

ESTUDO COMPARATIVO NA DETERMINAÇÃO DE ELEMENTOS ESSENCIAIS EM AMOSTRAS DE PRODUTOS LÁCTEOS POR AANI E ICP-AES

Carmen S. Kira¹; Vera A. Maihara²

¹Seção de Equipamentos Especializados- Divisão de BQ- Inst. Adolfo Lutz
Av. Dr. Arnaldo 355, Cerqueira César, CEP 01246-902

²IPEN-CNEN/SP, Laboratório de Análise por Ativação Neutrônica Caixa Postal 11049, CEP 05422-970, São Paulo, SP

RESUMO

Os métodos de Análise por Ativação com Nêutrons Instrumental (AANI) e Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma Induzido (ICP-AES) foram empregados para a determinação da concentração dos elementos Ca, Fe, K, Mg, Na e Zn em produtos lácteos. Foram analisados 4 tipos de queijo (mussarela, prato, minas e parmesão), 1 amostra de iogurte e 1 amostra de achocolatado, adquiridos em supermercados da cidade de São Paulo. As concentrações médias variaram de 3668 (achocolatado) a 16558 (queijo parmesão) mg/kg para Ca; de 2,61 (queijo parmesão) a 28,9 (achocolatado) mg/kg para Fe; de 673 (queijo mussarela) a 10492 mg/kg (achocolatado) para K; de 398 (iogurte) a 2280 (queijo minas) mg/kg para Mg, de 1681 (iogurte) a 15248 mg/kg (queijo parmesão) para Na e de 12,1 (achocolatado) a 71,8 (queijo parmesão) mg/kg para Zn. Para verificar a validade das metodologias analíticas dois materiais de referência do NIST (SRM 8435 –Whole Milk Powder e SRM 1549 Non Fat Milk Powder) foram analisados. Os resultados obtidos pelos dois métodos foram comparados aplicando-se o Teste de Hipótese (t-Student), e verificou-se que a maioria das concentrações obtidas foram concordantes, considerando o nível de significância de aproximadamente 95%.

Keywords: milk products, mineral, AANI, ICP-AES.

I. INTRODUÇÃO

O estudo de minerais tem se tornado cada vez mais importante, uma vez que desempenham papéis vitais no metabolismo humano, seja na construção de tecidos ou na ativação e controle de processos metabólicos [1].

A importância do consumo de produtos lácteos se deve à alta contribuição protéica e de cálcio os quais ajudam na formação de ossos e dentes, previnem a osteoporose e contribuem para manter uma dieta saudável e equilibrada [1].

A investigação da composição mineral dos alimentos requer métodos de análise capazes de avaliar teores de uma ampla variedade de elementos. Assim, métodos como a espectrometria de absorção atômica (AAS)[2], espectrometria de emissão atômica por plasma de argônio acoplado indutivamente (ICP-AES)[3, 4, 5, 6, 7, 8] e análise por ativação neutrônica (AANI)[9, 10], dentre outros têm sido amplamente usados para análise de minerais e elementos-traço em alimentos.

A maioria das análises que utilizam métodos espectroscópicos envolvem um tratamento preliminar da

amostra para destruição da matéria orgânica. O estágio de mineralização requer longos períodos de tempo, além de ser sujeito à problemas de contaminação [11]. Assim, evidencia-se que procedimentos que não envolvam tratamento prévio das amostras pode ser vantajoso, uma vez que tempo e esforços podem ser economizados e o risco de contaminação diminuído. Nesse sentido, um dos propósitos deste estudo foi comparar a técnica de ICP-AES, que envolve uma digestão da amostra e a técnica de AANI, técnica não-destrutiva.

O outro objetivo deste trabalho foi determinar os teores de Ca, Fe, K, Mg, Na e Zn em amostras de produtos lácteos, como queijos, iogurte e achocolatado, aplicando-se o teste estatístico de t-Student.

II. PARTE EXPERIMENTAL

Coleta e Preparação das Amostras de Produtos Lácteos:

Foram analisados quatro tipos de queijo: mussarela, prato, minas e parmesão, um tipo de iogurte e um tipo de achocolatado. Cerca de 1 Kg de cada tipo de queijo e 0,5L de iogurte e achocolatado foram adquiridos em supermercados da cidade de São Paulo.

Para a liofilização, as amostras trituradas e/ou homogeneizadas foram colocadas em placas de Petri, congeladas e levadas para o liofilizador por cerca de 24 horas. Após a liofilização, as amostras foram trituradas e acondicionadas em sacos plásticos.

