se que a ingestão de uma quantidade excessiva de um elemento essencial pode causar distúrbio no sistema fisiológico, tornando esse analito potencialmente tóxico ao organismo.⁸⁻¹⁰

Devido a essa preocupação, o Ministério da Saúde do Brasil elaborou um plano de redução do teor de sódio em alimentos processados juntamente com a Associação Brasileira das Indústrias da Alimentação (ABIA) cujo objetivo é retirar 28 mil toneladas de sódio de 35 categorias de alimentos até 2020, o que irá contribuir para que a ingestão diária de sódio seja de 2000 mg, o equivalente a 5 g de sal por dia, conforme recomendado pela Organização Mundial da Saúde (OMS).¹¹⁻¹³

No entanto, para que se obtenha as concentrações dos analitos neste tipo de matriz, o desenvolvimento de métodos voltados à etapa de preparo de amostra é de suma importância, uma vez que, os métodos citados na literatura apresentam limitações. Estes métodos utilizam quantidades consideráveis de massa de amostra, além do uso de sistemas abertos para a decomposição com mistura de ácidos fortes e oxidantes como HNO_3 e H_2SO_4 , necessitando a reposição dos mesmos.^{1,2} Assim, essa etapa torna-se um inconveniente, já que o gasto de reagentes é maior, o risco de contaminação também aumenta e um longo período de tempo para a completa decomposição das amostras é imprescindível.¹⁴

A tendência futura visa o desenvolvimento de métodos que sejam simples, que proporcionem a mínima manipulação das amostras, demandem de menor tempo, tenham baixo consumo de reagentes, gerando assim uma menor quantidade de resíduos, contribuindo com os princípios da química verde.^{14,15}

Neste contexto, métodos alternativos de preparo das amostras envolvendo a completa ou parcial solubilização da matriz vêm sendo citados na literatura. Dentre eles, a solubilização das amostras com hidróxido de tetrametilamônio (TMAH) se apresenta como uma alternativa promissora em comparação aos métodos clássicos de análise. De acordo com a literatura, amostras biológicas em geral são facilmente solubilizadas na presença deste reagente a temperatura ambiente, resultando em uma suspensão estável por muitos meses.¹⁶⁻²⁰

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi o desenvolvimento de uma metodologia analítica simples e segura, baseada na solubilização alcalina utilizando hidróxido de tetrametilamônio para o preparo das amostras e subsequente determinação de Cu, Fe, K, Mg, Na e Zn em pão industrializado tipo bisnaguinha por técnicas de espectrometria atômica.

2. Parte Experimental

2.1. Equipamentos e Parâmetros Instrumentais

Para determinação da concentração de Cu, Fe, K, Mg, Na e Zn foi utilizado um espectrômetro de absorção atômica com chama (F AAS), sendo este também utilizado no modo emissão atômica (F AES) modelo AAnalyst 200 (Perkin Elmer, Singapura) equipado com lâmpadas de cátodo oco para cada analito (Lumina, Perkin Elmer) e uma lâmpada de arco de deutério como corretor de fundo, exceto para análise de Na e K que tiveram as suas determinações realizadas no modo de emissão atômica no mesmo equipamento. Como gás oxidante para a chama foi utilizado ar comprimido e como gás combustível acetileno (Linde, Brasil) com vazão de $2,5 \text{ L min}^{-1}$ e altura do atomizador de 0,5 cm para todos os analitos. As condições operacionais utilizadas para cada analito estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Condições operacionais utilizadas para as análises por F AAS e F AES

Parâmetro	Analito					
	Cu	Fe	K	Mg	Na	Zn
Comprimento de onda (nm)	324,75	248,33	766,49	285,21	589,00	213,86
Fenda espectral (nm)	2,7	2,7	2,7	2,7	1,8	2,7
Corrente da lâmpada (mA)	15,0	30,0	-	6,0	-	15,0

As amostras foram homogeneizadas com um microprocessador de alimentos (Black & Decker, Brasil) e pesadas utilizando uma balança analítica com resolução de 0,1 mg e tara máxima de 210 g (Ohaus Adventurer, EUA). Para a solubilização alcalina das amostras foi utilizado um banho ultrassônico (Quimis, Brasil) e para a decomposição ácida foi utilizado um bloco digestor aberto (Marconi, Brasil).

