

## Avaliação da determinação de Mg e Zn em amostras de leite em pó por F AAS após solubilização com hidróxido de tetrametilamônio

### RESUMO

O objetivo deste projeto foi comparar a solubilização alcalina com hidróxido de tetrametilamônio (TMAH) e a calcinação na determinação de magnésio e zinco em amostras de leite em pó por F AAS. Analisaram-se duas amostras de leite em pó obtidas em supermercados de Ponta Grossa, Paraná – Brasil. Os métodos de preparo de amostra foram a calcinação em forno de mufla e a solubilização alcalina com TMAH e as determinações foram realizadas por espectrometria de absorção atômica com atomização em chama (FAAS). A solubilização alcalina não apresentou diferenças significativas na determinação de Mg para com o método da calcinação, entretanto, houve diferenças significativas na determinação de Zn. Concluiu-se, portanto, que a solubilização alcalina demonstrou sua validação no preparo de amostras de leite em pó para subsequente determinação da concentração de magnésio, visto que não apresentou diferenças significativas em relação à calcinação. Entretanto, não ocorreu o mesmo para o preparo das amostras na determinação da concentração de zinco, visto que houve diferenças significativas entre os dois métodos. Este resultado contraditório pode ser devido à formação de hidróxidos pouco solúveis, que tornaram a leitura do analito precária. É possível, contudo, corrigir esses desvios com a adição de ácido nítrico (HNO<sub>3</sub>) às amostras.

**PALAVRAS-CHAVE:** Leite em Pó. Solubilização Alcalina. Métodos de Preparo de Amostras.

**Clecius Henrique Chemim**  
[cleciuschemim@alunos.utfpr.edu.br](mailto:cleciuschemim@alunos.utfpr.edu.br)  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, Paraná, Brasil

**Leticia Yuriko Togawa**  
[leticiatogawa@alunos.utfpr.edu.br](mailto:leticiatogawa@alunos.utfpr.edu.br)  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, Paraná, Brasil

**Junior Van Beik**  
[jvanbeik@hotmail.com](mailto:jvanbeik@hotmail.com)  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, Paraná, Brasil

**Eduardo Sidinei Chaves**  
[eschaves@utfpr.edu.br](mailto:eschaves@utfpr.edu.br)  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, Paraná, Brasil

**Simone Delezuk Inglez**  
[simoneinglez@utfpr.edu.br](mailto:simoneinglez@utfpr.edu.br)  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, Paraná, Brasil

## 1 INTRODUÇÃO

De acordo com Kira (2002), existe uma vasta gama de elementos químicos indispensáveis ao funcionamento do metabolismo humano e o excesso ou deficiência destes pode acarretar males e doenças. O leite fornece elementos vitais para o crescimento de diferentes tecidos, bem como para o funcionamento de diversos sistemas enzimáticos. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), através da resolução RDC nº360 de 23 de dezembro de 2003 determina os valores de referência para a ingestão diária de uma gama de nutrientes minerais, entre eles Mg (260mg) e Zn (7mg). E ainda, através da resolução RDC nº359, de 23 de dezembro de 2003, os produtos devem conter em seus rótulos todas as informações nutricionais e gerais, embasando-se no direito do consumidor em conhecer tais informações.

A determinação de metais requer um pré-tratamento da amostra e segundo Da Silva et al. (2012), os métodos mais convencionais de preparo envolvem digestões com ácidos agressivos e aquecimento. Esses procedimentos são fastidiosos, requerem grande quantidade de equipamentos laboratoriais e o risco por contaminação e volatilização devido à quantidade de etapas é alto. No Brasil, a instrução normativa nº68 oficializa os métodos analíticos físico-químicos para controle de produtos lácteos e determina que o resíduo mineral fixo deva ser determinado por calcinação das amostras. Entretanto, esse método consome uma parcela de tempo muito extensa, é agressivo e limitado pela disponibilidade e capacidade dos fornos de mufla.

