

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE ALIMENTOS
CURSO DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS

BRUNO LUÍS FERREIRA

**EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR ULTRASSOM PARA DETERMINAÇÃO
DE Ca, Fe, K E Na EM AMOSTRAS DE ACHOCOLATADO EM PÓ.**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Ponta Grossa
2015

Bruno Luís Ferreira

**EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR ULTRASSOM PARA DETERMINAÇÃO
DE Ca, Fe, K E Na EM AMOSTRAS DE ACHOCOLATADO EM PÓ.**

Trabalho apresentado como exigência
para obtenção do grau de Tecnólogo em
Alimentos da Universidade Tecnológica
Federal do Paraná.

Orientador: Profº Dr. Eduardo S. Chaves

Ponta Grossa

2015



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Ponta Grossa

Diretoria de Graduação / Departamento Acadêmico de Alimentos/
Coordenação do Curso Superior de Tecnologia em Alimentos



TERMO DE APROVAÇÃO

EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR ULTRASSOM PARA DETERMINAÇÃO DE CA, FE, K E NA EM AMOSTRAS DE ACHOCOLATADO EM PÓ.

por

BRUNO LUÍS FERREIRA

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi apresentado em 05 de março de 2015 como requisito parcial para a obtenção do título de Tecnólogo em Alimentos. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Eduardo S. Chaves
Profº Orientador

José Luiz Ferreira da Trindade
Membro titular

Simone Bowles
Membro titular

- O Termo de Aprovação assinado encontra-se na Coordenação do Curso -

Dedico esse trabalho aos meus pais Nilton e Selma por todo o incentivo e apoio durante todas as decisões que fiz em minha vida. A todos aqueles que de alguma forma estiveram e estão próximos a mim.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente ao meu orientador e amigo professor Eduardo S. Chaves, por acreditar em mim e me ensinar o máximo que sabe. Obrigado por todos os conselhos, dicas e orientações. Agradeço a meus pais que dedicaram seus esforços para minha educação. Aos meus amigos, a Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, ao Departamento de Alimentos e a Fundação Araucária FA–Paraná/Brasil pelo apoio financeiro.

RESUMO

O consumo de achocolatados é cada vez maior por pessoas de todas as idades, principalmente pelo público infantil, desta maneira a análise dos componentes desse produto, tais como os minerais, torna-se importante para a correta escolha pelo consumidor. Um método simples e rápido para a determinação de Ca, Fe, K e Na em amostras de achocolatado, utilizando extração assistida por ultrassom foi proposto. As determinações foram realizadas por fotometria de chama e espectrometria de absorção atômica com atomização em chama. O método mostrou-se simples e preciso, apresentando limites de detecção de $0,1 \text{ mg g}^{-1}$ para Ca, K e Na e $0,02 \text{ mg g}^{-1}$ para Fe, e valores de RSD menores que 13 %, para verificar a eficácia do método, os resultados obtidos foram comparados com a digestão ácida por via úmida. Foram analisadas 10 amostras de achocolatado em pó de diferentes marcas e as concentrações obtidas comparadas aos valores estabelecidos pela Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO) e aos valores informados nos rótulos dos produtos. Os resultados obtidos, para a maioria das amostras, não estavam de acordo com os valores estabelecidos na tabela TACO e aos valores informados nos rótulos.

Palavras-chave: minerais, achocolatado, extração assistida por ultrassom.

ABSTRACT

The minerals are characterized as micronutrients, are acquired by alimentation, being important substances to human health, either by absence, as calcium, iron and potassium, and by your excess, such as sodium. The consumption of chocolate powder is even greater for people of all ages, mainly for kids, for that reason the analysis of the components of this product are important to the correct choice by the consumers. A simple and quickly method for determination of Ca, Fe, K and Na in samples of chocolate powder using ultrasound assisted extraction was proposed. The determinations were performed by photometry detection and the atomic absorption spectrophotometry with flame atomization (FAAS). The method was simple and accurate, with detection limit (LOD) of $0,1 \text{ mg g}^{-1}$ to Ca, K and Na and $0,02 \text{ mg g}^{-1}$ to Fe, the values of the RSD were lower than 13%, and to check the efficiency of the method, the results was compared with acid digestion . 10 samples of chocolate powder of different brands were analyzed and the obtained concentrations were compared with the Brazilian Table of Food Composition (TACO) and also with the values informed in the label of the products. The obtained results, in the majority of samples were not in accordance to the TACO values and the label values.

Keywords: minerals, chocolate powder, ultrasound assisted extraction.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Influência da concentração de ácido extrator sob a concentração de Ca, Fe, K e Na em achocolatado em pó. Tempo de extração de 30 min, temperatura de extração 50 ± 5 °C. (média \pm intervalo de confiança 95%)..... 17
- Figura 2** - Influência do tempo ação do ultrassom sob a concentração de Ca, Fe, K e Na em achocolatado em pó. Solução extratora de HNO₃ 50% v/v, e temperatura de 50 ± 5 °C. (média \pm intervalo de confiança 95%)..... 18
- Figura 3** - Comparação das concentrações obtidas para Ca, Fe, K e Na em amostras de achocolatado em pó com os valores especificados na tabela TACO. Considerados os valores médios obtidos.....22
- Figura 4** - Comparação das concentrações obtidas para Ca, Fe e Na em amostras de achocolatado em pó com os valores informados nos rótulos das embalagens. Considerados os valores médios obtidos.....23

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Concentração de Ca, Fe, K e Na nas amostras de achocolatado em pó obtidas por extração assistida por ultrassom e digestão ácida por via úmida. (média \pm intervalo de confiança 95%)20

Tabela 2 - Concentração (mg g^{-1}) de Ca, Fe, K e Na em amostras de achocolatado em pó de diferentes marcas após extração assistida por ultrassom, (média \pm intervalo de confiança 95%)21

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
1.1 Objetivo Geral.....	13
1.2 Objetivos Específicos	13
2 MATERIAS E MÉTODOS.....	14
2.1 Instrumentação	14
2.2 Reagentes, soluções e amostras.....	14
2.3 Procedimento para a digestão por via úmida.....	15
2.4 Procedimento para extração assistida por ultrassom.....	15
3 RESULTADOS E DISCUSSÕES	16
3.1 Otimização da extração.	16
3.2 Parâmetros de mérito.....	19
3.3 Verificação da exatidão	19
3.4 Aplicação analítica	20
4 CONCLUSÃO.....	24
REFERÊNCIAS.....	25
ANEXOS	30

1 INTRODUÇÃO

Os minerais são compostos inorgânicos ingeridos principalmente através da alimentação que desempenham importantes funções metabólicas no organismo. Apresentam ainda relação direta com várias doenças características, devido à ausência ou excesso de determinado mineral no organismo humano (LOBO; TRAMONTE, 2004). Dentre as principais doenças relacionadas aos minerais podemos destacar doenças cardiovasculares, renais e a hipertensão, relacionadas ao excesso de sódio (Na) no organismo. Fato que é particularmente preocupante se considerarmos que atualmente a ingestão de Na na forma de sal convencional na alimentação diária dos brasileiros está sendo no mínimo duas vezes maior, em torno de 12 g diários, que o limite máximo de 5 g ao dia de acordo com a Organização Mundial da Saúde (apud ANVISA).

A anemia ferropriva, relacionada à deficiência de ferro (Fe) no organismo, é um dos maiores problemas do Brasil, considerando a dieta da população brasileira pobre nesse mineral. Entretanto, o Fe pode ser encontrado em alimentos como a carnes e feijão, sendo recomendado de acordo com a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), uma ingestão diária de pelo menos 14 mg/dia. A deficiência de cálcio (Ca) no organismo humano pode acarretar em má formação da estrutura óssea desencadeando osteoporose e ainda uma fragilidade em todos os aspectos físicos estruturais, além de ser importante para os sistemas bioquímicos que envolvem proteínas. Dentre os alimentos ricos em cálcio destacam-se o leite, peixes enlatados, nozes etc. Segundo a ANVISA a ingestão diária deste mineral deve ser, para um indivíduo adulto, em média de 1000 mg/dia, entretanto, a ingestão de Ca atualmente é cerca de 300 a 500 mg/dia. Com relação à ingestão de potássio (K), esta é de suma importância para manter em equilíbrio da pressão sanguínea, principalmente devido ao elevado consumo diário de Na (responsável pela elevação da pressão sanguínea). O K auxilia na redução dos efeitos ocasionados pela ingestão excessiva de Na, além de outras funções dentro do corpo humano (TANASE *et al.*, 2011; COZZOLINO, 2007; PETERS e MARTINI, 2010). Assim, o monitoramento da concentração destes e de outros minerais nos alimentos, principalmente nos industrializados é muito importante. Dentre estes alimentos destacam-se os achocolatados, os quais são amplamente consumidos,

principalmente por crianças e adolescentes.

O Açoalado em pó é um produto açucarado consumido por pessoas de todas as idades, em especial crianças, produzido basicamente por sacarose e cacau em pó (MEDEIROS, 2006 apud MEDEIROS e LANNES, 2009), e suplementados com vitaminas e minerais (principalmente o Fe, para diminuir casos de anemia). O consumo desse produto movimenta cerca de R\$ 700 milhões/ano e apresenta um crescimento significativo em suas vendas. Por consequência da grande variedade desse produto nos comércios e a tendência mundial por uma boa alimentação, o monitoramento da composição mineral neste produto torna-se essencial (EDUARDO e LANNES, 2004; FONTES *et al.*, 2008).