2.2. Reagentes e soluções

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico e as soluções usadas foram preparadas com água desionizada, obtida a partir de um sistema de destilação de vidro (Marconi, Brasil) e, posteriormente, eluída em um desionizador (Permutation, Brasil). As soluções estoques para cada analito, utilizadas na calibração instrumental foram obtidas a partir de uma dissolução de uma ampola de Titrisol (Merck, Darmstadt, Germany) de 10.000 mg L⁻¹ para Fe, K, Na e Zn e 1.000 mg L⁻¹ para Cu e Mg, preparadas em 0,5 % (v/v) HNO₃, e avolumadas com água desionizada para posterior construção da curva de calibração de acordo com a faixa linear de cada elemento e sua respectiva sensibilidade (α) de acordo com a Tabela 2.

Para o preparo das amostras por solubilização alcalina foi utilizado hidróxido de tetrametilamônio 25 % (m/v) (Sigma Aldrich, Alemanha) e para decomposição ácida foi utilizado HNO₃ 65 % (v/v) (Vetec, Brasil) bidestilado abaixo do seu ponto de ebulição em um destilador de quartzo (Marconi, Brasil) e H₂O₂ 30 % (v/v) (Fluka Analytical, Alemanha). Para a determinação de Mg por F AAS foi utilizada uma solução de CsCl 1 % (m/v) e LaCl₃ 10 % (m/v) (Fluka, Alemanha) como supressor de ionização e formação de óxidos.

Todos os materiais utilizados no procedimento foram descontaminados em uma solução de HNO₃ 10 % (v/v) por 48 h, e em seguida lavados com água desionizada e secos a temperatura ambiente.

3. Preparo das amostras

3.1. Solubilização alcalina com hidróxido de tetrametilamônio – método proposto

Foram utilizadas seis amostras de pão industrializado (biscuítinha) adquiridas no

comércio da cidade de Pelotas/RS, denominadas A, B e C (tradicionais), D (vitaminada), E (integral) e F (cenoura e mandioquinha), as quais foram trituradas e homogeneizadas. Relacionou-se a massa de amostra com o volume de hidróxido de tetrametilamônio que deve ser utilizado, conforme descrito por Torres *et al.*²¹

Para esse experimento pesou-se aproximadamente 100 mg de cada amostra diretamente nos tubos de polipropileno (PP) e adicionou-se 500 µL de hidróxido de tetrametilamônio. Os frascos foram levados a um banho ultrassônico por 30 min a uma temperatura de 40 °C. Neste estudo, foi testada também a solubilização das amostras sem a utilização do ultrassom, mantendo-se a relação de massa e volume de reagente, sendo que os frascos foram deixados em repouso à temperatura ambiente por toda noite (*overnight*). Nos dois procedimentos as soluções obtidas apresentaram coloração semelhante e o volume final foi completado a 15 mL com água desionizada.

Para avaliar a exatidão do método proposto foi realizado o teste de adição de analito em três níveis diferentes em relação a concentração de cada analito presente na amostra, a partir dos padrões utilizados para construir as curvas de calibração.

Os limites de detecção LD foram calculados como a concentração igual a 3 vezes o desvio padrão de 10 medidas do branco dividido pela inclinação da curva analítica para cada elemento. Os limites de quantificação LQ foram calculados como a concentração igual a 10 vezes o desvio padrão de 10 medidas do branco dividido pela inclinação da curva analítica para cada elemento.

3.2. Decomposição ácida com HNO₃ – método comparativo

Para este estudo seguiu-se o procedimento de preparo de amostra adaptado de Ozbek & Akman,² o qual propõe a decomposição de amostras de pães em meio ácido sob aquecimento em sistema aberto.

Para aplicação do método foi utilizada a amostra tradicional A, onde a massa de 1 g utilizada pelos autores foi reduzida a 500 mg, sendo esta pesada diretamente nos tubos de digestão, com subsequente adição de 3 mL de HNO₃ e 1 mL de H₂O₂. Em seguida, os tubos de digestão foram levados ao aquecimento no bloco

digestor por 2 horas a 100 °C. Após o arrefecimento das soluções a temperatura ambiente, a mesmas foram transferidas para tubos de PP e avolumadas a 20 mL com água desionizada.