Beik et al. (2017) propõe que a utilização de um meio alcalino é uma alternativa simples aos métodos convencionais de preparo e que engloba um grande grupo de analitos de diferentes tipos de amostras. O hidróxido de tetrametilamônio (TMAH) é uma base orgânica forte, solúvel em água e alcoóis e pode complexar e estabilizar elementos a temperatura ambiente sem aplicação de fontes de energia para o aquecimento. De acordo com Aranha et al. (2016) a solubilização com TMAH requer pequenas quantidades de amostra e reagentes e o tempo de preparo é reduzido, permitindo tratar simultaneamente muitas amostras. É, assim, uma alternativa interessante às metodologias tradicionais.

O objetivo deste estudo foi comparar a determinação de Mg e Zn em amostras de leite em pó por espectrometria de absorção atômica com atomização em chama após solubilização em TMAH com métodos tradicionais de preparação de amostra, a saber, calcinação.

## 2 METODOLOGIA

### 2.1 INSTRUMENTAÇÃO

Todas as pesagens foram realizadas em balança analítica com grau de precisão 0.0001g (Mark 205A, BEL). A calcinação foi realizada em mufla (318D24, QUIMIS). A centrifugação das amostras foi realizada em centrífuga (DM0412S, SCIOGEX). A medição de Zn foi realizada em espectrômetro de absorção atômica por atomização em chama (AAAnalyst 700, PERKIN ELMER-SCIEX) equipado com amostrador automático S10, lâmpada de cátodo oco com comprimento de onda de 213.9 nm, fenda espectral de 0.7 nm e fluxo de ar-acetileno (8:1.8 L min<sup>-1</sup>). A medição de Mg foi realizada em espectrômetro de absorção atômica por atomização em chama (AA-6200 SHIMADZU), lâmpada de cátodo oco com comprimento de onda de 285.2 nm, fenda espectral de 0.7 nm e fluxo de ar-

acetileno (17:2.0 L min<sup>-1</sup>).

## 2.2 REAGENTES E AMOSTRAS

Todos os reagentes utilizados eram de grau analítico. Água ultrapura com resistividade de 18.1 MΩ cm (MS2000, GEHAKA) foi utilizada para o preparo das amostras e das soluções. Ácido nítrico suprapuro 65% (m/m) (HNO<sub>3</sub>) (MERCK, Alemanha) e solução de TMAH 25% (m/v) em metanol (DINÂMICA, Brasil) foram utilizados para a preparação das amostras. Duas amostras obtidas em supermercados localizados na cidade de Ponta Grossa – PR, Brasil foram analisadas.

## 2.3 CALCINAÇÃO

Alíquotas de 2.0g da amostra foram pesadas diretamente em cadinhos de porcelana. As amostras foram levadas à chapa de aquecimento para carbonização e seguiram até a mufla, donde jazeram por 5 horas a temperatura de 500°C. Resfriadas, as amostras receberam 1.0 mL de HNO<sub>3</sub> 65% (m/m) e as soluções resultantes foram avolumadas para 25 mL, filtradas e diluídas quando necessário. A concentração dos analitos foi determinada por F AAS.

## 2.4 SOLUBILIZAÇÃO ALCALINA

Alíquotas de 0.1g da amostra foram pesadas diretamente em tubos de polipropileno. Em seguida, adicionou-se 500 µL de TMAH (25% m/v) às amostras e estas foram mantidas em banho de água a 95 ± 5°C durante 30 minutos. As soluções obtidas foram avolumadas para 14 mL e centrifugadas a 4500 rpm por 5 minutos para serem diluídas de acordo com a necessidade e a concentração dos analitos foi, então, determinada por F AAS.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Uma calcinação das amostras foi realizada e os resultados obtidos na determinação de Mg e Zn por F AAS foram utilizados a título de comparação com o procedimento de solubilização em TMAH. Segundo Rowan et al. (1982), a calcinação como método de destruição da matéria orgânica em análises inorgânicas apresenta resultados conflitantes. A maioria das inconsistências é devida a contaminação e perdas em função da volatilização do analito nas altas temperaturas requeridas para promover as cinzas. Entretanto, como esse procedimento é oficializado e amplamente utilizado por sua facilidade e baixo custo, os resultados obtidos foram utilizados como parâmetro de controle para avaliar a eficiência da extração com solubilização em TMAH.