A determinação de minerais em alimentos é amplamente realizada em diversos laboratórios químicos e de bromatologia. Dentre as técnicas utilizadas para a determinação está à espectrometria de emissão atômica (CASTANHEIRA *et al.*, 2009), espectrometria de absorção atômica (MATUSIEWICZ e ŚLACHCIŃSKI, 2014), espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (TUPINANBÁ *et al.*, 2012), e espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (SAIDELLES *et al.*, 2010). Os principais métodos propostos para análise de minerais em alimentos utilizam como procedimentos de preparo de amostras a calcinação (LETERME *et al.*, 2006), a digestão ácida por via úmida em frasco aberto (TUPINANBÁ *et al.*, 2012), e a digestão ácida por via úmida assistida por radiação de micro-ondas (MORGANO *et al.*, 1999). Entretanto, estes procedimentos são muito laboriosos e demorados, normalmente exigindo a utilização de reagentes concentrados e/ou altas temperaturas e pressão, aumentando assim o risco de acidentes e possíveis contaminações (CAVECCI *et al.*, 2008; MORAES *et al.*, 2009). Por esses motivos procedimentos alternativos para o preparo de amostras têm sido cada vez mais utilizados para a extração de compostos minerais em diversas amostras (BARROS, 2013).

Dentre estes se destaca a extração assistida por ultrassom, cujo princípio de extração baseia-se na ação de ondas mecânicas de baixa frequência, as quais são responsáveis pela formação e colapso de microbolhas ocasionando áreas pontuais de alta pressão e temperatura na solução. A ação do ultrassom facilita a extração dos elementos, a sedimentação do material particulado em suspensão, além de promover a quebra de células vegetais. Além disso, extração assistida por ultrassom é de simples operação, baixo custo e eficiente para extração de elementos em

amostras de alimentos, não necessitando de longos períodos para o preparo das amostras e nem da utilização de altas temperaturas e pressão (CAVALHEIRO, 2013).

1.1 Objetivo Geral

Propor uma metodologia para determinação de minerais em amostras de achocolatado em pó utilizando extração assistida por ultrassom como procedimento de preparo das amostras e determinação utilizando técnicas espectrométricas (fotometria de chama e espectrometria de absorção atômica com atomização em chama (FAAS)).

1.2 Objetivos Específicos

- Otimização do procedimento de extração assistida por ultrassom de Ca, Fe, K e Na para a matriz de achocolatado em pó;
- Determinar os parâmetros de mérito do método proposto;
- Verificar a exatidão do método através da comparação dos resultados obtidos com a digestão acida em frasco aberto;
- Aplicar o método proposto para determinação de Ca, Fe, K e Na em diferentes marcas de achocolatado em pó comercializadas na cidade de Ponta Grossa, PR.;
- Comparar os resultados obtidos com os valores rotulados nos produtos e com a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO) (UNICAMP, 2011).

2 MATERIAS E MÉTODOS

2.1 Instrumentação

As amostras foram pesadas em balança analítica modelo Mark 205 A (BEL Engineering), a determinação da umidade foi realizada conforme método 12/IV do Instituto Adolfo Lutz, em estufa com circulação e renovação de ar modelo SL 102 (SOLAB). A extração foi realizada em banho ultrassônico modelo USC-1400A (UNIQUE) e a centrifugação realizada em centrífuga Excelsa Baby II 206-R (FANEM). Para a verificação da exatidão, as amostras foram digeridas em bloco digestor modelo SL 25/40 (SOLAB). As determinações de Ca, K e Na foram realizadas em fotômetro de chama modelo 610 MS (Analyser). As concentrações de Fe determinadas em espectrofotômetro de absorção atômica com atomização em chama AA-6200 (Shimadzu) e utilizando chama ar-acetileno, as leituras foram realizadas no comprimento de onda de 248,3 nm, com fenda espectral de 0,2 nm.

2.2 Reagentes, soluções e amostras

Todos os reagentes utilizados nos experimentos foram de grau analítico, as soluções foram preparadas em vidrarias previamente descontaminadas em banho de ácido nítrico (HNO_3) 10% v/v por 12 horas, utilizando água ultrapura com resistividade de $18 \text{ M}\Omega\text{cm}^{-1}$ (Master System MS 2000, GEHAKA). Para a extração foram utilizadas soluções de HNO_3 65% supra puro (Merck) e ácido clorídrico (HCl) P.A (Alphatec), para a digestão ácida por via úmida foram utilizados HNO_3 65% e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) 30 % P.A (Biotec) As amostras de achocolatado em pó analisadas foram adquiridas no comércio local da cidade de Ponta Grossa-PR, abertas e transferidas para recipientes hermeticamente fechados até o momento das análises, no total 10 diferentes marcas foram analisadas.

2.3 Procedimento para a digestão por via úmida

Para a digestão das amostras, uma alíquota de aproximadamente 0,5 g de amostras foram pesadas e transferidas para tubos de Kjeldahl. Em seguida foram adicionadas 3 mL de HNO₃ e 2 mL de H₂O₂ as amostras foram submetidas a aquecimento em bloco digestor, à temperatura de 80°C por 30 minutos e depois 150°C por mais 90 minutos, estas foram filtradas e avolumadas para 50 mL com água ultrapura e posteriormente foram determinadas as concentrações dos elementos. Amostras de branco foram analisadas paralelamente.

2.4 Procedimento para extração assistida por ultrassom

Uma alíquota de aproximadamente 0,2 g de amostra foi diretamente pesada em tubos de ensaio, adicionado 3 mL de solução extratora e submetidas a banho ultrassônico por 30 minutos em temperatura de 50 ± 5 °C. Após a extração dos elementos a solução resultante foi avolumada para 5 mL e posteriormente centrifugadas a 4000 rpm por 15 minutos e 5000 rpm por 5 minutos. Uma alíquota de 2 mL do sobrenadante foi então transferida para tubos de polipropileno avolumados com água ultrapura até o volume final de 10 mL. Em seguida a concentração dos elementos foi determinada, em paralelo foi analisado o branco das amostras.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 Otimização da extração

O procedimento de extração foi otimizado baseando-se na maior concentração obtida para Ca, Fe, K e Na em uma amostra de achocolatado em pó. A influência dos parâmetros: tipo e concentração do ácido extrator bem como o tempo e temperatura de extração, foi avaliada.

Para otimização do tipo de solução extratora foram selecionados o HNO₃ e o HCl na concentração de 50% v/v em temperaturas de extração ambiente (25 ± 3 °C) e sob aquecimento a 50 ± 5 °C, fixado o tempo de ação do ultrassom em 30 minutos. Os resultados demonstraram que a utilização do HNO₃, com aquecimento a 50 ± 5 °C, proporcionou uma maior eficiência na extração dos analitos, uma vez que nestas condições foram obtidas concentrações médias de Na e K relativamente maiores, se comparada a extração sem aquecimento e com uso de HCl. Além disso, os resultados obtidos com a extração com HNO₃ e aquecimento a 50 ± 5 °C foram mais precisos e apresentaram menor desvio padrão. No trabalho realizado por LIMA, *et al.*, 2011, os quais desenvolveram um método alternativo para determinação de metais em amostras de fertilizantes usando extração assistida por ultrassom, os autores também avaliaram o efeito do HNO₃ e HCl como extrator e observaram que a utilização de HNO₃ resultou numa ligeira melhora na extração dos metais das amostras de fertilizantes. Segundo MORAES *et al.*, 2009, a uma temperatura de 50 °C, a formação de núcleos de cavitação é favorecida, e conseqüentemente, a eficiência de extração é maior. Assim utilizou-se como condição de compromisso para as demais análises o HNO₃ como extrator e aquecimento a 50 ± 5 °C para extração em ultrassom.

A concentração do ácido extrator foi otimizada avaliando soluções de HNO₃ com concentrações variando de 0 a 100% v/v de HNO₃. Os resultados obtidos são apresentados na Figura 1.

A ausência de ácido (0%) não proporcionou uma extração significativa para a maioria dos elementos analisados. O aumento na concentração de HNO₃ entre 25 e 75% v/v na solução extratora, resultou numa melhora significativa na extração dos analitos, proporcionando um aumento da concentração obtida dos elementos na

amostra. Entretanto, a utilização de HNO_3 a 100% v/v como extrator resultou em uma concentração significativamente menor, resultado da supressão do sinal analítico devido ao elevado teor ácido (em torno de 15%) na solução. Isso por que altas concentrações de ácido podem ter alterado as propriedades físico-químicas da solução da amostra ocasionando em uma interferência. Contudo ao analisarmos as concentrações de 50% e 75% podemos notar que não há diferença significativa nas concentrações obtidas, considerando os valores médios de concentração e os intervalos de confiança de 95%. Este fato está de acordo com LIMA *et al.*, 2011, os quais também observaram que a utilização de ácido nítrico em concentrações acima de 50% v/v não resultaram num aumento significativo na extração dos metais analisados. Assim, para as demais determinações foi utilizada solução extratora HNO_3 na concentração de 50% v/v, como condição de compromisso.

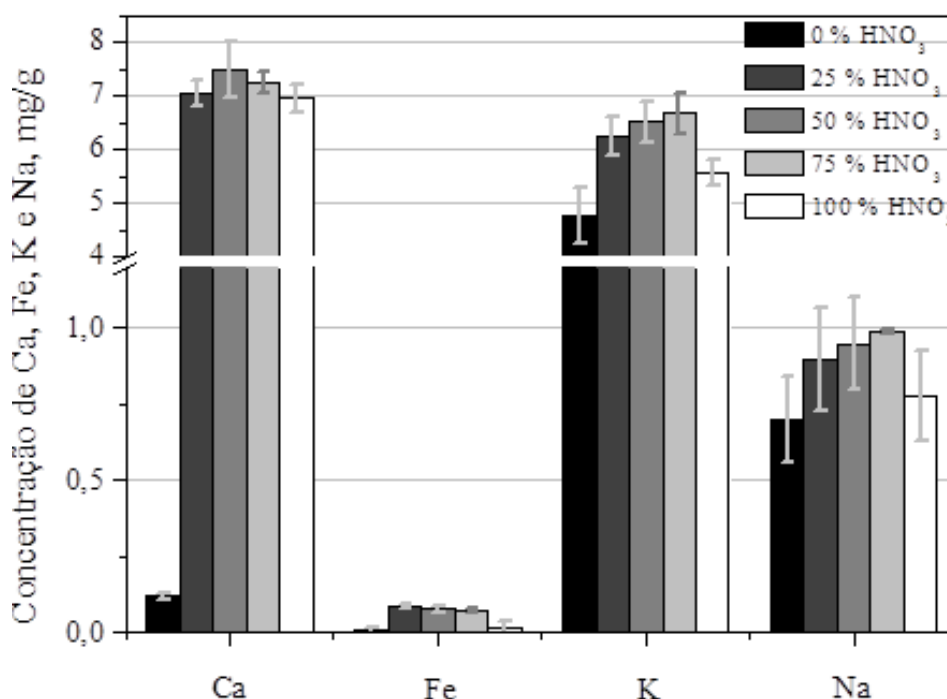


Figura 1. - Influência da concentração de ácido extrator sob a concentração de Ca, Fe, K e Na em achocolatado em pó. Tempo de extração de 30 min, temperatura de extração 50 ± 5 °C. (média \pm intervalo de confiança 95%).

