

**MODIFICAÇÃO E VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA PARA
DETERMINAÇÃO DE SÓDIO, POTÁSSIO E FÓSFORO EM
ALIMENTOS INDUSTRIALIZADOS**

JEFERSON DOS SANTOS SILVA

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE
DARCY RIBEIRO**

**CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
MARÇO – 2013**

**MODIFICAÇÃO E VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA PARA
DETERMINAÇÃO DE SÓDIO, POTÁSSIO E FÓSFORO EM
ALIMENTOS INDUSTRIALIZADOS**

JEFERSON DOS SANTOS SILVA

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal com Concentração em Tecnologia de Alimentos e Constituintes Químicos Vegetais.

Orientadora: Prof^a. Karla Silva Ferreira

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
MARÇO – 2013

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca do **CCTA / UENF** 009/2014

Silva, Jeferson dos Santos

Modificação e validação da metodologia para determinação de sódio, potássio e fósforo em alimentos industrializados / Jeferson dos Santos Silva. – 2014.

116 f. : il.

Orientador: Karla Silva Ferreira

Dissertação (Mestrado - Produção Vegetal) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. Campos dos Goytacazes, RJ, 2014.

Bibliografia: f. 94 – 101.

1. Composição de alimentos 2. Minerais 3. Análise de alimentos 4. Emissão de chama I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias. II. Título.

Cutter – S586m

MODIFICAÇÃO E VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA PARA
DETERMINAÇÃO DE SÓDIO, POTÁSSIO E FÓSFORO EM
ALIMENTOS INDUSTRIALIZADOS

JEFERSON DOS SANTOS SILVA

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal com Concentração em Tecnologia de Alimentos e Constituintes Químicos Vegetais.

Aprovada em 14 de março de 2013

Comissão Examinadora

Prof^a. Selma Bergara Almeida (D.Sc., Tecnologia de Alimentos) – UENF

Prof^o. Luís César Passoni (D.Sc., Ciências) – UENF

Prof^o. Maurício H. L. Silva (D.Sc., Ciência e Tecnologia de Alimentos) – IFSEMG

Prof^a. Karla Silva Ferreira (D.Sc., Ciência e Tecnologia de Alimentos) – UENF
(Orientadora)

**DEDICO AOS PILARES DA MINHA VIDA
MINHA MÃE LÚCIA HELENA DOS SANTOS SILVA E MEU PAI
GERALDO PEREIRA DA SILVA FILHO.**

“Os que confiam no Senhor serão como
o monte de Sião, que não se abala, mas
permanece para sempre”

Salmo: 125-1.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me iluminar, fortalecer e permitir viver esta experiência;

À minha irmã que sempre esteve presente e acreditou em mim;

À D. Ana e à Tia Irany, pessoas muito importantes em minha criação;

À Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) pela oportunidade;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro ao longo do desenvolvimento do trabalho;

À Prof^a Karla Silva Ferreira pela orientação, sinceridade e confiança. Aprendi muito com você;

Ao Professor Maurício Henriques Louzada Silva, pelos conselhos e principalmente por ser presente em minha vida acadêmica e pessoal;

A todos os professores do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sudeste de Minas Gerais – Campus Rio Pomba, pelos ensinamentos.

À Prof^a Dr^a Selma Bergara e ao Prof^o. Dr^o. Luís César Passoni pela participação na banca e pelas considerações realizadas;

Ao meu amor Gleika pelo apoio, confiança, força, atenção, companheirismo, sou muito feliz por ter você ao meu lado, Te Amo;

À amiga Amanda que me ajudou muito na reta final do meu experimento;

Aos amigos Hélio Ricardo e Nayara Cantarino pela amizade, companheirismo, atenção e motivação;

Aos amigos André Vicente de Oliveira, Ricardo, Francemir e Jacinto Graça, pelos inúmeros momentos de reflexões e conselhos;

À Thaynã Amanda pela amizade, apoio e auxílio na minha defesa;

À laboratorista Valdinéia que esteve presente durante todo o desenvolvimento do trabalho;

Aos amigos Juliana, Dandara, Luiz Fernando, Diego Toledo, Pollyane, Clara, Lara, Jhonny, Felipe do Valle, Rodrigo, João, Simone, Vanessa, Amanda e Priscila pelo companheirismo e amizade;

A todos os meus tios (as), meus primos (as) pela confiança e conselhos. Vocês são parte do combustível que me move dia após dia;

Ao Luiz Fernando pelos inúmeros momentos de descontração, alegres e sinceros que tivemos, jamais me esquecerei da Autopista;

Aos companheiros Cássio Vitorazzi, Validoro, Renê Lemos, Régis, Geraldo e João, pelo apoio no início, quando tudo parecia mais difícil;

A todos que de alguma forma me apoiaram durante o desenvolvimento deste trabalho;

SUMÁRIO

RESUMO.....	xi
ABSTRACT	xii
1. INTRODUÇÃO	01
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	03
2.1 FISILOGIA RENAL.....	03
2.2. INSUFICIÊNCIA RENAL CRÔNICA (IRC).....	05
2.3. INCIDÊNCIA DE INSUFICIÊNCIA RENAL CRÔNICA	07
2.4. SÓDIO.....	09
2.5. POTÁSSIO	11
2.6. FÓSFORO	14
2.7. LEGISLAÇÃO SOBRE ROTULAGEM DE ALIMENTOS	17
2.8. METODOLOGIA PARA DETERMINAÇÃO DE MINERAIS EM ALIMENTOS	19
2.9. DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA.....	22
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23
3. TRABALHOS	30
AVALIAÇÃO DE MODIFICAÇÕES NO PREPARO DE AMOSTRAS DE ALIMENTOS PARA DETERMINAÇÃO DE SÓDIO	30
RESUMO.....	30
ABSTRACT	31
INTRODUÇÃO	32
MATERIAL E MÉTODOS.....	34
RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
CONCLUSÃO	50
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51
AVALIAÇÃO DE MODIFICAÇÕES NO PREPARO DE AMOSTRAS DE ALIMENTOS PARA DETERMINAÇÃO DE POTÁSSIO	54
RESUMO.....	54
ABSTRACT	55
INTRODUÇÃO	56

MATERIAL E MÉTODOS.....	58
RESULTADOS E DISCUSSÃO	64
CONCLUSÃO	74
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	74
AVALIAÇÃO DE MODIFICAÇÕES NO PREPARO DE AMOSTRAS DE ALIMENTOS PARA DETERMINAÇÃO FÓSFORO	77
RESUMO.....	77
ABSTRACT	78
INTRODUÇÃO	79
MATERIAL E MÉTODOS.....	80
RESULTADOS E DISCUSSÃO	85
CONCLUSÃO	90
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	91
4. RESUMOS E CONCLUSÕES	92
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	95