Análise por Ativação com Nêutrons:

Cerca de 100 mg das amostras de produtos lácteos liofilizados foram pesados em sacos de polietileno, previamente limpos, assim como os materiais de referência NIST SRM Whole Milk Powder e Non Fat Milk Powder para a determinação de radionuclídeos de meia-vida curta e intermediária. No caso da determinação de radionuclídeos de meia-vida longa foram utilizados cerca de 200 mg de amostra e material de referência. As amostras, materiais de referência e padrões foram irradiados por 2 minutos a 8 horas em fluxos de nêutrons térmicos de 10^7 a 10^8 n.cm⁻².s no reator IEA-R1 do IPEN/CNEN-SP. As medidas das atividades gama induzidas foram feitas com detector de germânio hiperpuro modelo POP TOP da EG&G ORTEC, com uma resolução de 1,90 keV para o pico de 1332,49 keV do ⁶⁰Co, acoplado a uma eletrônica associada. As análises dos espectros de raios gama e a quantificação dos elementos determinados foram feitas com os programas VISPECT2 e ESPECTRO, usados para localizar os picos e calcular as concentrações, respectivamente. Foram determinados os elementos Ca, Fe, K, Mg, Na e Zn.

Espectrometria de Emissão Atômica- ICP-AES

Tratamento das Amostras de Produtos Lácteos: Digestão Via Seca

As amostras de queijo foram trituradas previamente em processador e deixadas em estufa a 105°C para secar. Cerca de 10 g de amostra de queijos foram pesadas em cápsulas de porcelana, e em seguida foram queimadas em bico de Bunsen e levadas à mufla a 450°C. Repetiu-se o processo até a destruição total da matéria orgânica. As amostras foram, então, dissolvidas com 2,5 mL de ácido clorídrico concentrado e transferidas para balão volumétrico de 25,0 mL com ajuda de água Milli-Q. No caso de iogurte foi utilizado cerca de 10 g de amostra o qual seguiu o procedimento de digestão descrito acima e as cinzas foram dissolvidas e transferidas para balão volumétrico de 10,0 mL. Para achocolatado pipetou-se 10,0 mL de amostra os quais foram digeridos seguindo o procedimento acima descrito; as cinzas obtidas foram dissolvidas e transferidas para balão volumétrico de 10,0mL e lidas posteriormente no espectrômetro de emissão por plasma acoplado indutivamente (ICP-AES), modelo Optima 3000-DV, marca Perkin Elmer.

III. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Validação das Metodologias - A validação das metodologias foi feita pela análise dos materiais de referência NIST SRM 8435 Whole Milk Powder e SRM 1549 Non Fat Milk Powder, nas mesmas condições de análise das amostras de produtos lácteos.

As Figuras 1 e 2 apresentam os resultados das análises dos materiais de referência obtidos pelas técnicas de AANI e ICP-AES, utilizando-se o critério do Z-score [12].

O cálculo do valor-z foi efetuado de acordo com BODE [3]. Se $|z| < 3$, significa que o resultado individual da amostra controle (material de referência) deve estar dentro do intervalo de confiança de 99% do valor verdadeiro (ou aceito). Portanto, pelas Figuras pode-se observar que todos os valores obtidos nos dois materiais de referência analisados encontram-se dentro desse intervalo.

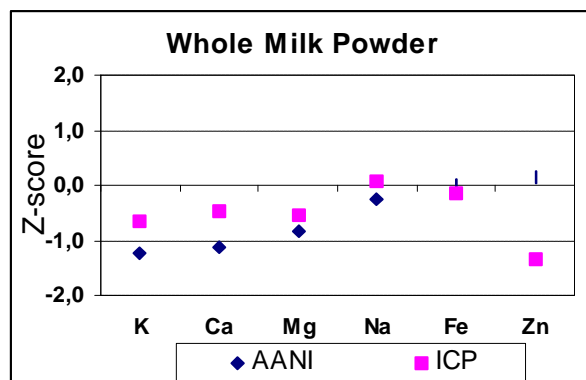


Figura 1: Valores de Z obtidos nas análises do SRM NIST Whole Milk Powder por AANI e ICP-AES.