O tempo em que a amostra foi submetida à ação do ultrassom é outro parâmetro fundamental a ser otimizado, neste caso avaliou-se a eficiência de extração dos analitos sem ação do ultrassom (0 min), além dos tempos de ultrassom entre 15 e 60 minutos. A Figura 2 apresenta o efeito do tempo de extração sob a concentração dos elementos analisados.

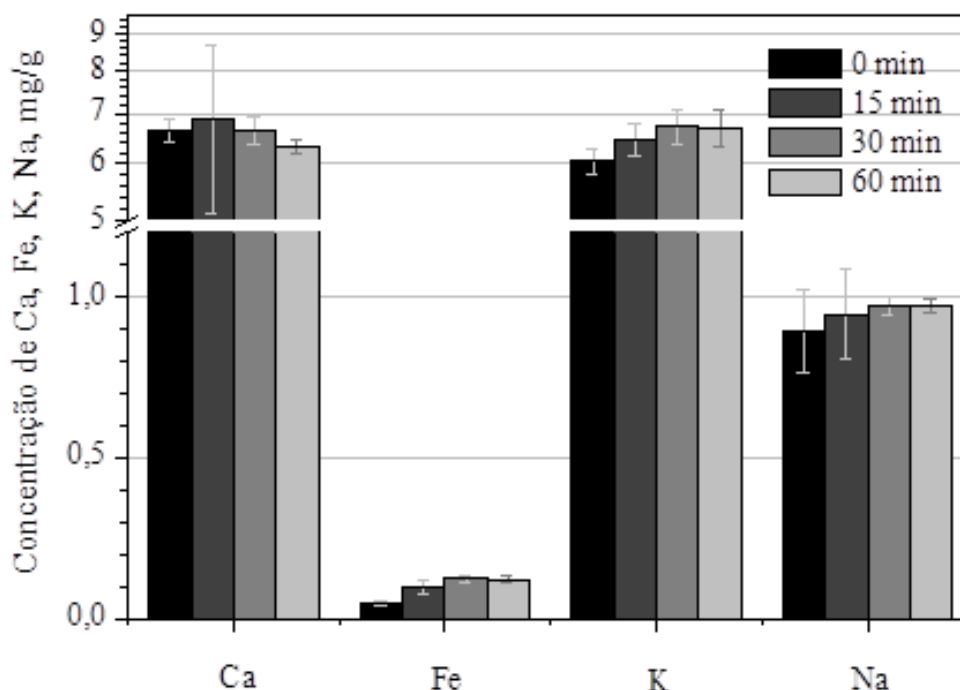


Figura 2. - Influência do tempo ação do ultrassom sob a concentração de Ca, Fe, K e Na em achocolatado em pó. Solução extratora de HNO_3 50% v/v, e temperatura de 50 ± 5 °C. (média \pm intervalo de confiança 95%).

Os resultados obtidos para o tempo de extração mostram que para Ca, K e Na a extração ocorre mesmo sem a ação do ultrassom, entretanto percebe-se que conforme o tempo de extração aumenta a concentração média obtida para K e Na é maior. Para o Fe é possível observar que a variação do tempo de extração teve influência significativa, já que sem ação do ultrassom a concentração obtida para o Fe foi relativamente baixa. Os resultados demonstraram que para todos os analitos é possível obter uma extração efetiva a partir de 15 min de extração. Entretanto,

considerando a concentração média obtida para todos os elementos, os valores foram maiores para os tempos de 30 e 60 minutos, assim o tempo de 30 minutos foi selecionado como condição de compromisso para todas as extrações seguintes.

3.2 Parâmetros de mérito

Os parâmetros de mérito limite de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ) e desvio padrão relativo (RSD) foram obtidos para o método proposto. Os LOD e LOQ para o Fe foram definidos, respectivamente como $3s/b$ e $10s/b$, sendo s o desvio padrão correspondente a 10 leituras do branco da amostra, e b o valor da inclinação da curva de calibração. Os valores de LOD e LOQ obtidos foram de $0,02 \text{ mg g}^{-1}$ e $0,06 \text{ mg g}^{-1}$ respectivamente, sendo estes adequados para o método proposto. Para os metais determinados no fotômetro de chama Ca, K e Na, os LODs e LOQs foram estimados baseando-se na menor concentração detectada pelo equipamento, já que a calibração deste equipamento só pode ser realizada automaticamente, através da leitura de uma solução padrão dos analitos. Assim os valores obtidos para o LOD e LOQ foram respectivamente $0,1 \text{ mg g}^{-1}$ e $0,4 \text{ mg g}^{-1}$ para Ca, K e Na, sendo estes adequados para o método proposto para determinação destes elementos em amostras de achocolatado em pó.

A precisão do método foi avaliada em função do (RSD), sendo que os valores obtidos foram 1%, 7%, 3% e 13% para Ca, Fe, K e Na respectivamente, demonstrando a boa precisão na maioria das amostras do método proposto se considerarmos um limite de 10% uma precisão boa. Estes valores são comparáveis aos RSDs obtidos por BARROS et al, 2013, na otimização multivariada de um procedimento de extração assistida por ultrassom para determinação Cu, Mn, Ni e Zn em ração para frangos.

3.3 Verificação da exatidão

Para verificação da exatidão os valores obtidos pelo método proposto, utilizando

extração assistida por ultrassom, foram comparados com os valores obtidos através da digestão ácida por via úmida, que é um procedimento frequentemente utilizado para o preparo de amostras de alimentos visando a determinação de metais. Para verificar a exatidão do método foram analisadas 3 amostras de achocolatado em pó de diferentes marcas e os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Concentração de Ca, Fe, K e Na nas amostras de achocolatado em pó obtidas por extração assistida por ultrassom e digestão ácida por via úmida. (média \pm intervalo de confiança 95%).

	Ca	Fe	K	Na
Amostra	Extração assistida por ultrassom mg g ⁻¹			
A	7,1 \pm 1,8	0,09 \pm 0,02	5,7 \pm 1,3	0,8 \pm 0,1
B	<0,4	<0,06	3,9 \pm 0,3	1,0 \pm 0,4
C	<0,4	<0,06	2,9 \pm 0,7	1,2 \pm 0,4
Amostra	Digestão ácida mg g ⁻¹			
A	7,4 \pm 0,1	0,10 \pm 0,06	6,0 \pm 0,2	0,9 \pm 0,1
B	<0,4	<0,06	4,3 \pm 0,3	0,8 \pm 0,2
C	<0,4	<0,06	3,7 \pm 0,2	1,2 \pm 0,1

A um nível de significância de 1% utilizando um teste T para identificar a diferença entre as médias, verificou-se que em todas as amostras as médias não diferem estatisticamente, aceitando então a alegação de que as médias do método da digestão ácida por via úmida são equivalentes as do método da extração assistida por ultrassom, demonstrando a exatidão do método proposto.

3.4 Aplicação analítica

O método proposto foi aplicado para a determinação da concentração de Ca, Fe, K e Na em 10 amostras de achocolatado em pó obtidas no comércio local da cidade de Ponta Grossa-PR, e os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 - Concentração (mg g^{-1}) de Ca, Fe, K e Na em amostras de achocolatado em pó de diferentes marcas após extração assistida por ultrassom, (média \pm intervalo de confiança 95%).

Amostra	Ca	Fe	K	Na
	Concentração (mg g^{-1})			
A	$7,1 \pm 1,8$	$0,09 \pm 0,02$	$5,7 \pm 1,3$	$0,8 \pm 0,1$
B	<0,4	<0,06	$3,9 \pm 0,3$	$1,0 \pm 0,4$
C	<0,4	<0,06	$2,9 \pm 0,7$	$1,2 \pm 0,4$
D	<0,4	<0,06	$3,3 \pm 0,3$	$2,0 \pm 0,2$
E	<0,4	$0,08 \pm 0,02$	$4,8 \pm 1,0$	$1,3 \pm 0,2$
F	<0,4	<0,06	$3,0 \pm 0,2$	<0,4
G	<0,4	<0,06	$3,6 \pm 0,1$	$0,6 \pm 0,1$
H	<0,4	$0,08 \pm 0,01$	$3,5 \pm 0,3$	$1,2 \pm 0,3$
I	<0,4	$0,13 \pm 0,01$	$3,2 \pm 0,3$	$1,1 \pm 0,5$
J	<0,4	$0,13 \pm 0,02$	$2,6 \pm 0,2$	$2,8 \pm 0,9$

Os resultados obtidos para as amostras analisadas foram posteriormente comparados com a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO) e com os valores informados nos rótulos das embalagens.

Podemos observar na Figura 3 a comparação dos resultados obtidos com os valores de concentrações especificados na Tabela TACO, os valores estão apresentados de maneira que seja possível identificar a proporção (%) de cada elemento, podendo estar de acordo ou não com os valores estipulados pela Tabela TACO, considerando os valores médios e seus intervalos de confiança.