LISTA DE TABELAS

<i>Tabela 1. Teores de sódio presentes em alguns alimentos de amplo consumo ...</i>	<i>10</i>
<i>Tabela 2. Teores de potássio presentes em alguns alimentos de amplo consumo</i>	<i>13</i>
<i>Tabela 3. Alguns alimentos, suas variedades e respectivos teores de fósforo</i>	<i>16</i>

AVALIAÇÃO DE MODIFICAÇÕES NO PREPARO DE AMOSTRAS DE ALIMENTOS PARA DETERMINAÇÃO DE SÓDIO

<i>Tabela 1. Teores de sódio (mg por 100 g) detectados nos alimentos por emissão de chama em diferentes processos de preparo das amostras para a análise por emissão de chama</i>	<i>41</i>
<i>Tabela 2. Taxas de recuperação encontradas para sódio nos alimentos em estudo</i>	<i>42</i>
<i>Tabela 3. Teores de sódio em mg.L⁻¹ encontrados na literatura</i>	<i>43</i>
<i>Tabela 4. Porcentagens de Precisão e Tendência calculados para os alimentos nos diferentes processos</i>	<i>44</i>
<i>Tabela 5. Teste F aplicado para comparação das variâncias entre os métodos propostos e o método oficial</i>	<i>47</i>
<i>Tabela 6. Valores "d", teste t e limite de erro aceitável para cada alimento.....</i>	<i>48</i>
<i>Tabela 7. Concentração do padrão, média de 20 leituras, desvio padrão (DP) repetibilidade (r) para as concentrações de sódio.....</i>	<i>50</i>
<i>Tabela 8. Concentração conhecida, média de 20 leituras, coeficientes de variação (CV) e desvio padrão de precisão intermediária - S(pi) - para as três concentrações de sódio</i>	<i>50</i>

AVALIAÇÃO DE MODIFICAÇÕES NO PREPARO DE AMOSTRAS DE ALIMENTOS PARA DETERMINAÇÃO DE POTÁSSIO

<i>Tabela 1. Teores de potássio (mg por 100 g) detectados nos alimentos por emissão de chama em diferentes processos de preparo das amostras para análise por emissão de chama.....</i>	<i>65</i>
---	-----------

<i>Tabela 2. Taxa de recuperação encontrada por meio da adição de quantidades conhecidas de potássio às amostras de alimentos estudados</i>	<i>66</i>
<i>Tabela 3. Teores de potássio em mg.L⁻¹ disponíveis na literatura</i>	<i>67</i>
<i>Tabela 4. Porcentagens de Precisão e Tendência calculadas para os alimentos nos diferentes processos</i>	<i>68</i>
<i>Tabela 5. Teste F aplicado para comparação das variâncias entre os métodos propostos e o método oficial</i>	<i>71</i>
<i>Tabela 6. Valores "d" e comparação dos métodos propostos com o método oficial por meio do Teste t student (emparelhado)</i>	<i>72</i>
<i>Tabela 7. Concentração do padrão, média de 20 leituras, desvio padrão (DP) e repetibilidade (r) para as concentrações de potássio</i>	<i>73</i>
<i>Tabela 8. Concentração conhecida, média de 20 leituras, coeficientes de variação (CV) e desvio padrão de precisão intermediária - S(pi) - para as três concentrações de potássio</i>	<i>73</i>

AValiação de modificações no preparo de amostras de alimentos para determinação de fósforo

<i>Tabela 1. Teores de fósforo (mg por 100 g) detectados nos alimentos submetidos a diferentes processos de oxidação da matéria orgânica e leitura por espectrofotometria a 725 nm.....</i>	<i>85</i>
<i>Tabela 2. Valores de Precisão e Tendência calculados para cada alimento nos diferentes processos de oxidação da matriz orgânica</i>	<i>86</i>
<i>Tabela 3. Teste F, aplicado para comparação das variâncias entre os métodos..</i>	<i>87</i>
<i>Tabela 4. Valores de "d" e comparação entre os métodos por meio do Teste t de student (emparelhado)</i>	<i>89</i>

LISTA DE FIGURAS

AVALIAÇÃO DE MODIFICAÇÕES NO PREPARO DE AMOSTRAS DE ALIMENTOS PARA DETERMINAÇÃO DE SÓDIO

Figura 1. Curva analítica preparada com soluções padrão de sódio36

Figura 2. Regressão linear entre os resultados do método oficial e do método com peróxido de hidrogênio (A); entre o método oficial e o método com ácido clorídrico (B) e entre o método oficial e o método de centrifugação (C).....46

AVALIAÇÃO DE MODIFICAÇÕES NO PREPARO DE AMOSTRAS DE ALIMENTOS PARA DETERMINAÇÃO DE POTÁSSIO

Figura 1. Curva analítica preparada com soluções padrão de potássio60

Figura 2. Regressão linear entre os resultados do método oficial e do método com peróxido de hidrogênio (A); entre o método oficial e o método com ácido clorídrico (B); e entre o método oficial e o método de centrifugação (C).....70

AVALIAÇÃO DE MODIFICAÇÕES NO PREPARO DE AMOSTRAS DE ALIMENTOS PARA DETERMINAÇÃO DE FÓSFORO

Figura 1. Regressão linear entre os resultados do método oficial e do método com peróxido de hidrogênio (A); entre o método oficial e o método com ácido clorídrico (B); e entre o método oficial e o método de centrifugação (C).....87

RESUMO

SILVA, Jeferson dos Santos; M.Sc. Produção Vegetal. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Março de 2013. MODIFICAÇÃO E VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA PARA DETERMINAÇÃO DE SÓDIO, POTÁSSIO E FÓSFORO EM ALIMENTOS INDUSTRIALIZADOS. Orientadora: Prof^a Karla Silva Ferreira.