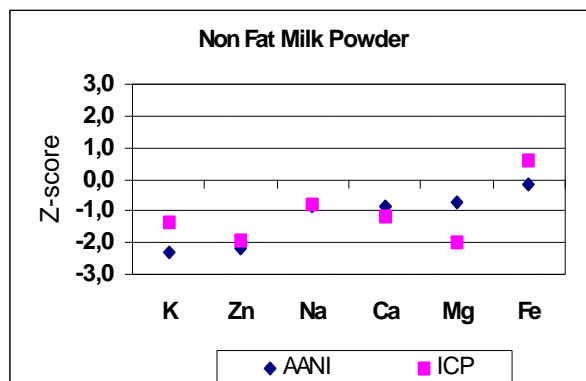


Figura 2: Valores de Z obtidos nas análises do SRM 1549 Non Fat Milk por AANI e ICP-AES

As Tabelas 1, 2 e 3 apresentam os resultados e a comparação das médias obtidas dos minerais determinados nas amostras de queijo mussarela e minas, prato e parmesão, achocolatado e iogurte, todos liofilizados, por AANI e por ICP-AES (digestão via seca), respectivamente. Os resultados foram expressos como médias e desvios-padrão, em peso úmido.

Para se determinar as diferenças nas concentrações de minerais pelas duas técnicas, foi aplicado o teste t-Student (para dados não-emparelhados).

Com relação as concentrações médias obtidas por ambas as técnicas analíticas, após a aplicação do teste estatístico, verificou-se que não há diferença estatisticamente diferente entre as médias para a maioria dos elementos determinados nos produtos lácteos (Tabelas 1, 2 e 3).

Embora a técnica de ICP-AES envolva a destruição da amostra, o que poderia provocar perdas ou contaminação do analito, os resultados obtidos neste

trabalho foram bastante concordantes com os obtidos por AANI, que é um método não destrutivo.

Para fins de comparação com os valores da literatura, foi determinado o fator de conversão das amostras in natura para as liofilizadas. Para queijo mussarela este fator foi de 0,583; 0,328 para queijo minas; de 0,577 para queijo prato; de 0,686 para queijo parmesão; de 0,198 para achocolatado e para iogurte o fator foi de 0,212.

As concentrações de minerais obtidas para os queijos parmesão e minas concordam com praticamente todos os valores de minerais da literatura [13, 14]. Não se encontrou valores tabelados para Mg e Zn em queijo minas.

TABELA 1: Resultados e Comparação das Médias obtidas dos Minerais Determinados em Amostras de Queijos Mussarela e Minas (liofilizados) por ICP-AES Digerido por Via Seca e por AANI (em mg/kg)

Elemento	Queijo Mussarela			Queijo Minas		
	Método A AANI (Média ± DP)	Método B ICP / Via seca (Média ± DP)	Métodos A x B	Método A AANI (Média ± DP)	Método B ICP / Via seca (Média ± DP)	Métodos A x B
	Conclusão			Conclusão		
Ca	12839 ± 925 (4) ^a	12660 ± 491 (6) ^a	+	16109 ± 372 (3) ^a	16492 ± 436 (5) ^a	+
Fe	4,49 ± 0,65 (3) ^a	3,76 ± 0,48 (5) ^a	+	21,3 ± 1,4 (5) ^a	21,3 ± 3,4 (7) ^a	+
K	673 ± 54 (2) ^a	1071 ± 94 (5) ^a	-	3219 ± 148 (3) ^a	3440 ± 192 (3) ^a	+
Mg	446 ± 17 (2) ^a	470 ± 14 (3) ^a	+	2149 ± 129 (5) ^a	2280 ± 109 (6) ^a	+
Na	7498 ± 284 (3) ^a	8047 ± 147 (6) ^a	-	9652 ± 87 (4) ^a	9641 ± 354 (4) ^a	+
Zn	60,6 ± 1,8 (3) ^a	61,4 ± 1,7 (5) ^a	+	19,2 ± 0,7 (3) ^a	17,0 ± 2,0 (6) ^a	+

a: números de determinações individuais

+: aceita: as médias podem ser consideradas iguais com o nível de significância de 95 % considerados

-: rejeita: as médias não são consideradas iguais com o nível de significância de 95 % considerados

TABELA 2: Resultados e Comparação das Médias obtidas dos Minerais Determinados nas Amostras de Queijo Prato e Parmesão (liofilizados) por ICP-AES (digestão por via seca) e AANI (em mg/kg)