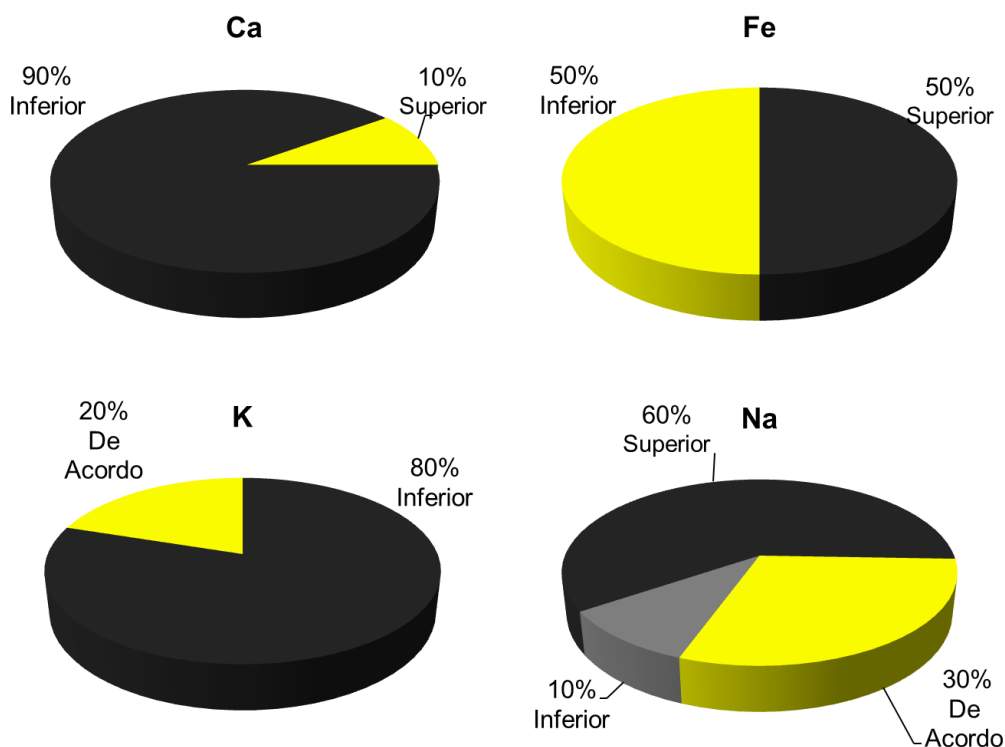


Figura 3. - Comparação das concentrações obtidas para Ca, Fe, K e Na em amostras de achocolatado em pó com os valores especificados na tabela TACO. Considerados os valores médios obtidos.

Observou-se que, dos elementos analisados, poucas as amostras apresentaram concentrações de acordo com os valores estipulados com a tabela TACO. Para Ca, nenhuma das amostras apresentou valores de concentração de acordo com a TACO. Das amostras analisadas, 90 % apresentaram valores de concentração inferior ao estabelecido, enquanto os outros 10 % das amostras apresentaram valores acima do especificado na TACO. A concentração de Fe apresentou valores inferiores em metade das amostras analisadas, também, nenhuma das amostras esteve de acordo com o estabelecido. Em 20% das amostras de K seus valores estiveram de acordo com o estabelecido, contudo na sua grande maioria a concentração desse mineral apresentou-se abaixo do especificado. Os valores de Na foram elevados na maioria das amostras, sendo apenas 30% de acordo com os valores estipulados pela TACO.

A comparação dos resultados obtidos para as diferentes marcas de achocolatado em pó com os valores informados nos rótulos estão apresentados na Figura 4.

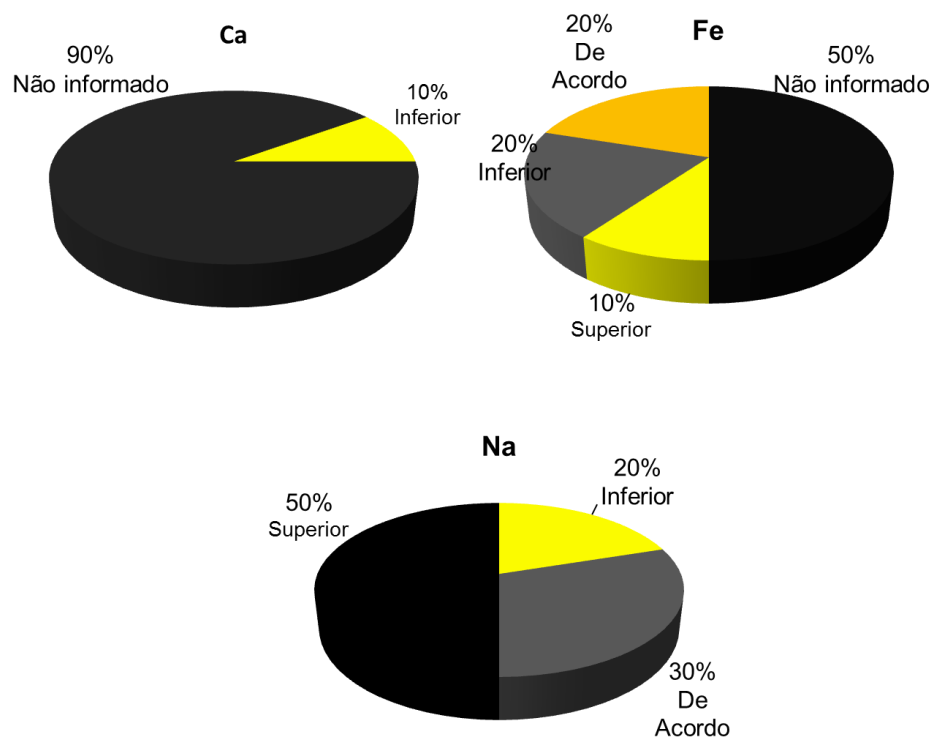


Figura 4. - Comparação das concentrações obtidas para Ca, Fe e Na em amostras de achocolatado em pó com os valores informados nos rótulos das embalagens. Considerados os valores médios obtidos.

Os valores de Ca não estavam informados na grande maioria das amostras analisadas, assim como os valores de K que não estavam informadas em nenhuma das amostras analisadas. Isto por que de acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2005), apenas valores de minerais (com exceção de sódio) acima de 5% da ingestão diária recomendada devem ser especificados em rótulo. Das amostras analisadas apenas uma pequena proporção apresentou valores concordantes para Fe e Na, indicando possíveis falhas no processo de análise laboratorial empregados pelas indústrias para o controle de qualidade e/ou uma heterogeneidade das amostras.

4 CONCLUSÃO

O método proposto para determinação de Ca, Fe, K e Na em amostras de achocolatado em pó, utilizando a extração assistida por ultrassom mostrou ser simples, preciso e de baixo custo. Além disso, uma das principais vantagens do método é o tempo reduzido de análise, resultado da simplicidade e eficiência do procedimento experimental envolvido para o tratamento da amostra e determinação dos analitos.

As diferentes marcas de achocolatado em pó analisadas apresentaram diferenças quanto aos constituintes de sua formulação, uma vez que principalmente as concentrações de K e Na apresentaram valores distintos. Ainda podemos destacar que a maioria das amostras analisadas a concentração de Na obtida foi acima do especificado na TACO e do informado no rótulo do produto. Assim, o controle de qualidade adequado e que apresente resultados precisos quanto à concentração de minerais é de extrema importância já que muitas dietas são elaboradas com base nos valores informados nos rótulos dos produtos.

REFERÊNCIAS

BARROS, Joelia M. et al. **Multivariate optimization of an ultrasound-assisted extraction procedure for Cu, Mn, Ni and Zn determination in ration to chickens.**

An. Acad. Bras. Ciênc., Rio de Janeiro, v.85, n.3, p.891-902, 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 360, de 23 de dezembro de 2003. Regulamento Técnico sobre rotulagem nutricional de alimentos embalados. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 26 dez. 2003. Disponível em:

http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/ec3966804ac02cf1962abfa337abae9d/Rsolucao_RDC_n_360de_23_de_dezembro_de_2003.pdf?MOD=AJPERES. Acesso em: 02 setembro 2014.

CASTANHEIRA, Isabel. *et al.* **Sampling of bread for added sodium as determined by flame photometry.** Food Chemistry, London, v.113, n.2, p.621-628, 2009.

CAVALHEIRO, C. V. **Extração de compostos fenólicos assistida por ultrassom e determinação de ácidos graxos e minerais em folhas de *Olea europaea* L.** 2013. 93f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2013.

COZZOLINO, S. M. F. **Deficiências de minerais.** Estudos Avançados, São Paulo, v.21, n.60, p.119-126, 2007.

Documento de referência para guias de boas práticas nutricionais. In: Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Disponível em:

<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/28fe0e0049af6b5b96e1b66dcbd9c63c/2DocumentobaseparaGuiasdeBoasPraticasNutricionais2.pdf?MOD=AJPERES>.

Acesso em: 14 nov. 2013

EDUARDO, Mércia F.; LANNES, Suzana. C. S. **Achocolatados: análise química.** Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, São Paulo, v.40, n.3, p.405-412, 2004.

FONTES, Bruna. *et al.* **Análise do mercado consumidor brasileiro de achocolatados baseada em pesquisa de campo e estratégias de Marketing.** Rio's International Journal on Sciences of Industrial and Systems Engineering and Management, 2007. Disponível em: <http://www.rij.eng.uerj.br/research/2008/rm081-01.pdf>. Acesso em: 9 nov. 2013

FONTES, Bruna *et al.* **Análise do Mercado Consumidor Brasileiro de Achocolatados Baseada em Pesquisa de Campo e Estratégias de Marketing.** Rio's International Journal on Sciences of Industrial and Systems Engineering and Management, Rio de Janeiro, v. 2, 2008. Disponível em: <http://www.rij.eng.uerj.br/research/2008/rm081-01.pdf>. Acesso em: 09 nov. 2013.