Potássio, sódio e fósforo são minerais presentes em inúmeros alimentos. Diferentes de algumas substâncias orgânicas, os seres vivos não conseguem sintetizar minerais, por isso necessitam de fontes alimentares que os forneçam. O rim, principal órgão do sistema excretor, é o responsável por manter os teores séricos de alguns minerais, dentre eles o sódio, o potássio e o fósforo, além de produzir hormônios e realizar outras funções. Entretanto, ao longo da vida pode ocorrer a perda progressiva e irreversível da função deste órgão, caracterizando o quadro de Insuficiência Renal Crônica (IRC). Em indivíduos portadores de IRC a ingestão desses minerais deve ser rigorosamente controlada, pois o acúmulo dos mesmos no sangue pode resultar em sérias complicações para a saúde destes indivíduos e até levá-los ao óbito. A declaração dos teores de alguns minerais nos rótulos dos alimentos industrializados contribuiria para o controle da quantidade ingerida, porém, a legislação brasileira de alimentos estabelece a obrigatoriedade de declaração apenas dos teores de sódio, na informação nutricional. Os teores dos demais minerais podem ser declarados na informação nutricional como informação complementar, se estiverem presentes em quantidade igual ou maior

que 5% da ingestão diária recomendada na porção declarada no rótulo. A maior parte das empresas opta por não dar essa informação, o que dificulta o monitoramento da ingestão desses elementos. A determinação de sódio, potássio e fósforo em alimentos, pelo método oficial, divide-se em duas etapas; preparo das amostras pela ação de ácido nítrico, peróxido de hidrogênio e calor; e leitura por espectrometria de emissão atômica. A primeira etapa do processo torna a análise demorada e onerosa. Desta forma o presente estudo teve como objetivo testar modificações na primeira etapa da metodologia, visando rapidez e redução de uso de reagentes. Para tanto foram testadas três modificações: tratamento das amostras com peróxido de hidrogênio, com ácido clorídrico e apenas trituração e centrifugação. Foram adquiridos 22 alimentos industrializados e as amostras destes alimentos foram preparadas em triplicata pelos métodos propostos e pelo método oficial. A precisão dos métodos foi avaliada por meio da determinação do coeficiente de variação entre os resultados obtidos em três repetições das análises dos alimentos em cada tratamento. A exatidão pela comparação dos resultados obtidos pelas modificações testadas com os do método oficial por meio de regressão linear, tendência, teste F e Teste t de student (emparelhado). Todos os procedimentos foram avaliados quanto à porcentagem de recuperação por meio de adição de analito. Com exceção do tratamento da batata palha com peróxido de hidrogênio, os métodos testados apresentaram coeficiente de variação menor que 10 %, o que significa precisão satisfatória. Quanto à exatidão, apenas o preparo das amostras com peróxido de hidrogênio e ácido clorídrico forneceram resultados semelhantes aos obtidos com o método oficial para as determinações de sódio e potássio. Nenhuma modificação testada apresentou precisão satisfatória para a análise de fósforo. Desta forma concluiu-se que tanto o peróxido de hidrogênio quanto o ácido clorídrico podem ser utilizados no preparo de amostras para a determinação de sódio e potássio nos alimentos estudados.

ABSTRACT

SILVA, Jeferson dos Santos; M.Sc Vegetal Production. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. March, 2013. MODIFICATION AND VALIDATION OF METHODOLOGY FOR DETERMINATION OF SODIUM, POTASSIUM AND PHOSPHORUS IN PROCESSED FOOD. Advisor: Prof. Karla Silva Ferreira.

Potassium, sodium and phosphorus minerals are present in many foods. Different from some organic substances, living beings can not synthesize minerals, so need food sources that provide. The kidney, the main organ of the excretory system is responsible for maintaining serum levels of some minerals, including sodium, potassium and phosphorus, as well as producing hormones and perform other functions. However, lifelong, can occur at progressive and irreversible loss of function of this organ, featuring the box Chronic Renal Failure (CRF). In patients with CRF intake of these minerals should be strictly controlled, because the accumulation of them in the blood can result in serious health complications and even these individuals lead them to death. The statement of the levels of some minerals on the labels of foods help to control the amount ingested, however, the Brazilian food legislation establishes mandatory declaration only the levels of sodium in the nutrition information. The levels of other minerals may be declared in the nutrition information as supplementary information if present in amounts equal to or greater than 5 % of the recommended daily intake in the portion declared on the label. Most companies choose not to give this information, which makes

monitoring the intake of these elements. The determination of sodium, potassium and phosphorus in foods by the official method is divided into two stages, preparation of samples by the action of nitric acid , hydrogen peroxide and heat, and read by atomic emission spectrometry. The first step of the process makes the analysis time consuming and costly. Thus, the present study aimed to test modifications in the first step of the methodology to quickly and reduced use of reagents. Therefore, we tested three modifications: sample treatment with hydrogen peroxide, hydrochloric acid and just grinding and centrifugation. 22 foods were purchased and samples of these foods were prepared in triplicate by the proposed methods and the official method. The accuracy of the method was assessed by determining the coefficient of variation between the results obtained from three replicate analyzes for each treatment of the food. Accuracy by comparing the results obtained by the modifications tested with the official method by linear regression trend, F test and Student's t test (paired). All procedures were evaluated for the recovery percentage by addition of analyte. Except for the treatment of straw potatoes with hydrogen peroxide, the methods tested showed coefficient of variation less than 10 %, which means satisfactory accuracy. As for accuracy, only the preparation of samples with hydrogen peroxide and hydrochloric acid yielded results similar to those obtained with the official method for the determination of sodium and potassium. No modification tested showed satisfactory precision for the analysis of phosphorus. Thus it was concluded that both the hydrogen peroxide and the hydrochloric acid may be used to prepare samples for the determination of sodium and potassium in foods studied.

1. INTRODUÇÃO

O potássio, o sódio e o fósforo são minerais amplamente distribuídos no solo (Taiz e Zeiger, 2004) e são vitais para os seres humanos, por exercerem inúmeras funções no metabolismo dos mesmos (Lehninger, 2002).

Em indivíduos não portadores de doença renal crônica, estes minerais em excesso são facilmente excretados pelos rins. Entretanto, nos indivíduos cujos rins perdem a capacidade de excreção em 80 % a 85 % ou mais, estes elementos podem se acumular no sangue, trazer sérios problemas para a saúde e até levá-los ao óbito (Riella, 1980). O sódio pode provocar alterações nos batimentos cardíacos, o potássio pode provocar parada cardíaca e óbito e o fósforo contribui para descalcificação óssea e calcificação de tecidos moles, inclusive na parede interna das artérias (Riella, 1980).

A maior parte dos minerais, dentre eles o fósforo e o potássio, estão presentes dentro das células, o que dificulta a sua liberação para análises químicas (Guyton e Hall, 2006). Em contrapartida, o sódio é o principal cátion do líquido extracelular (Guyton e Hall, 2006), o que teoricamente facilitaria sua liberação para análise.