Beik et al. (2017) alerta que a estabilidade de alguns metais pode ser afetada pela solubilização em TMAH devido à formação de hidróxidos pouco solúveis, fala, ainda, que a adição de ácido nítrico faz decrescer o valor de pH e minimiza a instabilidade dos metais na solução. Assim, testes preliminares foram conduzidos utilizando 500 µL de TMAH (25% m/v) em 0.1 g da amostra denominada A, seguidos de adição ou não de 500 µL de ácido nítrico (65% m/m) e permanência em banho de água a 95 ± 5°C durante 30 minutos. As amostras tiveram o volume completado para 25 mL e foram centrifugadas a 4500 rpm por 5 minutos para garantir que partículas em suspensão não bloqueassem o nebulizador durante a determinação dos analitos por F AAS. Os valores obtidos para as replicatas foram submetidos ao teste de separação de médias *Tukey*, pelo programa computacional SASM-Agri, de Canteri et al. (2001) que não acusou

diferenças entre as amostras que tiveram a adição de HNO<sub>3</sub> e as que não tiveram, com 5% de significância, sugerindo que a estabilidade dos metais não foi afetada pela solubilização em TMAH. Sendo assim, optou-se por não adicionar HNO<sub>3</sub> após a solubilização alcalina.

A determinação da concentração de Mg e Zn foi realizada em duas amostras diferentes, denominadas A e B. Os resultados estão expostos em função da média e desvio padrão na tabela 1.

Tabela 1 – Concentração dos analitos expressa em função da média e desvio padrão.

Magnésio (g/100g)		
Amostra	Calcinação	TMAH
A	0,128 ± 0,005a	0,124 ± 0,006a
B	0,122 ± 0,001a	0,124 ± 0,004a
Zinco (mg/kg)		
Amostra	Calcinação	TMAH
A	39,988 ± 2,379a	35,931 ± 1,277b
B	42,560 ± 1,703a	30,559 ± 0,763b

Fonte: Autoria Própria (2017).

Os valores de concentração obtidos para as replicatas de cada um dos métodos foram submetidos novamente ao teste de separação de médias *Tukey* com 5% de significância. Observou-se que não houve diferença significativa entre a calcinação e a solubilização alcalina com TMAH na determinação de Mg. Entretanto, houve diferença significativa entre a calcinação e a solubilização alcalina com TMAH na determinação de Zn.

#### 4 CONCLUSÃO

A solubilização alcalina com TMAH foi eficiente para o preparo de amostras de leite em pó para subsequente determinação da concentração de magnésio, visto que não apresentou diferenças significativas em relação à calcinação, demonstrando sua validação.

Entretanto, não foi eficiente para o preparo das amostras na determinação da concentração de zinco, visto que houve diferenças significativas entre os dois métodos de preparo de amostra. Este resultado pode ser devido à formação de hidróxidos com baixa solubilidade que tornaram a leitura do analito precária, sendo, portanto, controverso à avaliação da adição de ácido nítrico, onde não se detectou diferenças significativas na determinação de zinco das amostras que receberam o ácido e as que não receberam.

Investigações mais aprofundadas devem ser realizadas, como por exemplo, repetir os procedimentos de preparo adicionando ácido nítrico após todas as solubilizações com TMAH na determinação de Zn para a redução do pH da solução e minimização dos efeitos da instabilidade dos metais.

## Evaluation of Mg and Zn determination in powdered milk samples by F AAS after solubilization with tetramethylammonium hydroxide

### ABSTRACT

The aim of this paper was to compare alkaline solubilization with tetramethylammonium hydroxide (TMAH) and dry ashing method in the determination of magnesium and zinc in powdered milk samples by FAAS. Two powdered milk samples obtained in supermarkets in Ponta Grossa, Paraná – Brasil were evaluated. The preparation samples methods were dry ashing in muffle furnace and alkaline solubilization with TMAH. Determinations were made by flame atomic absorption spectrometry (FAAS). Alkaline solubilization did not show significant differences in determination of Mg compared with dry ashing method, however, there were significant differences in determination of Zn. Concluding, alkaline solubilization showed its validation as a sample preparation method and subsequent determination of magnesium compared with dry ashing method once there were no significant differences between them. However, the same did not occur for zinc, since there were significant differences between the two samples preparation methods. This contradictory result might be due formation of low soluble hydroxides making analyte reading poor. It is possible, although, to correct these deviations adding nitric acid ( $\text{HNO}_3$ ) to the samples.