LETERME, Pascal. *et al.* **Mineral Content of Tropical Fruits and Unconventional Foods.** Food Chemistry, London, v.95, n.4, p.644-652, 2006.

LIMA, Alexandre F.; RICHTER, Eduardo M.; MUNOZ, Rodrigo A. A. **Alternative Analytical Method for Metal Determination in Inorganic Fertilizers Based on Ultrasound-Assisted Extraction.** J. Braz. Chem. Soc, online, v.22, n.8, p.1519-1524, 2011.

LOBO, A. S.; TRAMONTE, V. L. C. **Efeitos da suplementação e da fortificação de alimentos sobre a biodisponibilidade de minerais.** Revista de Nutrição, Campinas, v.1, n.17, p.107-113, 2004.

LUZ, Luiza P. **Estudo do ultra-som como técnica de extração de carvões e caracterização dos hidrocarbonetos poliaromáticos**. 1998. 98f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, 1998.

MORAES, P. M. *et al.* **Determinação de fósforo biodisponível em rações de peixes utilizando extração assistida por ultra-som e espectrofotometria no visível**. Química Nova, São Paulo, v.32, n.4, p.923-927, 2009.

MORGANO, Marcelo A.; QUEIROZ, Sônia C. N.; FERREIRA, Márcia M. C. **Determinação dos teores de minerais em sucos de frutas por espectrometria de emissão óptica em plasma indutivamente acoplado (ICP-OES)**. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v.19, n.3, p.344-348, 1999.

MEDEIROS, M. L.; LANNES, S. C. S. **Avaliação química de substitutos de cacau e estudo sensorial de achocolatados formulados**. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v.29, n.2, p.247-253, 2009.

MATUSIEWICZ, Henryk.; ŚLACHCIŃSKI, Mariusz. **Development of a one-step microwave-assisted subcritical water extraction for simultaneous determination of inorganic elements (Ba, Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, Na, Pb, Sr, Zn) in reference materials by microwave induced plasma spectrometry**. Microchemical Journal, New York, v.115, p.6-10, 2014.

NILSON, Eduardo A. F.; JAIME, Patrícia C.; RESENDE, Denise O. **Iniciativas desenvolvidas no Brasil para a redução do teor de sódio em alimentos processados**. Rev Panam Salud Publica, online, v.32, n.4, p.287-292, 2012.

PETERS, B. S. E.; MARTINI, L. A. **Nutritional aspects of the prevention and treatment of osteoporosis**. Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia, São Paulo, v.54, n.2, p.179-185, 2010.

Rotulagem Nutricional Obrigatória. Manual de Orientação às Indústrias de Alimentos. In: Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). 2005. Disponível em:

http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/5f53be80474583c58ee8de3fbc4c6735/manual_industria.pdf?MOD=AJPERES. Acesso em 13 mar. 2014

SARNO, Flávio *et al.* **Estimativa de consumo de sódio pela população brasileira, 2008-2009**. Revista de Saúde Pública, São Paulo, v.47, n.3, p.571-578, 2013.

SAIDELLES, Ana. P. F. *et al.* **Análise de metais em amostras comerciais de erva-mate do sul do brasil**. Alimentos e Nutrição, Araraquara, v.21, n.2, p.259-265, 2010.

TANASE, C. M. *et al.* **Sodium and potassium in composite food samples from the Canadian Total Diet Study**. Journal of Food Composition and Analysis, USA, v.24, n.2, p.237-243, 2011.

TUPINANBÁ, Daiva. D. *et al.* **Conteúdo mineral e rendimento de polpa de híbridos comerciais de maracujá-amarelo**. Brazilian Journal of Food Technology, Campinas, v.15, n.1, p.15-20, 2012.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS - UNICAMP. Tabela Brasileira de Composição de Alimentos - TACO. Disponível em:

http://www.unicamp.br/nepa/taco/contar/taco_4_edicao_ampliada_e_revisada.pdf?arquivo=taco_4_versao_ampliada_e_revisada.pdf. Acesso em: 10 jun. 2013.

Utilização da extração assistida por ultra-som na determinação da disponibilidade de nutrientes inorgânicos em rações utilizadas na dieta de juvenis de Tilápia do Nilo. Disponível em:

<http://www.bv.fapesp.br/pt/bolsas/60621/utilizacao-da-extracao-assistida-por-ultra-som-na-determinacao-da-disponibilidade-de-nutrientes-inor/>. Acesso em: 9 nov. 2013.

ANEXOS

Extração assistida por ultrassom para determinação de Fe, K e Na em amostras de achocolatado em pó

Ultrasound-assisted extraction from chocolate powder samples for the determination of Fe, K and Na

Autores | Authors

Bruno Luís FERREIRA

Universidade Tecnológica Federal do
 Paraná (UTFPR)
 Departamento de Alimentos
 Ponta Grossa/PR – Brasil
 e-mail: f.bruno@outlook.com

✉ **Eduardo Sidinei CHAVES**

Universidade Tecnológica Federal do
 Paraná (UTFPR)
 Departamento de Engenharia Química
 Av. Monteiro Lobato, km 04
 CEP: 84016-210
 Ponta Grossa/PR – Brasil
 e-mail: eschaves@hotmail.com

José VIALICH

Universidade Tecnológica Federal do
 Paraná (UTFPR)
 Ponta Grossa/PR – Brasil
 e-mail: josevialich@gmail.com

Elenise SAUER

Universidade Tecnológica Federal do
 Paraná (UTFPR)
 Departamento de Engenharia Química
 Ponta Grossa/PR – Brasil
 e-mail: sauer@utfpr.edu.br

✉ *Autbr Correspondence* | *Corresponding Author*

Recebido: Abr. 23, 2014
 Aprovado: Nov. 03, 2014

■ Resumo

Nos últimos anos o consumo de achocolatados tem aumentado, principalmente pelo público infantil. Dessa maneira o controle de qualidade do produto em relação a sua composição, principalmente quanto à concentração dos minerais, torna-se importante para facilitar a escolha do produto pelo consumidor. Um método simples e rápido para a determinação de Fe, K e Na em amostras de achocolatado utilizando extração assistida por ultrassom foi proposto. As análises foram realizadas por fotometria de chama e espectrometria de absorção atômica com atomização em chama (FAAS). O método proposto mostrou-se simples, rápido e preciso, apresentando limites de detecção (LOD) para o método de 10 mg.100g⁻¹ para K e Na e 0,2 mg.100g⁻¹ para Fe, e valores de RSD menores que 13%. Foram analisadas 10 amostras de achocolatado em pó de diferentes marcas e as concentrações obtidas comparadas aos valores estabelecidos pela Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO) e aos valores informados nos rótulos dos produtos. Os resultados obtidos, para a maioria das amostras, não estavam de acordo com os valores estabelecidos na tabela TACO e com os valores informados nos rótulos.

Palavras-chave: *Minerais; Achocolatado; Extração assistida por ultrassom.*

■ Summary

In recent years the consumption of chocolate powder has been increasing, mainly by kids, and for this reason quality control of the product in relation to its composition, especially regarding the mineral concentrations, is important to facilitate the choice of product by the consumers. A simple and quick method for the determination of Fe, K and Na in chocolate powder samples using ultrasound assisted extraction was proposed. The measurements were carried out using photometric detection and atomic absorption spectrophotometry with flame atomization (FAAS). The method was shown to be simple and accurate, with detection limits (LOD) of 10 mg.100g⁻¹ for K and Na and 0,2 mg.100g⁻¹ for Fe, and RSD values below 13%. To check the efficiency of the method, the results were compared with acid digestion. Ten chocolate powder samples of different brands were analyzed, and the concentrations obtained compared with those found in the Brazilian Table of Food Composition (TACO) and also with the values informed on the product labels. For the majority of samples the results obtained were not in accordance with the values established by the TACO tables or with those printed on the labels.

Key words: *Minerals; Chocolate powder; Extraction; Ultrasound.*

Extração assistida por ultrassom para determinação de Fe, K e Na em amostras de achocolatado em pó

FERREIRA, B. L. et al.

1 Introdução

Os minerais são compostos inorgânicos ingeridos principalmente através da alimentação e desempenham importantes funções metabólicas no organismo. Além disso, a deficiência ou o excesso de alguns minerais no organismo humano estão associados a várias doenças (LOBO e TRAMONTE, 2004). Dentre as principais doenças podemos destacar as cardiovasculares, renais e a hipertensão, relacionadas ao excesso de sódio (Na) (NILSON et al. 2012; SARNO et al. 2013), e a anemia relacionada à deficiência de ferro (Fe). Além disso, o potássio (K) é de suma importância para manter o equilíbrio da pressão sanguínea, principalmente devido ao elevado consumo diário de Na por grande parte da população (TANASE et al., 2011; COZZOLINO, 2007; PETERS e MARTINI, 2010). A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), através da Resolução RDC nº 360, de 23 de dezembro de 2003 (BRASIL, 2003), estabelece os valores de referência para ingestão diária de alguns nutrientes minerais, dentre estes Na e Fe, os quais apresentam limites estabelecidos de 2.400 mg e 14 mg respectivamente. Entretanto, enquanto grande parte da população ingere quantidades elevadas de Na, a ingestão diária de Fe ainda é inferior ao recomendado.

O monitoramento da concentração desses e outros minerais em alimentos, principalmente nos industrializados como achocolatados, é de grande importância. Isso em consequência da ampla disponibilidade de marcas desse produto no mercado, aliada à tendência mundial em busca de uma alimentação balanceada (EDUARDO e LANNES, 2004; FONTES et al., 2008). O achocolatado em pó é um produto açucarado consumido por pessoas de todas as idades, em especial crianças, composto basicamente por sacarose, cacau em pó (MEDEIROS, 2006 apud MEDEIROS e LANNES, 2009) e suplementos como as vitaminas e minerais, principalmente o Fe.