Elemento	Queijo Prato			Queijo Parmesão		
	Método A AANI (Média ± DP)	Método B ICP / Via seca (Média ± DP)	A x B	Método A AANI (Média ± DP)	Método B ICP / Via seca (Média ± DP)	Métodos A x B
	Conclusão			Conclusão		
Ca	15451 ± 788 (5) ^a	15476 ± 346 (4) ^a	+	16558 ± 1005 (4) ^a	15704 ± 717 (5) ^a	+
Fe	4,83 ± 0,20 (4) ^a	4,87 ± 0,40 (3) ^a	+	3,11 ± 0,32 (3)	2,61 ± 0,53 (4)	+
K	1595 ± 132 (2)	1602 ± 37 (4)	+	1086 ± 153 (3)	1573 ± 89 (6)	-
Mg	666 ± 33 (2) ^a	618 ± 19 (4) ^a	-	735 ± 49 (2) ^a	704 ± 5 (4) ^a	+
Na	8777 ± 94 (3)	8958 ± 208 (3)	+	15248 ± 689 (3)	15226 ± 996 (8)	+
Zn	56,0 ± 1,3 (4) ^a	55,0 ± 2,3 (8) ^a	+	71,8 ± 2,0 (3)	69,0 ± 2,3 (7)	+

a: números de determinações individuais

+: aceita: as médias podem ser consideradas iguais com o nível de significância de 95 % considerados

-: rejeita: as médias não são consideradas iguais com o nível de significância de 95 % considerados

TABELA 3: Resultados e Comparação das Médias dos Minerais Determinados em Amostras de Achocolatado e Iogurte por ICP-AES (digestão por via seca) e AANI (em mg/kg)

Elemento	Achocolatado			Iogurte		
	Método A AANI (Média ± DP)	Método B ICP / Via seca (Média ± DP)	Método A x B	Método A AANI (Média ± DP)	Método B ICP / Via seca (Média ± DP)	Método A x B
	Conclusão					
Ca	3709 ± 68 (4)	3668 ± 76 (3)	+	4949 ± 241 (4) ^a	4827 ± 97 (3) ^a	+
Fe	28,9 ± 1,7 (3)	23,9 ± 0,7 (4)	-	7,9 ± 0,2 (3) ^a	8,3 ± 1,0 (2) ^a	+
K	10492 ± 684 (2)	9514 ± 284 (3)	+	6646 ± 263 (2)	6585 ± 111 (3)	+
Mg	799 ± 28 (2)	759 ± 11 (3)	+	398 ± 21 (2)	402 ± 7 (3)	+
Na	3884 ± 76 (2)	3805 ± 113 (3)	+	1681 ± 8 (2)	1785 ± 105 (3)	+
Zn	14,8 ± 0,6 (3)	12,1 ± 0,6 (3)	-	15,5 ± 0,2 (3) ^a	13,5 ± 0,3 (3) ^a	-

a: números de determinações individuais

+: aceita: as médias podem ser consideradas iguais com o nível de significância de 95 % considerados

-: rejeita: as médias não são consideradas iguais com o nível de significância de 95 % considerados

Comparando-se os valores de minerais encontrados para queijo mussarela com os tabelados por Philippi [14] praticamente todos os teores obtidos estavam concordantes com o valor tabelado, com exceção do cálcio, cujo valor da literatura [14], 8068 mg/kg, estava bem abaixo do valor obtido de 12839 mg/kg.

Para queijo prato, os teores de Fe (4,83 mg/kg) e Na (8777 mg/kg) obtidos estavam abaixo dos valores tabelados por Philippi [14] (7,62 e 16724 mg/kg, respectivamente) ou por Franco [13] (13,5 e 12478 mg/kg, respectivamente).

Com relação à amostra de iogurte analisada todos os teores de minerais encontrados estavam concordantes com os tabelados por McCance [15].

Não se encontrou valores de minerais na literatura para achocolatado.

As diferenças entre os teores de minerais obtidos e os da literatura nas amostras, provavelmente se devem às diferentes e variadas matérias-primas utilizadas em sua preparação.

As tabelas de composição química de alimentos apresentam grandes lacunas com relação aos teores de minerais para amostras como leites e queijos. Portanto o presente trabalho é uma contribuição para uma Tabela Brasileira de Composição de Alimentos mais completa.

REFERÊNCIAS

[1] WILLIAMS, S. R. **Fundamentos de Nutrição e Dietoterapia**. Artes Médicas, 6^a ed, Porto Alegre, 1997.

[2] JORHEM, L., ENGMAN, J. **Determination of lead, cadmium, zinc, copper and iron in foods by atomic absorption spectrometry after microwave digestion: NMKL Collaborative Study**. Journal of AOAC International, 83(5): 1189-1203, 2000.