4. Resultados e Discussões

4.1. Parâmetros de mérito

Os parâmetros de mérito obtidos para a determinação de Na e K por F AES e Cu, Fe, Mg, e Zn por F AAS nas amostras de pão industrializado a partir da metodologia baseada na solubilização alcalina estão apresentados na Tabela 2. Com base nesses resultados pode-se verificar que as curvas de calibração para todos os analitos apresentaram bons coeficientes de correlação linear ao quadrado, $R^2 > 0,99$, bem como LDm, LQm e sensibilidades adequadas para atender ao objetivo que o trabalho se propõe, tomando por base os valores de referência de ingestão de nutrientes.^{22,23}

4.2. Validação da metodologia proposta e aplicação do método

Com o objetivo de avaliar a exatidão do método de solubilização alcalina com ultrassom, foram realizados testes de adição de analito na amostra tradicional A em três níveis de concentração diferentes, conforme apresentado na Tabela 3.

De acordo com os valores apresentados na Tabela 3, a faixa de recuperação dos analitos variou de 80 a 120 %, com valores de RSDs médio abaixo de 10 %, comprovando a exatidão do método proposto, bem como uma precisão adequada devido à boa reprodutibilidade dos resultados.

Além disso, a exatidão do método proposto também pode ser verificada através da comparação dos resultados obtidos aplicado à amostra tradicional A, a qual foi submetida a diferentes procedimentos de preparo de amostra, conforme apresentado na Tabela 4.

Para verificar a concordância entre as concentrações dos analitos obtidas a partir dos respectivos métodos de preparo, foi utilizado o teste estatístico *t* de Student. Através da aplicação do teste, com valores de *t* calculados (3,39; 1,22; 1,22 para K, Mg e Na, respectivamente) < *t* crítico (4,30), pode-se verificar que não há diferença significativa entre os resultados, com um nível de confiança de 95 %, tanto para solubilização alcalina em 30 min no ultrassom e *overnight*, quanto para o método de decomposição ácida, comprovando que a metodologia proposta apresenta exatidão para análise.

Após a avaliação da exatidão do método proposto, foi realizada a determinação das concentrações de Cu, Fe, K, Mg, Na e Zn nas demais amostras.

Através deste estudo pode-se verificar que elementos essenciais para o organismo como Cu e Fe encontram-se em concentrações muito baixas nas amostras de pães analisadas, vistos que não foi possível quantificá-los mesmo utilizando uma metodologia que proporcionou baixos valores de limites de detecção, como de 0,073 mg kg⁻¹ para Cu e 0,051 mg kg⁻¹ para Fe. Para Zn nas amostras A, B, C, D e E a concentração também foi inferior ao LDm (0,043 mg kg⁻¹). No entanto, a concentração deste analito na amostra F (com adição de cenoura e mandioquinha) foi de 23,6 ± 2,2 mg kg⁻¹, estando esta de acordo com a concentração informada no rótulo para este elemento que é de 22 mg kg⁻¹. Essa concentração pode ser proveniente da adição de cenoura e mandioquinha a sua composição, uma

Tabela 2. Parâmetros de méritos obtidos para as curvas de calibração de Cu, Fe, K, Mg, Na e Zn por técnicas de espectrometria atômica

Analito	Faixa Linear (mg L ⁻¹)	a (L mg ⁻¹)	R ²	LDm (mg kg ⁻¹)	LQm (mg kg ⁻¹)
Cu	1,0 – 4,0	0,9757	0,998	0,073	0,241
Fe	1,0 – 6,0	0,0775	0,995	0,051	0,168
K	0,5 – 2,0	0,9524	0,995	0,021	0,069
Mg	0,5 – 3,0	1,3937	0,993	0,008	0,026
Na	0,5 – 2,0	0,9328	0,993	0,003	0,009
Zn	0,5 – 3,0	0,9302	0,998	0,043	0,142

a: coeficiente de correlação angular da curva; R²: coeficiente de correlação linear ao quadrado; LDm: limite de detecção do método; LQm: limite de quantificação do método.