A determinação de minerais em alimentos é amplamente realizada em diversos laboratórios de análise, utilizando diferentes procedimentos de preparo de amostras e diferentes técnicas analíticas. Dentre as técnicas mais amplamente utilizadas para a determinação desses minerais está a espectrometria de emissão atômica (CASTANHEIRA et al., 2009), espectrometria de absorção atômica (MATUSIEWICZ e ŚLACHCIŃSKI, 2014), espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (TUPINANBÁ et al., 2012) e espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (SAIDELLES et al., 2010). Atualmente, muitos dos métodos propostos para a determinação de minerais em alimentos ainda utilizam procedimentos de preparo de amostras convencionais, como a calcinação (LETERME et al., 2006), a digestão ácida por via úmida em frasco aberto (TUPINANBÁ et al., 2012) e a digestão ácida por via úmida assistida por

micro-ondas (MORGANO et al., 1999). Entretanto, esses procedimentos são laboriosos, normalmente exigem a utilização de reagentes concentrados e/ou temperatura e pressão elevadas, aumentando assim as possíveis contaminações bem como os riscos de acidentes (CAVECCI et al., 2008; MORAES et al., 2009). Além disso, no caso da digestão assistida por micro-ondas, deve-se considerar o custo relativamente elevado do forno de micro-ondas utilizado para esse processo. Nesse sentido, o desenvolvimento de metodologias simples, utilizando técnicas acessíveis de análise tais como a fotometria de chama e FAAS, é muito importante. Assim, procedimentos de preparo de amostras simples, rápidos, eficientes e com custos reduzidos têm sido cada vez mais utilizados para a determinação de minerais em diversas amostras. Dentre esses procedimentos, destaca-se a extração assistida por ultrassom (BARROS et al., 2013). Na extração assistida por ultrassom, o processo de extração baseia-se na ação de ondas mecânicas de baixa frequência, as quais são responsáveis pela formação e colapso de microbolhas ocasionando áreas pontuais de alta pressão e temperatura na solução (LUZ, 1998). A ação do ultrassom facilita a extração dos elementos, a sedimentação do material particulado em suspensão e promove a quebra de células vegetais. Além disso, extração assistida por ultrassom é de simples operação e eficiente para extração de elementos em amostras de alimentos, não necessitando de longos períodos para o preparo das amostras nem da utilização de altas temperaturas e pressão elevada (CAVALHEIRO, 2013).

Assim, os objetivos deste trabalho foram o desenvolvimento de uma metodologia para determinação de Fe, K e Na em amostras de achocolatado em pó por fotometria de chama e espectrometria de absorção atômica com atomização em chama (FAAS), utilizando a extração assistida por ultrassom para o preparo das amostras e a aplicação do método para a determinação desses elementos em diferentes marcas de achocolatado em pó. Posteriormente, realizar a comparação dos resultados obtidos com os valores nutricionais informados na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos – TACO (UNICAMP, 2011) e com os valores apresentados nos rótulos dos produtos.

2 Materiais e métodos**2.1 Reagentes, soluções e amostras**

Todos os reagentes utilizados nos experimentos foram de grau analítico. As soluções foram preparadas em vidrarias previamente descontaminadas em banho de ácido nítrico (HNO₃) 10% v.v⁻¹ por 12 horas, utilizando para limpeza água ultrapura com resistividade de 18 MWcm⁻¹ (Master System MS 2000, GEHAKA). Para a extração foram utilizadas soluções de HNO₃ 65% supra puro

Extração assistida por ultrassom para determinação de Fe, K e Na em amostras de achocolatado em pó

FERREIRA, B. L. et al.

(Merck) e ácido clorídrico (HCl) PA (Alphatec), para a digestão ácida por via úmida foram utilizados HNO₃ 65% (Merck) e peróxido de hidrogênio 30% supra puro (Vetec). As amostras de achocolatado em pó foram adquiridas no comércio local do município de Ponta Grossa-PR, abertas e transferidas em sua totalidade para recipientes hermeticamente fechados, e posteriormente analisadas. Dez amostras de achocolatado em pó de diferentes marcas e de lotes únicos foram analisadas.

2.2 Instrumentação

As amostras foram pesadas em balança analítica modelo Mark 205 A (BEL Engineering) e as determinações dos teores de umidade das amostras foram realizadas conforme método 12/IV do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2005) em estufa com circulação e renovação de ar modelo SL 102 (SOLAB). As extrações dos minerais foram realizadas em banho ultrassônico modelo USC-1400A (UNIQUE) e posteriormente as soluções obtidas centrifugadas utilizando centrífuga Excelsa Baby II 206-R (FANEM). Para a verificação da exatidão, as amostras foram digeridas em bloco digestor modelo SL 25/40 (SOLAB). As concentrações de K e Na foram determinadas em fotômetro de chama modelo 610 MS (Analyser) e as concentrações de Fe foram determinadas em espectrofotômetro de absorção atômica com atomização em chama (FAAS) AA-6200 (SHIMADZU), utilizando chama ar-acetileno, as leituras foram realizadas no comprimento de onda de 248,3 nm, com fenda espectral de 0,2 nm.

2.3 Procedimento para a digestão por via úmida

Para a digestão das amostras, alíquotas de aproximadamente 0,5 g de achocolatado em pó foram diretamente transferidas para tubos de Kjeldahl, em seguida 3,0 mL de HNO₃ 65% v.v⁻¹ e 2,0 mL de H₂O₂ 30% v.v⁻¹ foram adicionados. Posteriormente, as amostras foram aquecidas em bloco digestor à temperatura de 80°C por 30 minutos, na sequência a temperatura foi elevada a 150 °C e mantida por mais 90 minutos. Após a digestão as soluções resultantes foram filtradas e avolumadas para 50 mL em tubos de polipropileno com água ultrapura e posteriormente analisadas. As determinações de K e Na foram realizadas por fotometria de chama, o qual permite apenas a calibração direta utilizando um único padrão de calibração, sendo esta realizada com solução padrão de 100 mg L⁻¹ de cada um dos analitos. As determinações de Fe foram realizadas por FAAS, a curva de calibração foi obtida a partir de padrões de Fe com concentrações entre 0,5 e 5,0 mg L⁻¹. As análises foram realizadas em triplicata e os resultados corrigidos, considerando os valores de umidade das amostras, e expressos em base seca como média ± desvio padrão. O branco, contendo todos os reagentes exceto a amostra, foi analisado paralelamente a

fim de identificar possíveis contaminações nos reagentes e/ou procedimento.

2.4 Procedimento para extração assistida por ultrassom

Alíquotas de aproximadamente 0,2 g de achocolatado em pó foram diretamente pesadas em tubos de ensaio, adicionado 3,0 mL de solução extratora (HNO₃ 50% v.v⁻¹) e submetidas ao ultrassom por 30 minutos em temperatura de 50 ± 5 °C. Após a extração dos elementos, as soluções resultantes foram avolumadas para 5,0 mL e posteriormente centrifugadas a 4000 rpm por 15 minutos e 5000 rpm por mais 5 minutos. Alíquotas de 2,0 mL do sobrenadante de cada solução foram transferidas para tubos de polipropileno e avolumadas com água ultrapura até o volume final de 10 mL. Para as determinações os equipamentos foram calibrados como descrito no item 2.3. As análises foram realizadas em triplicata e os resultados corrigidos, considerando os valores de umidade das amostras, e expressos em base seca como média ± desvio padrão. O branco foi analisado paralelamente.

3 Resultados e discussões**3.1 Otimização da extração**

Para otimização do procedimento de extração foi avaliada a influência do tipo e concentração do ácido extrator, do tempo e da temperatura de extração sobre a concentração dos elementos em uma amostra de achocolatado em pó. Soluções de ácido nítrico e de HCl, ambos na concentração de 50% v.v⁻¹ foram avaliadas como soluções extratoras, avaliou-se também as temperaturas de extração ambiente (25 ± 3 °C) e sob aquecimento a 50 ± 5 °C, o tempo de ação do ultrassom foi fixado em 30 minutos. Os resultados demonstraram que a utilização do HNO₃ com aquecimento a 50 ± 5 °C, proporcionou uma maior eficiência na extração dos analitos, uma vez que nessas condições foram obtidas concentrações médias de Na e K relativamente superiores, se comparada a extração sem aquecimento e com uso de HCl. Além disso, os resultados obtidos com a extração com HNO₃ e aquecimento a 50 ± 5 °C apresentam menor desvio padrão. No trabalho realizado por Lima et al. (2011), os quais desenvolveram um método alternativo para determinação de metais em amostras de fertilizantes usando extração assistida por ultrassom, os autores também avaliaram o efeito do HNO₃ e HCl como extrator e observaram que a utilização de HNO₃ resultou numa melhora na extração dos metais das amostras de fertilizantes. Segundo Moraes et al. (2009), a uma temperatura de 50 °C a formação de núcleos de cavitação é favorecida, e consequentemente a eficiência de extração. Assim utilizou-se como condição

Extração assistida por ultrassom para determinação de Fe, K e Na em amostras de achocolatado empó

FERREIRA, B. L. et al.

de compromisso para as demais análises o HNO_3 como extrator e aquecimento a 50 ± 5 °C para extração em ultrassom.

A concentração do ácido extrator foi otimizada através da avaliação do efeito de soluções extratoras com concentrações de HNO_3 entre 0 e 100% v.v⁻¹ sobre a extração de Fe, K e Na em achocolatado em pó. Os resultados obtidos são apresentados na Figura 1.