As metodologias tradicionais para a análise de minerais contém uma etapa de preparo das amostras que consiste em destruir toda a matéria orgânica presente nas mesmas para liberação dos minerais, que são solubilizados em água deionizada. Esta etapa normalmente é demorada e feita com ácidos fortes

ou calcinação em mufla à temperatura de, aproximadamente, 550°C (Zenebon, 2008).

A tabela brasileira de composição química de alimentos (NEPA, 2011) apresenta a composição de ampla variedade de alimentos, principalmente alimentos não industrializados.

A legislação brasileira de rotulagem de alimentos determina apenas a obrigatoriedade da declaração do valor energético e teores de proteína, carboidrato, gordura total, gordura saturada, gordura trans, fibra e sódio (Brasil, 2003a), visando principalmente o fornecimento de informações para que o consumidor escolha o alimento mais adequado para sua dieta.

A legislação obriga também a declaração da presença ou não de glúten, visando proteger os portadores de doença celíaca, assim como a presença de sódio, visando principalmente os portadores de doenças cardiovasculares (Brasil, 2003b). Mas não há obrigatoriedade da declaração dos teores de fósforo e de potássio, o que auxiliaria no monitoramento das dietas dos portadores de insuficiência renal crônica.

A dieta dos portadores de insuficiência renal crônica é monótona e difícil de ser seguida em razão das várias restrições nutricionais e desconhecimento da composição mineral de muitos alimentos. A ausência da informação dos teores de fósforo e potássio nos rótulos dos alimentos industrializados constitui um problema para estes indivíduos, dificultando a seleção dos mesmos e possibilitando o consumo de alimentos contraindicados. Desta forma, é importante o conhecimento de seus teores em alimentos industrializados, visando aumento das opções de alimentos e melhor controle da dieta dos portadores de doença renal crônica.

Desse modo, este trabalho teve como objetivo testar e avaliar novos procedimentos para a liberação de potássio, sódio e fósforo da matriz orgânica, buscando a redução do uso de reagentes, conseqüentemente do custo, e a diminuição do tempo para execução das análises desses minerais em alimentos. Isso poderia contribuir para a implementação de normas que tornassem obrigatória a declaração dos teores de potássio e fósforo nos rótulos dos alimentos industrializados, o que beneficiaria os portadores de insuficiência renal crônica, além de outros grupos populacionais.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 FISILOGIA RENAL

O corpo humano é composto por vários sistemas com suas respectivas funções, dentre estes o sistema urinário, que é composto pelos rins (direito e esquerdo) responsáveis pela formação da urina; o cálice, as pélvis renais e o ureter, que são canais condutores dos líquidos previamente filtrados; e a bexiga que desempenha papel de reservatório e regula a eliminação da urina (Latarjet e Liard, 2008).

Os rins são órgãos localizados abaixo da caixa torácica, que possuem tamanho de um pulso, formato de feijão e três regiões principais: córtex (região mais externa), medula (região central) e papila (região mais interna da medula) (Costanzo, 2007).

Além de serem determinantes para manutenção do volume e da composição dos líquidos corporais, regulando a excreção de água e solutos, asseguram a eliminação de substâncias em excesso ou nocivas e atuam como órgãos reguladores e excretores, consecutivamente (Latarjet e Liard, 2008).

Para tanto, os rins são compostos por unidades funcionais denominadas néfrons. Cada rim é detentor de, aproximadamente, um milhão de néfrons, formados pelos glomérulos e túbulos renais, que são pequenas estruturas

responsáveis pela ultra filtração sanguínea em várias etapas que resultarão na formação da urina (Guyton e Hall, 2006).

O glomérulo é constituído pelos capilares glomerulares que são envolvidos pelo espaço de Bowman. A passagem do sangue pelos capilares glomerulares até o espaço de Bowman é a primeira etapa da formação da urina, processo denominado ultra filtração do sangue. Após esta etapa o néfron segue como túbulos renais circundados por tecidos epiteliais especializados em reabsorver e secretar líquidos (Costanzo, 2007).

Existem dois tipos de néfrons distintos por suas localizações, são eles os néfrons corticais superficiais, localizados na parte interna do córtex renal e que possuem menores taxas de filtração quando comparados com os néfrons justamedulares, que se localizam próximos ao limite corticomedular e possuem glomérulos maiores e, conseqüentemente, taxas de filtração mais elevadas (Guyton e Hall, 2006).

O sangue chega ao rim pela artéria renal que se ramifica em artérias de menores calibres e subdivide em arteríolas que o encaminharão aos capilares glomerulares. Nesta etapa ocorre a ultra filtração do sangue. Após findar esta etapa o sangue passa por um grupo de arteríolas que o conduzirão à rede de capilares peritubulares, responsáveis pela reabsorção e a secreção de solutos e água, neste processo o sangue flui por veias menores e depois é liberado ao fluxo sanguíneo pela veia renal (Costanzo, 2007).

A água é o solvente interno responsável por 50 % a 70 % do peso corporal. Desta forma a quantidade de água e o peso corporal tornam-se ferramentas importantes para os profissionais da saúde acompanharem a atividade dos rins (Riella, 1980). Este líquido é distribuído em dois compartimentos principais, o líquido intracelular (LIC) e o líquido extracelular (LEC), em quantidades aproximadas a dois terços e um terço, respectivamente (Costanzo, 2007).

Presentes no líquido intracelular destacam-se como principais cátions o potássio (K^+) e o magnésio (Mg^{+}), além dos principais ânions que são as proteínas e os fosfatos orgânicos. No Líquido extracelular destaca-se como principal cátion o sódio (Na^+) e como ânions o cloreto (Cl^-) e o bicarbonato (HCO_3^-) (Costanzo, 2007).

De uma forma geral, a função do potássio intracelular assemelha-se à função do sódio extracelular com relação à água, ou seja, cada um, em seus líquidos, é o principal determinante da osmolalidade do seu compartimento (Riella, 1980).

Cerca de 95 % de todo potássio presente no corpo humano é intracelular e os demais 5 % estão distribuídos pelo líquido extracelular (Guyton e Hall, 2006). Este é um dos motivos que justificam a dificuldade de determinação do potássio nos alimentos.