**KEY-WORDS:** Powdered Milk. Alkaline Solubilization. Sample Preparation Methods.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a UTFPR – *campus* Ponta Grossa pela oportunidade.

## REFÊRENCIAS

KIRA, C.S. Estudo da composição mineral e dos elementos-traço essenciais em amostras de leite e produtos lácteos por espectrometria de emissão atômica com plasma induzido e análise por ativação com nêutrons. 2002. 72p. Dissertação – IPEN (Autarquia associada à Universidade de São Paulo). São Paulo, 2002. ([http://pelicano.ipen.br/posg30/textocompleto/carmen%20silva%20kira\\_m.pdf](http://pelicano.ipen.br/posg30/textocompleto/carmen%20silva%20kira_m.pdf)); (Acesso em 20.08.2017).

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº360, de 23 de dezembro de 2003. Regulamento Técnico sobre rotulagem nutricional de alimentos embalados. Diário Oficial da União, Brasília, 26 dez. 2003, p.33-34, nº251. (<http://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?data=26/12/2003&jornal=1&pagina=33>); (Acesso em 20.08.2017).

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº359, de 23 de dezembro de 2003. Regulamento técnico de porções de alimentos embalados para fins de rotulagem nutricional. Diário Oficial da União, Brasília, 26 dez. 2003, p.2832, nº251. (<http://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?data=26/12/2003&jornal=1&pagina=28&totalArquivos=72>); (Acesso em 20.08.2017).

DA 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 e K in Meat Samples by Atomic Spectrometric Techniques. J Braz Chem Soc. 2012; 23(9): 1623–29.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria de Defesa Agropecuária. Métodos Analíticos Físico-Químicos para Controle de Leite e Produtos Lácteos. Instrução Normativa 68, 12 de dezembro de 2006. Brasília: Ministério da Agricultura, 2006. (<http://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?data=14/12/2006&jornal=1&pagina=8>); (Acesso em 20.08.2017).

BEIK, J.V.; KOSERA, V.S.; MARANHÃO, T. de A.; CHAVES, E.S. Alkaline solubilization and ultrasound assisted extraction for Cr and Pb determination in leather by atomic absorption spectrometry. Anal Methods. 2017; 9(22): 3284-89.

ARANHA, T.S.C.P.; OLIVEIRA, A.; QUEIROZ, H.M.; CADORE, S. A fast alkaline treatment for cadmium determination in meat samples. Food Control. 2016; 59: 447-53.

ROWAN, C. A.; ZAJICEK, O. T.; CALABRESE, E. J. Dry ashing vegetables for the determination of sodium and potassium by atomic absorption spectrometry. Anal. Chem. 1982; 54(1): 149-51.

CANTERI, M. G., ALTHAUS, R. A., VIRGENS FILHO, J. S., GIGLIOTI, E. A., GODOY, C. V. SASM-Agri: Sistema para análise e separação de médias em experimentos agrícolas pelos métodos Scott-Knott, Tukey e Duncan. Revista Brasileira de Agrocomputação, V.1, N.2, p.18-24. 2001.

**Recebido:** 31 ago. 2017.

**Aprovado:** 02 out. 2017.

**Como citar:**

CHEMIM, C.H. et al. Avaliação da determinação de Mg e Zn em amostras de leite em pó por F AAS após solubilização com hidróxido de tetrametilamônio In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA DA UTFPR, 22., 2017, Londrina. **Anais eletrônicos...** Londrina: UTFPR, 2017. Disponível em: <https://eventos.utfpr.edu.br/sicite/sicite2017/index>. Acesso em: XXX.

**Correspondência:**

Clecius Henrique Chemim

Avenida Visconde de Mauá, 3280, Colônia Dona Luiza, Ponta Grossa, Paraná, Brasil.

**Direito autoral:**

Este resumos expandidos está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição-Não Comercial 4.0 Internacional.