[3] AMARASIRIWARDENA, D., KOTREBAI, M., KRUSHEVSKA, A., BARNES, R. M. **Multielement analysis of human milk by inductively coupled plasma mass and atomic emission spectrometry after high pressure, high temperature digestion**. Canadian Journal of Analytical Sciences and Spectroscopy, 42(3): 69-78, 1997.

[4] BORKOWSKA-BURNECKA, J., SZMIGIEL, E., ZYRNICKI, W. **Determination of major and trace elements in powdered milk by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry**. Chem. Anal. (Warsaw), 41: 625-632, 1996.

[5] CONI, E., BOCCA, A., IANNI, D., CAROLI, S. **Preliminary evaluation of the factors influencing the trace element content of milk and dairy products**. Food Chemistry, 52: 123-138, 1995.

[6] McKINSTRY, P. J., INDYK, H. E., KIM, N. D. **The determination of major and minor elements in milk and infant formula by slurry nebulisation and inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES)**. Food Chemistry, 65: 245-252, 1999.

[7] MURCIA, M. A., VERA, A., MARTÍNEZ-TOMÉ, M., MUÑOZ, A., HERNÁNDEZ-CÓRDOBA, M., ORTIZ-GONZÁLES, R. **Fast determination of the Ca, Mg, K, Na and Zn contents in milk and nondairy imitation milk using ICP-AES without mineralization stage**. Lebensm. Wiss. U-Technol. 32: 175-179, 1999.

[8] NÓBREGA, J. A., GÉLINAS, Y., KRUSHEVSKA, A., BARNES, R. M. **Direct determination of major and trace elements in milk by inductively coupled plasma atomic emission and mass spectrometry**. Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 12: 1243-1246, 1997.

[9] ANDERSON, D. L., CUNNINGHAM, W. C., CAPAR, S. G., BARATTA, E. J., MACKILL, P. **Nuclear methods for food analysis at the U. S. Food and Drug**

Administration. Journal of Radianalytical and Nuclear Chemistry, 249(1):29-32, 2001.

[10] DANG, H. S., JAISWAL, D. D., NAIR, S. **Daily dietary intake of trace elements of radiological and nutritional importance by the adult Indian population.** Journal of Radianalytical and Nuclear Chemistry, 249(1): 95-101, 2001.

[11] HOENING, M., KERSABIEC, A-M. **Sample preparation steps for analysis by atomic spectroscopy methods: present status.** *Spectr.Acta Part B* 51:1297-1307, 1996.

[12] BODE, P. **Instrumental and organizational aspects of a neutron activation analysis laboratory**, Delft University of Tecnology, 1996.

[13] FRANCO, GUILHERME – **Tabela de composição dos alimentos**, Livraria Atheneu, 8^aed, Rio de Janeiro – São Paulo, 1987.

[14] PHILIPPI, S. T. **Tabela de Composição de Alimentos: Suporte para Decisão Nutricional**, Brasília, 2001.

[15] McCANCE and WIDDOWSON'S – **The Composition of Foods** – The Royal Society of Chemistry and Ministry of Agriculture, Fisheries and Food – Fifth revised and extended edition, 1993.

ABSTRACT

The mineral elements Ca, Fe, K, Mg, Na and Zn were analyzed in milk products by using instrumental neutron activation analysis (INAA) and inductively coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP-AES). The study included four types of cheese (mozzarella, minas, prato, parmesan), chocolate milk and yogurt. The samples were purchased from the local markets. Average concentrations ranged from 3668 (chocolate milk) to 16558 (parmesan cheese) mg/kg for Ca; from 2.61 (parmesan cheese) to 28.9 (chocolate milk) mg/kg for Fe; from 673 (mozzarella cheese) to 10492 (chocolate milk) mg/kg for K; from 398 (yogurt) to 2280 (minas cheese) mg/kg for Mg; from 1681 (yogurt) to 15248 (parmesan cheese) mg/kg for Na; from 12.1 (chocolate milk) to 71.8 (parmesan cheese) mg/kg for Zn. Two National Institute of Standards and Technology (NIST) standard reference materials (SRM 8435 Whole Milk Powder and SRM 1549 Non Fat Milk Powder) were analyzed to verify method accuracy. The statistic test used to determine the significance of the difference between the techniques was based on Unpaired t-Student test. Statistical test revealed no significance differences ($P < 0,05$) between the average values provided by the two methods for the most of determined elements.