Tabela 3. Resultados das concentrações dos testes de adição de analitos para solubilização alcalina com ultrassom aplicado à amostra tradicional A

Analito	Adição (mg kg ⁻¹)	Solubilização alcalina (mg kg ⁻¹)	Recuperação (%)
Cu	Sem Adição	< LDm	-
	150	120 ± 7 (5,8)	80
	375	341 ± 32 (9,4)	91
	600	488 ± 1 (0,2)	81
Fe	Sem Adição	< LDm	-
	150	163 ± 4 (2,4)	109
	375	414 ± 36 (8,7)	110
	750	629 ± 6 (0,9)	84
K	Sem adição	1439 ± 42 (2,9)	-
	750	2025 ± 27 (1,3)	87
	1500	3016 ± 18 (0,6)	104
	2250	3732 ± 91 (2,4)	101
Mg	Sem Adição	183 ± 9 (4,9)	-
	120	283 ± 5 (1,7)	91
	225	408 ± 5 (1,2)	99
	375	555 ± 4 (0,7)	98
Na	Sem adição	3488 ± 76 (2,1)	-
	2250	5169 ± 132 (2,5)	82
	3750	6810 ± 210 (3,1)	88
	5250	8458 ± 141 (1,7)	94
Zn	Sem Adição	< LDm	-
	150	121 ± 2 (1,6)	115
	225	270 ± 23 (8,5)	120
	300	354 ± 3 (0,8)	118

Concentração expressa em x: média (mg kg⁻¹); sd: desvio-padrão (mg kg⁻¹); RSD: desvio padrão relativo (%); < LDm: Valores abaixo do limite de detecção do método

Tabela 4. Avaliação da exatidão da metodologia proposta por diferentes procedimentos de preparo da amostra (n=3)

Analitos	Concentração, x ± SD mg kg ⁻¹ (RSD, %)		
	Solubilização Alcalina overnight	Solubilização Alcalina ultrassom	Decomposição Ácida
K	1448 ± 48 (3,3)	1439 ± 42 (2,9)	1449 ± 51 (3,5)
Mg	170 ± 12 (7,0)	183 ± 8 (4,4)	202 ± 15 (7,5)
Na	3534 ± 32 (0,9)	3488 ± 76 (2,2)	3410 ± 21 (0,6)

Concentração expressa em x: média; sd: desvio-padrão; RSD: desvio-padrão relativo.

vez que esses legumes são produzidos em solos, os quais utilizam sulfato de zinco como fertilizante que pode ser absorvido pelas raízes, aumentando a concentração desse analito nesta amostra.²⁴

A Figura 1 apresenta as concentrações de K, Mg e Na nas seis amostras de pão analisadas.

De acordo com teste estatístico para Na a

amostra F (3621 mg kg⁻¹) foi a que apresentou a maior concentração, já as amostras A e C (3488 e 3286 mg kg⁻¹, respectivamente) apresentaram concentrações semelhantes entre si, da mesma forma as amostras B, D e E (2906, 3041 e 2929, respectivamente). Comparando as concentrações encontradas com trabalhos citados na literatura,¹

Figura 1. Concentrações de K, Mg e Na nas amostras de pão industrializado (n=3) obtidas F AAS e F AES após solubilização alcalina, sendo^{a,b,c,d,e} letras diferentes na coluna são significativamente diferentes pelo Teste Tukey à $p < 0,05$

através do teste t Student observa-se que não existe diferença significativa na concentração de Na nas bisnaguinhas comercializadas em Pelotas/RS e no Rio de Janeiro.

Já para o K as concentrações variaram de 1174 a 2454 mg kg⁻¹, sendo que a amostra que apresentou a menor concentração foi amostra D (vitaminada com B1, B2, B3 e B6) e a que apresentou a maior concentração foi a amostra E (integral). Para o Mg a amostra A foi a que apresentou menor concentração (183 mg kg⁻¹), enquanto que a amostra E apresentou maior concentração (465 mg kg⁻¹). É importante salientar que a variação da concentração dos elementos nas amostras de pão industrializado pode ser atribuída às diferentes farinhas utilizadas para fabricação, além dos demais ingredientes utilizados, os quais afetam diretamente a composição dos produtos.²⁵

Correlacionando a concentração dos elementos estudados com a ingestão diária recomendada,^{22,23} que para crianças e adultos é de 0,3 e 0,9 mg para Cu; 7,1 e 10,5 mg para Fe; 79 e 348 mg para Mg e 3,0 e 9,0 mg para o Zn, respectivamente. Bem como, com a concentração recomendada para o Na e K que é de 2000 e 4700 mg/dia para os adultos, respectivamente.^{25,26} Tomando por base a concentração obtida e comparando com a ingestão de uma porção de 100 g de pão industrializado (equivalente ao consumo de 6 bisnaguinhas), pode ser verificado que as concentrações de Mg, K e Na em todas as amostras analisadas ficaram abaixo do limite recomendado.