A ausência de ácido (0%) na solução não proporcionou uma extração efetiva para a maioria dos elementos analisados. Entretanto, as soluções extratoras com concentrações de HNO_3 entre 25 e 75% v.v⁻¹ proporcionaram uma melhora na extração dos analitos, verificada através do aumento da concentração obtida para todos os elementos na amostra. E a utilização de HNO_3 concentrado (100% v.v⁻¹) como extrator resultou na supressão do sinal analítico devido ao elevado teor ácido na solução, evidenciado pela redução da concentração dos elementos. Isso porque altas concentrações de ácido podem ter alterado as propriedades físico-químicas da solução da amostra ocasionando interferências. Contudo, analisando as concentrações obtidas com soluções de 50% e 75% v.v⁻¹ observa-se que, considerando o desvio padrão das medidas, praticamente não há diferença entre as concentrações. Esse fato está de acordo com Lima et al. (2011), os quais também observaram que a utilização de ácido nítrico em concentrações acima de 50% v.v⁻¹ não resultou no aumento significativo na extração dos metais analisados. Assim, para as demais determinações foi utilizado como solução extratora o HNO_3 na concentração de 50% v.v⁻¹.

O tempo de extração, ou seja, tempo em que a amostra foi submetida à ação do ultrassom, é outro parâmetro fundamental que deve ser otimizado, nesse caso a eficiência de extração dos analitos foi avaliada sem ação do ultrassom (0 min), e com tempos de 15, 30 e 60 minutos de ação do ultrassom. A Figura 2 apresenta o efeito do tempo de extração sob a concentração dos elementos analisados.

Os resultados obtidos para o tempo de extração mostram que uma fração de Fe, K e Na pode ser extraída mesmo sem a ação do ultrassom, entretanto percebe-se que conforme o tempo de extração aumenta, a concentração média obtida para K e Na é maior. Para o Fe observou-se que a variação do tempo de extração teve influência mais pronunciada, já que sem ação do ultrassom a concentração obtida para o Fe foi relativamente baixa. Os resultados demonstraram que para todos os analitos é possível obter uma extração efetiva a partir de 15 minutos de ação do ultrassom. Entretanto, considerando a concentração média obtida para maioria dos elementos, os tempos de 30 e 60 minutos proporcionaram concentrações médias maiores, assim o

tempo de 30 minutos foi selecionado como condição de compromisso para todas as extrações seguintes.

3.2 Parâmetros de mérito

Os parâmetros de mérito limite de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ) e desvio padrão relativo (RSD) foram obtidos para o método proposto. Os valores de LOD e LOQ do método foram obtidos considerando todas as etapas envolvidas no método proposto e expressos na mesma unidade de concentração dos analitos nas amostras, conforme descrito por Manutsewe et al. (2007). Para as análises de Fe os valores LOD e LOQ obtidos foram 0,2 mg.100g⁻¹ e 0,6 mg.100g⁻¹ respectivamente. Para K e Na os valores obtidos para o LOD e o LOQ foram respectivamente 10 mg.100g⁻¹ e 40 mg.100g⁻¹, sendo estes adequados

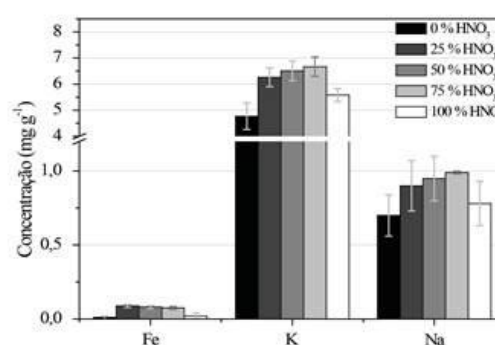


Figura 1. Influência da concentração de ácido extrator sob a concentração de Fe, K e Na em achocolatado empó. Tempo de extração de 30 minutos e temperatura de extração 50 ± 5 °C. Resultados expressos como média \pm desvio padrão.

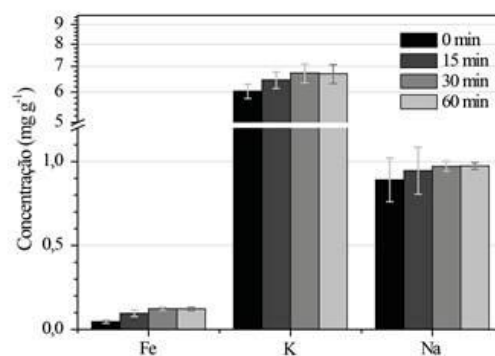


Figura 2. Influência do tempo de extração sob a concentração de Fe, K e Na em achocolatado empó. Solução extratora de HNO_3 50% v.v⁻¹ e temperatura de extração 50 ± 5 °C. Resultados expressos como média \pm desvio padrão.

Extração assistida por ultrassom para determinação de Fe, K e Na em amostras de achocolatado em pó

FERREIRA, B. L. et al.

para análise desses elementos em amostras de achocolatado em pó. A precisão foi avaliada em função do RSD, sendo que os valores obtidos foram 7%, 3% e 13% para Fe, K e Na respectivamente. A precisão obtida através do método proposto é comparável à precisão obtida por Barros et al. (2013), na otimização multivariada de um procedimento de extração assistida por ultrassom para determinação Cu, Mn, Ni e Zn em frangos, demonstrando a boa precisão do método. Assim, o método proposto apresentou parâmetros de méritos adequados para a determinação da concentração de Fe, K e Na em amostras de achocolatado em pó.

3.3 Verificação da exatidão

A verificação da exatidão do método proposto, utilizando extração assistida por ultrassom, foi realizada através da comparação dos resultados obtidos com as concentrações dos elementos obtidas utilizando a digestão ácida por via úmida, procedimento frequentemente utilizado para o preparo de amostras de alimentos para análise de metais. A comparação dos resultados obtidos utilizando extração assistida por ultrassom e por digestão ácida por via úmida, para três amostras de achocolatado em pó de diferentes marcas, está apresentada na Tabela 1.

Considerando um nível de significância de 1%, utilizando o teste para comparação de duas médias experimentais, verificou-se que em todas as amostras as médias não diferem estatisticamente, aceitando então a hipótese de que as médias dos resultados obtidos por digestão ácida por via úmida são equivalentes às obtidas através da extração assistida por ultrassom, demonstrando a exatidão do método proposto.

3.4 Aplicação analítica

O método proposto foi aplicado para a determinação da concentração de Fe, K e Na em 10 amostras de achocolatado em pó, de lotes únicos, obtidas no comércio local do município de Ponta Grossa-PR, e os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 2.

Considerando as amostras analisadas, apenas a amostra A permitiu a quantificação de todos os elementos. Além disso, somente o K estava presente em concentrações quantificáveis nas 10 amostras analisadas. Em muitas das amostras analisadas a determinação da concentração de Fe não foi possível, pois as concentrações estavam abaixo do LOQ estabelecido para o método.

Os resultados obtidos para as amostras analisadas foram posteriormente comparados com a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos – TACO (UNICAMP, 2011) e com os valores informados nos rótulos das embalagens (Tabela 3). Na Tabela 3 os dados expressos

Tabela 1. Concentração de Fe, K e Na em amostras de achocolatado em pó obtidas por extração assistida por ultrassom e digestão ácida por via úmida.

Amostra	Extração assistida por ultrassom mg.100g ⁻¹		
	Fe	K	Na
A	9 ± 1	570 ± 52	80 ± 1
B	< LOQ	390 ± 12	100 ± 16
C	< LOQ	290 ± 28	120 ± 16

Amostra	Digestão ácida mg/100g		
	Fe	K	Na
A	10 ± 1	600 ± 8	90 ± 4
B	< LOQ	430 ± 12	80 ± 8
C	< LOQ	370 ± 8	120 ± 4

K e Na, LOQ = 40 mg.100g⁻¹; Fe, LOQ = 0,6 mg.100g⁻¹; média ± desvio padrão.

Tabela 2. Concentração de Fe, K e Na em amostras de achocolatado em pó de diferentes marcas após extração assistida por ultrassom.

Amostra	Concentração (mg.100g ⁻¹)		Na
	Fe	K	
A	9 ± 1	570 ± 52	80 ± 4
B	< LOQ	390 ± 12	100 ± 16
C	< LOQ	290 ± 28	120 ± 16
D	< LOQ	330 ± 12	200 ± 8
E	8 ± 1	480 ± 40	130 ± 8
F	< LOQ	300 ± 8	< LOQ
G	< LOQ	360 ± 40	60 ± 4
H	8 ± 1	350 ± 12	120 ± 12
I	13 ± 1	320 ± 12	110 ± 20
J	13 ± 1	260 ± 8	280 ± 36

K e Na, LOQ = 40 mg.100g⁻¹; Fe, LOQ = 0,6 mg.100g⁻¹; média ± desvio padrão.

em porcentagem representam as amostras em que as concentrações obtidas estavam ou não de acordo com os valores especificados na tabela TACO e informados nos rótulos.

Observou-se que a minoria das amostras analisadas apresentou concentrações dos elementos determinados, de acordo com os valores estipulados com a tabela TACO. Das amostras analisadas, 90% apresentaram valores de concentração inferiores ao estabelecido, enquanto 10% das amostras apresentaram valores acima do especificado. Para Fe 50% das amostras analisadas apresentaram concentrações acima e as demais abaixo do estabelecido pela TACO. Em apenas 20% das amostras analisadas as concentrações de K encontradas estavam de acordo com o estabelecido na tabela TACO. As concentrações de Na obtidas foram superiores ao especificado para a maioria das amostras, sendo que apenas 10% estavam de acordo com a concentração especificada.

Em relação à comparação dos resultados obtidos com os rótulos dos produtos, as concentrações de K

Extração assistida por ultrassom para determinação de Fe, K e Na em amostras de achocolatado em pó

FERREIRA, B. L. et al.

Tabela 3. Comparação em termos de porcentagem de amostras que apresentaram concentrações de Fe, K e Na, concordantes com as concentrações especificadas na tabela TACO e informadas no rótulo do produto.