Apesar do organismo contar com estas formas de manutenção do equilíbrio de potássio e de existirem outros mecanismos capazes de eliminar excessos de resíduos como a pele que consegue eliminar potássio, sódio entre outros minerais pelo suor, o mais eficiente é o rim, que é o órgão responsável pela maior quantidade de excreção, além de possuir um alto poder de adaptação às mais variadas concentrações de minerais encontrados no organismo (Guyton e Hall, 2006).

2.2. INSUFICIÊNCIA RENAL CRÔNICA (IRC)

A insuficiência renal crônica atualmente apontada como uma epidemia mundial, possui como principais grupos de risco os portadores de hipertensão arterial, diabetes mellitus e indivíduos com históricos familiares desta doença (Bortolotto, 2008; Romão Jr, 2004).

A insuficiência renal pode se manifestar devido a problemas congênitos, infecções urinárias ou outras causas que venham a provocar a diminuição de néfrons ativos nos rins (Guyton e Hall, 2006). Ela consiste em perdas progressivas das funções renais e seu estágio mais avançado é denominado Insuficiência Renal Crônica (IRC) caracterizada pela perda semi-total das funções dos rins, resultando em alterações maléficas à saúde do indivíduo (Romão Jr, 2004).

Ao contrário da maioria das manifestações prejudiciais à saúde a IRC não é perceptível em sua fase inicial, o que dificulta o diagnóstico. Geralmente, os portadores detectam a irregularidade quando já possuem a insuficiência em fases avançadas, muitos destes apenas quando grande parte da função renal foi afetada (NKF, 2011).

Vários exames conseguem detectar alterações no funcionamento dos rins, sendo os mais comuns o exame de proteína na urina e creatinina no sangue, ambos indicativos de problemas renais (NKF, 2011). Para tanto, a realização de exames periódicos é importante para identificação de possíveis alterações renais.

Além dos métodos preventivos convencionais, Salgado Filho e Brito (2006) destacaram a importância da criação de grupos multidisciplinares com foco nos portadores de doenças crônicas; objetivando melhoras na qualidade de vida desses indivíduos, sua conscientização sobre a necessidade da manutenção de suas dietas e o auxílio à adoção de um novo estilo de vida.

Os tratamentos direcionados à IRC baseiam-se em dietas balanceadas e novos hábitos alimentares com o interesse de prolongar o funcionamento do rim (Castanheira et al, 2005).

Em casos crônicos, o tratamento adotado é a submissão do paciente a sessões de diálise, que podem ser realizadas de duas formas: diálise peritoneal ou hemodiálise (Castanheira et al, 2005).

A diálise peritoneal é a drenagem do sangue dentro do corpo do paciente com a ajuda de uma solução de diálise que é inserida dentro da cavidade abdominal e depois drenada. A hemodiálise consiste na filtração do sangue por meio de um equipamento conhecido como rim artificial ou máquina de diálise (Castanheira et al, 2005).

Na hemodiálise, a transferência de solutos ocorre entre o sangue e a solução de diálise através de uma membrana semi-permeável artificial (filtro de hemodiálise ou capilar), por três mecanismos: a difusão (transferência de massa de um local de maior concentração para um de menor concentração), a ultra filtração (remoção de líquidos através de um gradiente de pressão hidrostática) e a convecção (perda de solutos na mesma direção do fluxo de líquidos através da membrana) (Daugirdas, 2003).

Na diálise peritoneal aplicam-se dois princípios da hemodiálise, a difusão e a ultra filtração, a difusão é o principal mecanismo pelo qual remove-se os produtos tóxicos do sangue e tecidos circunjacentes e a ultra filtração é o mecanismo pelo qual se remove líquido na diálise peritoneal, sendo também responsável por uma significativa percentagem da remoção total de solutos (Daugirdas, 2003).

As principais restrições nutricionais na insuficiência renal crônica estão relacionadas à presença de proteína, sódio, potássio e fósforo nas dietas.

A perda progressiva de massa renal funcionante leva à retenção de fósforo como uma das manifestações iniciais dessa patologia. Essa retenção de fósforo facilita o desenvolvimento do hiperparatireoidismo secundário. O controle da hiperfosfatemia presente na IRC inclui intervenções alimentares, uso de quelantes e a remoção de fósforo pelo tratamento dialítico (Teixeira e Riella, 2001a).

A capacidade de excreção de sódio não é alterada até que a taxa de filtração glomerular caia em torno de $15 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. Em excesso, o sódio pode elevar a pressão arterial dos pacientes renais crônicos. Para tanto, a ingestão de sódio deve ser acompanhada pela presença ou não de sinais de expansão de volume extracelular (Nascimento e Riella, 2001), visto que estas são as primeiras manifestações que indicam alterações cardiovasculares.

Outro problema comumente enfrentado é a desnutrição na IRC, sendo um fator importante e reversível, que contribui para altas taxas de mortalidade desses indivíduos. Apesar de evidências clínicas, o *turnover* proteico nesses pacientes não parece ser alterado, isto porque insuficientes renais sem restrições alimentares apresentam tanto captação quanto liberação de fenilalanina mais elevadas, quando comparados a indivíduos normais (Teixeira e Riella, 2001b).

2.3. INCIDÊNCIA DE INSUFICIÊNCIA RENAL CRÔNICA

Em âmbitos internacionais, os Estados Unidos se destacam por possuírem o melhor sistema de dados relacionados à Insuficiência Renal Crônica (Sesso et al, 2008), o que lhes permitem um acompanhamento mais fidedigno da doença no país.

Divergindo de dados obtidos em outros países, nos Estados Unidos o número de insuficientes renais crônicos tem diminuído ao longo dos anos, enquanto a incidência de diabetes e problemas cardíacos tem aumentado (USDRS, 2011).

Dentre a população americana com idade maior ou igual a 60 anos, 26 % possuem taxas de filtração glomerulares menores que $60 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ caracterizando insuficiência renal crônica de grau 3-5, enquanto 19,7 % apresentaram relações

de albumina/creatinina na urina maior ou igual a 30 mg.mL^{-1} , indicando falhas na atuação dos rins (USDRS, 2011).

Um dado preocupante com relação às pessoas inseridas nos grupos de risco da manifestação de insuficiência renal crônica é a alta relação entre estes pacientes e as taxas de relação albumina/creatinina no sangue (USDRS, 2011), o que ressalta a importância deste dado para diagnóstico da doença.

Apesar da insuficiência renal ser conhecida e estudada há algum tempo, o número de pacientes diagnosticados aumenta ao longo dos anos (Romão Jr, 2004), pois na realidade ainda faltam estudos concretos para aumentar a sobrevida dos pacientes e identificar previamente alterações renais.

Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, em 2010 a população brasileira alcançou o expressivo número de 190.732.694 pessoas (IBGE, 2011). Naquele mesmo ano, a Sociedade Brasileira de Nefrologia (SBN, 2012) registrou em seu censo o número de 92.091 portadores de insuficiência renal crônica, número superior aos encontrados nos 5 censos anteriores, que registraram 65.121 em 2005; 70.872 em 2006; 73.605 em 2007; 87.044 em 2008 e 77.589 em 2009. Analisando os números fornecidos pelo censo, nota-se o crescente número de casos ao longo dos anos.

O Brasil possui uma estrutura formada de 682 unidades renais cadastradas na SBN, das quais 634 possuem o programa crônico de diálise ativo, todas com equipamentos para propiciar uma extensão da sobrevida do dialítico (SBN, 2012).

O Sistema Único de Saúde (SUS) abrange 85,8 % do total dos pacientes em diálise e os demais 14,2 % são atendidos por outros sistemas de saúde, desta forma a maioria dos pacientes conseguem seus tratamentos em convênios financiados pelo governo (SBN, 2012).

Apesar da Insuficiência Renal Crônica não ser uma doença específica ao gênero do paciente, 57 % dos indivíduos que se encontram em diálise são homens e 43% mulheres (SBN, 2012), o que pode estar relacionado ao hábito alimentar e aos maiores cuidados relacionados à saúde por parte das mulheres.

Dentre os motivos apontados como causadores da Insuficiência Renal Crônica, destacam-se: a hipertensão em 35,2 % dos casos e o diabetes mellitus em 27,5 % dos casos (SBN, 2012), confirmando a influência que estes problemas de saúde exercem sobre o funcionamento dos rins.

2.4 SÓDIO

O nome sódio origina-se da soda cáustica, substância da qual foi obtido por Humphry Davy, em 1807, ao fazer a eletrólise da soda cáustica fundida (Peixoto, 1999).

Durante muitos anos, o sódio metálico era obtido pela redução do carbonato de sódio com carbono; no entanto, com o barateamento da eletricidade ele passou a ser obtido pelo método original de Davy com algumas modificações, substituindo a soda cáustica por uma mistura de NaCl (Cloreto de Sódio) com Na_2CO_3 (Carbonato de Sódio) ou CaCl_2 (Cloreto de Cálcio) (Peixoto, 1999).

Quando colocados no fogo, esses sais conferem à chama uma cor amarela característica dos íons de sódio, que são excitados com absorção de energia e em seguida retornam ao estado fundamental emitindo luz amarela (Peixoto, 1999).

Muitas reações no organismo dos seres vivos envolvem a permeabilidade e a seletividade das membranas celulares e são controladas pelo equilíbrio relativo dos íons de sódio e potássio (Peixoto, 1999). O sódio também participa da condução de impulsos nervosos e controle da contração muscular (Lehninger, 2002).

A legislação brasileira de alimentos, por meio da Resolução 360, de 23 de dezembro de 2003, discorre sobre rotulagem nutricional de alimentos embalados e determina 2400 miligramas, como valor diário de referência para a ingestão diária de sódio (Brasil, 2003a).

A portaria nº 54, de 12 de novembro de 2012, dispõe o regulamento técnico sobre informação nutricional complementar e estabelece os atributos baixo (máximo de 80 mg); muito baixo (máximo de 40 mg) e não contém (máximo de 5 mg), de sódio em 100 gramas / mililitros do alimento ou por porções quando essas são maiores que 30 g ou mL. Para porções menores ou iguais a 30 g ou 30 mL a condição deve ser atendida em 50 g ou mL. (Brasil, 2012).

Essa legislação também classifica como reduzido teor de sódio os alimentos que satisfaçam as condições de terem teores reduzidos de no mínimo 25 % do conteúdo de sódio; desde que o alimento referência não atenda as condições estabelecidas para o atributo “baixo em sódio” (Brasil, 2012).

Os alimentos industrializados, de uma forma geral, possuem altas concentrações de sódio (NEPA, 2011) devido, principalmente, às quantidades de sódio adicionadas durante o processamento como é o caso dos derivados lácteos e embutidos cárneos.

Por outro lado, os alimentos in natura sofrem alterações em suas concentrações de sódio por vários fatores entre eles: o solo de cultivo, variedade, período de colheita e metabolismo da planta (Taiz e Zeiger, 2004).

Fato comprovado por Ferreira et al. (2004) que encontraram teores distintos de sódio em diversas amostras de feijão, arroz, banana, uva, maçã, macarrão, farinha, entre outros alimentos, de acordo com a variedade, procedência ou marca analisada.

Na tabela 1, são apresentadas diferenças de concentrações de sódio de acordo com a forma de fabricação dos produtos.

Tabela 1. Teores de sódio presentes em alguns alimentos de amplo consumo

Alimentos	Concentrações de Sódio (mg.100 g ⁻¹)
Queijo tipo mussarela	581
Queijo parmesão	1844
Queijo prato	580
Queijo requeijão cremoso	558
Mortadela	1212
Salame	1574
Hambúrguer	869
Linguiça de porco	1176
Batata chips industrializada	607
Biscoito salgado cream cracker	854
Macarrão instantâneo	1516
Torrada de pão francês	829
Pão de queijo assado	773

Fonte: NEPA (2011)

O íon sódio (Na⁺) e seus ânions associados, cloreto (Cl⁻) e bicarbonato (HCO₃⁻) são os principais solutos do líquido extracelular corporal (LEC) (Costanzo, 2007).

A quantidade de Na^+ presente no LEC influencia seu volume, desta forma um conceito útil para entender a regulação do balanço de Na^+ é o volume sanguíneo arterial efetivo (VSAE) (Costanzo, 2007).

Em indivíduos saudáveis, quando há uma ingestão elevada de sódio, ocorre o aumento do volume do líquido extracelular, do volume sanguíneo e os rins aumentam a excreção de sódio para que a concentração desse elemento retorne ao normal. Em contrapartida, quando a ingestão de sódio é baixa, ocorre a diminuição do volume do LEC, do volume sanguíneo e os rins diminuem a excreção de sódio (Costanzo, 2007).

Geralmente, nesses casos recomenda-se a restrição de sódio, o mesmo acontece quando são identificados sinais de expansão do volume sanguíneo, como edemas e hipertensão arterial (Teixeira e Riella, 2001a).