De acordo com o termo de compromisso entre o Ministério da Saúde e as Associações Brasileiras das Indústrias de Alimentação¹³, pães do tipo bisnaguinha devem conter no máximo 430 mg/100 g de sódio. Analisando a concentração de sódio encontrada no presente trabalho, todas as amostras analisadas estão de acordo com o termo de compromisso. No entanto, é importante ressaltar que as concentrações de Na presente nas amostras analisadas compreendem uma parcela significativa em relação ao limite diário recomendado, já que como são consumidas na primeira refeição do dia e normalmente são acompanhadas de alimentos com elevada concentração de sódio, como requeijão, queijo, manteiga, margarina, entre outros, a concentração diária desse nutriente pode ser facilmente ultrapassada.

Para as amostras investigadas, apenas a concentração de Na é informada nos rótulos. Dessa forma, para fins comparativos, esses valores estão apresentados na Tabela 5, já calculados na concentração equivalente (mg kg⁻¹) das amostras estudadas.

Aplicando o teste estatístico t de Student nos valores informados na Tabela 6, que compara as concentrações de Na encontradas com as informadas no rótulo, somente as amostras A e D estão em concordância, com valores de t calculados (2,46 e 3,27 para A e D, respectivamente) $< t$ crítico (4,30).

Conforme o estudo realizado por Garufe e colaboradores,²⁷ que classifica os pães tipo bisnaguinhas baseado na RDC n° 54, que estabelece até 80 mg de Na em 50 g de pão industrializado, como um alimento de baixo teor de Na, observa-se que

Tabela 5. Comparação entre as concentrações de Na encontradas nas amostras e informadas nos rótulos por F AES

Amostras	Concentração obtida, $\bar{x} \pm \text{sd}$ mg kg ⁻¹ (RSD)	Concentração informada no rótulo (mg kg ⁻¹)
A	3488 $\pm$ 76 (2,2)	3380
B	2906 $\pm$ 41 (1,4)	3160
C	3286 $\pm$ 19 (0,6)	3660
D	3041 $\pm$ 63 (2,1)	3160
E	2929 $\pm$ 72 (2,4)	2620
F	3621 $\pm$ 60 (1,6)	3380

Concentração expressa em $\bar{x}$: média; sd: desvio-padrão; RSD: desvio-padrão relativo.

todas as amostras analisadas apresentam valores de Na acima desse valor, no entanto abaixo do que é considerado alimento rico em Na, que é 480 mg de Na para 50 g de amostra. Sendo assim, observa-se a importância de avaliar os rótulos antes do consumo, uma vez que este alimento é comumente presente na alimentação da população.

É importante salientar que o uso do hidróxido de tetrametilamônio no preparo das amostras apresenta-se como uma alternativa vantajosa em relação aos métodos clássicos de análise citados na literatura, já que estes necessitam de maiores quantidades de amostra, elevadas temperaturas, maior manipulação, além da utilização de sistemas abertos aliados ao uso de misturas de ácidos fortes como HNO₃, H₂SO₄ e HClO₄, os quais, dependendo do meio de decomposição, aumentam os riscos de explosão.^{1,2,7,14}

Por outro lado, a solubilização alcalina utilizando hidróxido de tetrametilamônio, apresenta-se como um método de preparo das amostras com elevada frequência analítica (30 min com o uso de banho ultrassônico), demanda mínima manipulação das amostras, utiliza de pequenos volumes de reagentes (em nível de μL), gerando consequentemente pouco resíduo, além de proporcionar uma redução nos custos das análises.

5. Conclusão

O método de preparo de amostra proposto para a quantificação de metais nas amostras de pão industrializado apresentou-se preciso e exato com valores de RSD < 10 %. Também apresentou boa exatidão com bons valores de recuperação e sem diferença significativa em relação ao método comparativo para determinar Na e K por F AES e

Cu, Fe, Mg e Zn por F AAS. Além disso, é um método muito simples, reprodutível e de baixo custo devido ao pequeno volume de reagente utilizado para solubilizar completamente as amostras, bem como em relação à instrumentação analítica necessária.