	Tabela TACO (%) ^a			Valores rotulados (%) ^a			
	Inferior	Superior	De acordo	Inferior	Superior	De acordo	Não Informado
Fe	50	50	-	20	10	20	50
K	80	-	20	-	-	-	100
Na	10	80	10	20	50	30	-

^aConsiderando os valores médios de concentração e o total de 10 amostras; valores estabelecidos pela tabela TACO (mg.100g⁻¹): Fe (5,4), K (496) e Na (65).

não estavam informadas em nenhuma das amostras. Entretanto, de acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2005), apenas valores de minerais (com exceção de sódio) que estiverem em concentração acima de 5% da ingestão diária recomendada devem ser especificados em rótulo. Das amostras analisadas apenas 20% estavam de acordo com os valores informados nos rótulos para concentração de Fe, e 30% para concentração de Na. Sendo que este fato pode ser resultado de possíveis falhas no processo de análise laboratorial empregado pelas indústrias para o controle de qualidade e/ou uma heterogeneidade das amostras.

4 Conclusão

O método proposto para determinação de Fe, K e Na em amostras de achocolatado em pó, utilizando a extração assistida por ultrassom, mostrou-se simples e preciso. Uma das principais vantagens do método é o tempo reduzido de análise, resultado da simplicidade e eficiência do procedimento experimental envolvido para o tratamento da amostra e determinação dos analitos.

As diferentes marcas de achocolatado em pó analisadas apresentaram diferenças quanto aos constituintes de sua formulação. Ainda podemos destacar que na maioria das amostras analisadas a concentração de Na obtida foi acima do especificado pela tabela TACO e do informado no rótulo do produto. Assim, o controle de qualidade adequado e que apresente resultados precisos quanto à concentração de minerais é de extrema importância, já que muitas dietas são elaboradas com base nos valores informados nos rótulos dos produtos.

Agradecimentos

À Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR e à Fundação Araucária – FA, Paraná, Brasil, pelo apoio financeiro.

Referências

BARROS, J. M.; BEZERRA, M. A.; VALASQUES, G. S.; NASCIMENTO, J. B. B.; SOUZA, A. S.; ARAGÃO, N. M. Multivariate Optimization of an Ultrasound-assisted Extraction Procedure for Cu, Mn, Ni and Zn Determination in Ration to

Chickens. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 85, n. 3, p. 891-902, 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 360, de 23 de dezembro de 2003. Regulamento Técnico sobre rotulagem nutricional de alimentos embalados. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 26 dez. 2003. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/ec3966804ac02cf1962abfa337abae9d/Resolucao_RDC_n_360de_23_de_dezembro_de_2003.pdf?MOD=AJPERES>. Acesso em: 02 setembro 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Rotulagem Nutricional Obrigatória**. Brasília: Ministério da Saúde, 2005. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/5f53be80474583c58ee8de3fbc4c6735/manual_industria.pdf?MOD=AJPERES>. Acesso em: 14 nov. 2013.

CASTANHEIRA, I.; FIGUEIREDO, C.; ANDRÉ, C.; COELHO, I.; SILVA, A. T.; SANTIAGO, S.; FONTES, T.; MOTA, C.; CALHAU, M. A. Sampling of Bread for Added Sodium as Determined by Flame Photometry. **Food Chemistry**, London, v. 113, n. 2, p. 621-628, 2009. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.07.047>

CAVALHEIRO, C. V. **Extração de Compostos Fenólicos Assistida por Ultrassom e Determinação de Ácidos Graxos e Minerais em Folhas de Olea Europaea L.** 2013. 93 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos)-Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2013.

CAVECCI, B.; PADILHA P. M.; NEVES, R. C. F. Utilização da Extração Assistida por Ultra-som na Determinação da Disponibilidade de Nutrientes Inorgânicos em Rações Utilizadas na Dieta de Juvenis de Tilápia do Nilo. **Biblioteca Virtual FAPESP**, 2008. Disponível em: <<http://www.bv.fapesp.br/pdf/bolsas/60621/Utilizacao-da-extracao-assistida-por-ultra-som-na-determinacao-da-disponibilidade-de-nutrientes-inor/>>. Acesso em: 09 nov. 2013.

COZZOLINO, S. M. F. Deficiências de Minerais. **Estudos Avançados**, São Paulo, v. 21, n. 60, p. 119-126, 2007. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-40142007000200009>

EDUARDO, M. F.; LANNES, S. C. S. Achocolatados: Análise Química. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 40, n. 3, p. 405-412, 2004.

Extração assistida por ultrassom para determinação de Fe, K e Na em amostras de achocolatado empóFERREIRA, B. L. *et al.*

- FONTES, B.; LADEIRAS, F.; RAMALHO, M.; SANT'ANNA, T. Análise do Mercado Consumidor Brasileiro de Achocolatados Baseada em Pesquisa de Campo e Estratégias de Marketing. **Rio's International Journal on Sciences of Industrial and Systems Engineering and Management**, Rio de Janeiro, v. 2, 2008. Disponível em: <<http://www.rij.eng.uerj.br/research/2008/rm081-01.pdf>>. Acesso em: 09 nov. 2013.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ – IAL. **Métodos Físico-químicos para Análise de Alimentos**. 4. ed. São Paulo: IAL, 2005. Método 12/IV.
- LETERME, P.; BULDGEN, A.; ESTRADA, F.; LONDOÑO, A. M. Mineral Content of Tropical Fruits and Unconventional Foods of the Andes and the Rain Forest of Colombia. **Food Chemistry**, London, v. 95, n. 4, p. 644-652 2006. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.02.003>
- LIMA, A. F.; RICHTER, E. M.; MUNOZ, R. A. A. Alternative Analytical Method for Metal Determination in Inorganic Fertilizers Based on Ultrasound-assisted Extraction. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, Campinas, v. 22, n. 8, p. 1519-1524, 2011. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-50532011000800016>
- LOBO, A. S.; TRAMONTE, V. L. C. Efeitos da Suplementação e da Fortificação de Alimentos sobre a Biodisponibilidade de Minerais. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 17, n. 1, p. 107-113, 2004. <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-52732004000100012>
- LUZ, L. P. **Estudo do Ultra-som como Técnica de Extração de Carvões e Caracterização dos Hidrocarbonetos Poliaromáticos**. 1998. 98 f. Dissertação (Mestrado em Química)-Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1998.
- MANUTSEWEE, N.; AEUNGMAITREPIROM, W.; VARANUSUPAKUL, P.; IMYIM, A. T. Determination of Cd, Cu and Zn in Fish and Mussel by AAS After Ultrasound Assisted Acid Leaching Extraction. **Food Chemistry**, London, v. 101, n. 2, p. 817-824, 2007. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.12.033>
- MATUSIEWICZ, H.; ŚLACHCIŃSKI, M. Development of a One-step Microwave-assisted Subcritical Water Extraction for Simultaneous Determination of Inorganic Elements (Ba, Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, Na, Pb, Sr, Zn) in Reference Materials by Microwave Induced Plasma Spectrometry. **Microchemical Journal**, New York, v. 115, p. 6-10, 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.microc.2014.02.002>
- MEDIROS, M. L.; LANNES, S. C. S. Avaliação Química de Substitutos de Cacau e Estudo Sensorial de Achocolatados Formulados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 29, n. 2, p. 247-253, 2009. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612009000200002>
- MORAES, P. M.; LOUREIRO, V. R.; PADILHA, P. M.; NEVES, R. C. F.; SALEH, M. A. D.; SANTOS, F. A.; SILVA, F. A. Determinação de Fósforo Biodisponível em Rações de Peixes Utilizando Extração Assistida por Ultra Som e Espectrofotometria no Visível. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 4, p. 923-927, 2009. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422009000400018>
- MORGANO, M. A.; QUEIROZ, S. C. N.; FERREIRA, M. M. C. Determinação dos Teores de Minerais em Sucos de Frutas por Espectrometria de Emissão Óptica em Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-OES). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 19, n. 3, p. 344-348, 1999. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20611999000300009>
- NILSON, E. A. F.; JAIME, P. C.; RESENDE, D. O. Iniciativas Desenvolvidas no Brasil para a Redução do Teor de Sódio em Alimentos Processados. **Revista Panamericana de Salud Pública**, Washington, v. 32, n. 4, p. 287-292, 2012. <http://dx.doi.org/10.1590/S1020-49892012001000007>
- PETERS, B. S. E.; MARTINI, L. A. Nutritional Aspects of the Prevention and Treatment of Osteoporosis. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, São Paulo, v. 54, n. 2, p. 179-185, 2010. <http://dx.doi.org/10.1590/S0004-27302010000200014>
- SAIDELLES, A. P. F.; KIRCHNER, R. M.; SANTOS, N. R. Z.; FLORES, E. M. M.; BARTZ, F. R. Análise de Metais em Amostras Comerciais de Erva-mate do Sul do Brasil. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 21, n. 2, p. 259-265, 2010.
- SARNO, F.; CLARO, R. M.; LEVY, R. B.; BANDONI, D. H.; MONTEIRO, C. A. Estimativa de Consumo de Sódio pela População Brasileira, 2008-2009. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 47, n. 3, p. 571-578, 2013. <http://dx.doi.org/10.1590/S0034-8910.2013047004418>
- TANASE, C. M.; GRIFFIN, P.; KOSKIA, K. G.; COOPERB, M. J.; COCKELL, K. A. Sodium and Potassium in Composite Food Samples from the Canadian Total Diet Study. **Journal of Food Composition and Analysis**, USA, v. 24, n. 2, p. 237-243, 2011. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2010.07.010>
- TUPINANBÁ, D. D.; COSTA, A. M.; COHEN, K. O.; PAES, N. S.; FALEIRO, F. G.; CAMPOS, A. V. S.; SANTOS, A. L. B.; SILVA, K. N.; JUNQUEIRA, N. T. V. Conteúdo Mineral e Rendimento de Polpa de Híbridos Comerciais de Maracujá-amarelo. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 15, n. 1, p. 15-20, 2012.
- UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS - UNICAMP. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos - TACO**. Campinas: UNICAMP/NEPA, 2011. Disponível em: <<http://www.unicamp.br/nepa/taco/home.php?ativo=home>>. Acesso em: 10 jun. 2013.