2.5. POTÁSSIO

O potássio, representado quimicamente pela letra K, é um mineral monovalente de origem natural, com densidade de aproximadamente 862 Kg.m^{-3} , ponto de fusão de $64 \text{ }^\circ\text{C}$ e massa atômica de 39 g (Oliveira e Souza, 2001).

Foi descoberto pelo pesquisador Humphry Davy em 1807, sendo o primeiro metal separado por eletrólise, possui a menor densidade dentre os metais alcalinos e alta disponibilidade. (Peixoto, 2004).

Esse mineral é essencial para os seres vivos, participando do metabolismo de desenvolvimento, atuando nas membranas celulares como transmissores de impulsos eletroquímicos, no equilíbrio da atividade de alimentação e remoção de subprodutos (Lehninger, 2002)

A Resolução n°. 269, de 22 de setembro de 2005, discorre sobre as recomendações para ingestão diária de proteína, vitaminas e minerais para atender às necessidades nutricionais da maior parte dos indivíduos e grupos de pessoas de uma população sadia (Brasil, 2005), entretanto não existem padrões estabelecidos na legislação para ingestão de potássio.

Desta forma, muitas das dietas brasileiras são formuladas com base no padrão de ingestão diária recomendado nos Estados Unidos, que é 4700 mg.dia^{-1} para pessoas adultas e saudáveis (NAS, 2004).

Segundo D'Elia et al (2011), que forneceram uma dieta rica em potássio para pacientes com doenças cardiovasculares, o potássio realiza papel importante na prevenção e combate destas doenças.

Os alimentos vegetais são as principais fontes de potássio (NEPA, 2011), podendo suas concentrações serem alteradas de acordo com o solo de cultivo, variedade, período de colheita e metabolismo da planta (Taiz e Zeiger, 2004).

Bernardi et al (2005) observaram que o alface submetido ao tratamento com enriquecimento de potássio apresentou maior produção e qualidade visual em relação à alface testemunha, cultivada em solução nutritiva com concentrações normais de potássio para esta planta.

Ferreira et al (2004) encontraram teores distintos de potássio entre diversas amostras de feijão, arroz, banana, uva, maçã, macarrão e farinha de mandioca e trigo, entre outros alimentos de acordo com a variedade, procedência ou marca analisada.

Ao longo do ciclo de desenvolvimento das espécies, ocorre o desgaste do solo devido à ação de fatores edafoclimáticos, topografia e manejo, problema este facilmente corrigido por meio de adubação e adição de macro e micro nutrientes para garantir a eficácia do plantio de novas espécies (Bertol et al, 2007; Piovesan et al, 2009). Isto certamente influencia os teores contidos nos alimentos e contribui para que haja uma alta variação.

Existem alimentos que são conhecidos por conterem elevadas concentrações de potássio, como é o caso do feijão, farinha de soja e tamarindo, que possuem concentrações de potássio superiores a 470 mg por 100 g do alimento (NEPA, 2011), 10 % da ingestão diária recomendado nos Estados Unidos (NAS, 2004). Na tabela 2, são apresentados teores de potássio em alguns alimentos.

Tabela 2. Teores de potássio presentes em alguns alimentos de amplo consumo

Alimentos	Concentrações de Potássio (mg.100 g ⁻¹)
Farinha de soja	1922
Tamarindo cru	723
Romã crua	485
Farinha láctea	366
Maracujá cru	338
Cenoura crua	315
Macaúba crua	306
Tomate com semente	222
Feijão carioca cru	1352
Feijão preto cru	1416
Feijão fradinho cru	1083
Banana prata	182
Farinha de trigo	151
Batata cozida	148
Pão Francês	142
Abóbora Moranga crua	125
Mandioca cozida	100
Canjica branca crua	93
Pão de Queijo assado	93

Fonte: NEPA (2011)

Alguns alimentos quando submetidos a processos de cocção têm suas concentrações de potássio reduzidas (Copeti et al, 2010; Cuppari et al, 2004).

Cuppari et al (2004) submeteram 17 vegetais à 2 cocções e perceberam que após a primeira cocção 15 vegetais atingiram reduções de potássio de 80 % e 91 % e, em somente dois deles, entre 58 % e 65 %; outro dado importante observado foi que a maior parte da redução (59 %) ocorreu durante a primeira cocção.

Já Copeti, et al (2010) perceberam que o remolho dos vegetais *in natura* em água por 4 horas e os tratamentos com cocção foram eficientes para a redução dos teores de potássio.

Existem dois problemas relacionados à presença de potássio. A depleção de potássio que é a diminuição dos níveis de potássio no organismo, conhecida como hipocalemia; e o excesso de potássio que é o aumento das concentrações plasmáticas de potássio, conhecido como hipercalemia (Riella, 1980).

Em indivíduos sadios quando há a ocorrência da hipocalcemia rapidamente os rins se regulam para diminuir as quantidades de excreção de potássio, ocorrendo a reabsorção pelos segmentos para suprir a escassez de potássio no organismo (Guyton e Hall, 2006). Geralmente estes quadros são seguidos de perdas elevadas de potássio pelo corpo, como em diarreia e sudorese intensa (Riella, 1980).

Porém, em indivíduo com danos nos rins, esta situação pode se agravar, pois a reabsorção não ocorrerá e este paciente pode ser surpreendido por câibras ou até mesmo insuficiência cardíaca (Riella, 1980; Guyton e Hall, 2006; Costanzo, 2007); raramente esta deficiência é uma urgência, mas quando necessário recomenda-se o uso de medicamentos para reposição de potássio (Riella, 1980).

Em contrapartida, a hipercalemia exige um aumento da excreção de potássio, elevando sua secreção pelos túbulos distais e coletores, podendo ultrapassar as quantidades de potássio no filtrado glomerular (Guyton e Hall, 2006).

Geralmente, quando ocorrem estes tipos de problemas, o indivíduo se encontra com danos renais, pois os rins possuem alta capacidade de excreção de potássio em situações de excesso (Riella, 1980).

Em pacientes com IRC, nos quais os rins se encontram em mau ou sem funcionamento, é fundamental a manutenção de dietas com baixas quantidades de potássio para evitar o acúmulo, que nestes casos pode desencadear inúmeras complicações como fraqueza e paradas cardíacas (Riella, 1980).

O tratamento recomendado consiste na submissão do paciente a periódicas diálises para filtragem do sangue (Costanzo, 2007; Guyton e Hall, 2006).

2.6. FÓSFORO

O fósforo é um elemento químico de origem não metálica, disponível na natureza como fosfatos e outros sais (Souza, 2001), representado quimicamente pela letra P e inflamável (Peixoto, 2002).