Sendo assim, a solubilização das amostras em meio de hidróxido de tetrametilamônio, aliada ao uso do banho ultrassônico para posterior determinação dos metais por técnicas de espectrometria atômica, apresenta-se como uma alternativa promissora para auxiliar em análises de rotina, contribuindo com órgãos regulamentadores no controle de elementos essenciais nestas amostras.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao financiamento proporcionado pelo Projeto Casadinho nº. 552197/2011-4) e pelas bolsas concedidas pelos órgãos de fomento CNPq (Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico) e a CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior).

Referências Bibliográficas

- ¹ Dias, G. L. E.; Moraes, O. M. G.; Camara, A. O. Determinação quantitativa da concentração de sódio em pães tipo bisnaguinha comercializados na cidade do Rio de Janeiro. *Revista Visa em Debate* **2015**, 3, 48. [CrossRef]
- ² Ozbek, N.; Akman, S. Method development for the determination of calcium, copper, magnesium, manganese, iron, potassium, phosphorus and zinc in different types of breads by microwave induced plasma-atomic emission spectrometry. *Food Chemistry* **2016**, 200, 245. [CrossRef]

- ³ Pedraza, D. F.; Sales, M. C. Deficiência de zinco: diagnóstico, estimativas do Brasil e prevenção. *Nutrire* **2015**, 3, 397. [CrossRef]
- ⁴ Associação Brasileira das Indústrias Biscoitos, Massas Alimentícias e Pães & Bolos Industrializados (ABIMAPI). *Estatísticas Pães & Bolos*, 2015. Disponível em: <<https://www.abimapi.com.br/estatistica-paes-bolos.php>>. Acesso em: 5 junho 2019.
- ⁵ Bianco, C. I.; De Jesus, J. A.; Almeida, I. S. F.; Sartorio, D. S.; Bernardi, M. R. V. Perfil Sensorial E Aceitabilidade De Pão Tipo Bisnaguinha Adquirido Na Cidade De Araras-Sp. *Revista Brasileira de Biometria* **2015**, 33, 1. [CrossRef]
- ⁶ Lamsal, R. P.; Beauchemin, D. Estimation of the bio-accessible fraction of Cr, As, Cd and Pb in locally available bread using on-line continuous leaching method coupled to inductively coupled plasma mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* **2015**, 827, 9. [CrossRef]
- ⁷ Feyzi, Y.; Malekiran, A.; Fazilate, M.; Salavatiz, H.; Habibollahiz, S.; Rezaei, M. Metals that are Important for Food Safety control of bread Product. *Advances In Bioreserach* **2017**, 8, 111. [CrossRef]
- ⁸ Fernández, M. I.; Caballero, B.; Trugo, L.; Finglas, P. Encyclopedia of food sciences and nutrition. Academic Press: London 2003.
- ⁹ Instituto Linus Pauling (LPI). *Minerais*, 2016. Disponível em: <<http://lpi.oregonstate.edu/mic/minerals>>. Acesso em: 5 junho 2019.
- ¹⁰ Pereira, C. C.; Souza, A. O.; Oreste, E. Q.; Vieira, M. A.; Ribeiro, A. S. Evaluation of the use of a reflux system for sample preparation of processed fruit juices and subsequent determination of Cr, Cu, K, Mg, Na, Pb and Zn by atomic spectrometry techniques. *Food Chemistry* **2018**, 240, 959. [CrossRef]
- ¹¹ Instituto Brasileiro de Defesa do Consumidor; *Redução de Sódio em alimentos. Uma análise dos acordos voluntários no Brasil*, 2014. Disponível em: <<https://www.idec.org.br/uploads/publicacoes/publicacoes/caderno-idec-sodio-alimentos.pdf>>. Acesso em: 5 junho 2019.
- ¹² Diário Oficial da União, seção 3, 26 de dezembro de 2011. Disponível em: <https://abia.org.br/vsn/tmp_2.aspx?id=26>. Acesso em: 5 junho 2019.
- ¹³ Ministério da Saúde. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/resultado-de-busca?p_p_id=101&p_p_lifecycle=0&p_p_state=maximized&p_p_mode=view&p_p_col_id=column1&p_p_col_count=1&_101_struts_action=%2Fasset_publisher%2Fview_content&_101_assetEntryId=2977082&_101_type=content&_101_groupId=33916&_101_urlTitle=informe-tecnico-n-54-de-de-julho-de-2013&inheritRedirect=true>. Acesso em: 5 junho 2019.
- ¹⁴ Oliveira, E. Sample Preparation for Atomic Spectroscopy: Evolution and Future Trends. *Journal Brazilian Chemical Society* **2003**, 14, 174. [CrossRef]
- ¹⁵ Lenardão, E. J.; Freitag, R. A.; Dabdoub, M. J.; Batista, A. C. F. Green Chemistry – Os 12 princípios da química verde e sua inserção nas atividades de ensino e pesquisa. *Química Nova* **2003**, 26, 123. [CrossRef]
- ¹⁶ Ribeiro, A. S.; Moretto, A. L.; Arruda, M. A. Z.; Cadore, S. Analysis of Powdered Coffee and Milk by ICP OES after Sample Treatment with Tetramethylammonium Hydroxide. *Mikrochimica Acta* **2003**, 141, 149. [CrossRef]
- ¹⁷ Nóbrega, J. A.; Santos, M. C.; Sousa, R. A.; Cadore, S.; Barnes, R. M.; Tatro, M. Sample preparation in alkaline media. *Spectrochimica Acta* **2006**, 61, 465. [CrossRef]
- ¹⁸ Silva, C. S.; Nunes, A. M.; Oreste, E. Q.; Acunha, T. S.; Vieira, M. A.; Ribeiro, A. S. Evaluation of sample preparation methods based on alkaline and acid solubilization for the determination of Na and K in meat samples by atomic spectrometric techniques. *Journal Brazilian Chemycal Society* **2012**, 23, 1623. [CrossRef]
- ¹⁹ De Oliveira, R. M.; Antunes, A. C. N.; Vieira, M. A.; Medina, A. L.; Ribeiro, A. S. Evaluation of sample preparation methods for the determination of As, Cd, Pb, and Se in rice samples by GF AAS. *Microchemical Journal* **2016**, 124, 402. [CrossRef]
- ²⁰ Diníz, L. M. N.; Carrasco, T. S.; Medina, A. L.; Ribeiro, A. S.; Nunes, A. M. Use of MIP OES and F AAS/ F AES for determination of Ca, K, Na and Mg in brazilian cream cheese. *Química Nova* **2017**, 40, 711. [CrossRef]
- ²¹ Torres, D. P.; Vieira, M. A.; Ribeiro, A. S.; Curtius, A. J. Determination of inorganic and total mercury in biological samples treated with tetramethylammonium hydroxide by cold vapor atomic absorption spectrometry using different temperatures in the quartz cell. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **2005**, 20, 289. [CrossRef]
- ²² Institute of Medicine, 2011. Dietary Reference Intakes (DRIs). Disponível em: <https://fnic.nal.usda.gov/sites/fnic.nal.usda.gov/files/uploads/recommended_intakes_individuals.pdf>. Acesso em: 5 junho 2019.

²³ Food Labeling Guide. Disponível em: <<https://www.fda.gov/downloads/Food/GuidanceRegulation/UCM265446.pdf>>. Acesso em: 5 junho 2019.

²⁴ Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural (EMATER). Cultura da cenoura. Disponível em: <<http://atividaderural.com.br/artigos/4eaaaf038de7f.pdf>>. Acesso em: 5 junho 2019.

²⁵ Winiarska-Mieczan, A.; Kowalczyk-Vasilev, E.; Kwiatkowska, K.; Kwiecień, M.; Baranowska-Wójcik, E.; Kiczorowska, B.; Klebaniuk, R.; Samolińska, W. *Biological Trace Element Research* **2018**, 187, 568. [CrossRef]

²⁶ Ministério da Saúde, Brasil.; *Redução de sódio nos alimentos processados*, 2016. Disponível em: <<http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2016/junho/29/Apresentacao-Coletiva-do-Sodio-jun2016.pdf>>. Acesso em: 5 junho 2019.

²⁷ Garufe, A. G. O.; Coutinho, V. F.; Malagutti, W.; Rodrigues, F. S. M.; Ferraz, R. N. Avaliação da composição de sódio em “bisnaguinhas industrializadas” por meio da análise do rótulo nutricional. *Revista Saúde em Foco* **2017**, 9, 370. [CrossRef]

²⁸ Ministério de Saúde, Brasil. RDC nº 54, de 12 de novembro de 2012. [CrossRef]