O fósforo foi descoberto em 1669, por Hennig Brand, alquimista alemão que isolou este elemento da urina e somente 100 anos mais tarde foi reconhecido como parte essencial dos ossos pelo químico sueco Gahn (Mcdowell, 2012).

O Brasil encontra-se entre os países detentores de depósitos ígneos de fosfatos, formados a partir do resfriamento do magma, assim como África do sul, Finlândia e Rússia (Souza, 2001).

As reservas do país encontram-se divididas entre os estados de Minas Gerais com 73,8 %, Goiás com 8,3 % e São Paulo 7,3 %, perfazendo um total de 89,4 %, e o restante encontra-se distribuído entre os estados de Santa Catarina, Ceará, Pernambuco, Bahia e Paraíba (Souza, 2001).

Os produtos comerciais do fósforo são: ácido fosfórico, concentrado de fósforo e produtos intermediários para fertilizantes. Apesar do Brasil possuir reservas deste mineral, no cenário nacional, o consumo supera a produção. Desta forma o Brasil é um grande importador de derivados fosfóricos para suprir as necessidade do mercado interno (Souza, 2001).

Além de sua vasta aplicação, o fósforo possui alto valor comercial quando nas formas de fosfatos, ácido fosfórico e intermediário para uso em fertilizantes. (Souza, 2001).

Este mineral, além de participar de inúmeras reações do metabolismo humano e ser o principal ânion do líquido intracelular (Guyton e Hall, 2006), é parte fundamental da estrutura dos fosfatos orgânicos como ATP (Adenosina Trifosfato), ADP (Adenosina Difosfato) e a AMP (Adenosina Monofosfato) que são moléculas altamente energéticas (Lehninger, 2002)

Silva et al (2006) utilizaram o fósforo na indústria de bebidas como antimicrobiano e obtiveram resultados satisfatórios quanto a sua utilização.

A legislação brasileira de alimentos determina como padrão de ingestão para indivíduos adultos saudáveis 700 mg.dia⁻¹, para atender às necessidades nutricionais. Além deste teor existem padrões distintos para crianças, lactentes, gestantes e lactantes, respeitando suas fases (Brasil, 2005).

Segundo a legislação sobre informação nutricional complementar, um alimento pode ser classificado como fonte de vitaminas e minerais desde que forneça, em 100 gramas ou 100 mL em pratos preparados conforme o caso ou por porção, no mínimo, 15 % da IDR; assim como pode ser classificado como alto conteúdo, caso contenha 30 % da IDR, em 100 gramas ou 100 mL em pratos preparados conforme o caso ou por porção (Brasil, 2012).

Alguns alimentos possuem concentrações elevadas de fósforo como: carne, pescado, ovos e derivados lácteos, porém a cultivar ou espécie destes

alimentos pode provocar diferenças de concentrações (NEPA, 2011). A tabela 3 apresenta alguns alimentos de diferentes variedades e respectivos teores de fósforo.

Tabela 3. Alguns alimentos, suas variedades e respectivos teores de fósforo

Alimentos	Concentrações de Fósforo (mg.100 g ⁻¹)
Batata baroa crua	45
Batata inglesa crua	39
Batata doce crua	36
Banana nanica crua	27
Banana prata crua	22
Banana ouro crua	22
Carne de cupim assado	212
Carne de contra filé	203
Carne de músculo cozido	176
Carne de acém moído	158
Queijo parmesão	745
Queijo mussarela	470
Queijo ricota	162

Fonte: NEPA (2011)

Existem duas complicações relacionadas às concentrações de fósforo: a hiperfosfatemia, quando este se encontra em excesso no sangue e a hipofosfatemia, quando em baixas concentrações (Teixeira e Riella, 2001a).

A hiperfosfatemia caracteriza-se por níveis de fósforo sérico acima de 4,5 mg.dL⁻¹. O fósforo deve ser restringido na dieta dos pacientes em hemodiálise, pois a hiperfosfatemia contribui para o desenvolvimento do hiperparatireoidismo secundário e doença óssea metabólica, podendo resultar na calcificação de tecidos moles (Teixeira e Riella, 2001a). O excesso de fósforo em insuficientes renais crônicos pode ocorrer com certa facilidade, devido a baixa excreção e a ampla distribuição deste mineral nos alimentos (Riella, 1980).

A hipofosfatemia não é frequente, pois, na insuficiência renal crônica há uma tendência a hiperfosfatemia. No entanto, a administração de cálcio ou antiácidos que se ligam ao fósforo no intestino, pode causar hipofosfatemia

gerando fraqueza muscular, anorexia e distúrbios neurológicos (Riella, 1980). Em contrapartida o excesso de quelantes a base de cálcio podem desencadear a hipercalemia e resultar na deposição de cálcio em tecidos moles, provocando o enrijecimento dos mesmos (Teixeira e Riella, 2001a).

Já em indivíduos sadios, cujos rins encontram-se com suas funções ativas, estas manifestações não são comuns, ocorrendo apenas como consequência por perdas excessivas deste mineral como, por exemplo, na diarreia (Guyton e Hall, 2006).

2.7. LEGISLAÇÃO SOBRE ROTULAGEM DE ALIMENTOS

A legislação brasileira define rótulo como toda inscrição, legenda ou imagem, ou toda matéria descritiva ou gráfica, escrita, impressa, estampada, gravada, gravada em relevo, litografada ou colada sobre a embalagem do alimento (Brasil, 2002). Tais informações destinam-se a identificar a origem, a composição e as características nutricionais dos produtos, permitindo seu rastreamento. Portanto, o rótulo é um elemento fundamental para a saúde pública (Câmara et al., 2008).

A rotulagem de alimentos está fundamentada no decreto-lei nº 986, de 21 de outubro de 1969, que institui normas básicas sobre alimentos, tem como amparo legal os atos institucionais nº 5 e nº 16 (o instrumento decreto-lei foi utilizado devido ao país estar em um regime de exceção) (Brasil, 1969; Câmara, 2007).

A legislação brasileira de rotulagem tem por base as diretrizes e determinações do *Codex Alimentarius*, código sobre alimentos mantido pelas duas maiores entidades internacionais no ramo alimentício Organização Mundial da Saúde e Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (FAO/WHO, 2007).

O *Codex Alimentarius* tem como objetivo a proteção da saúde do consumidor, por meio de diretrizes relativas ao plantio, à produção e à comercialização de alimentos, e serve como orientação para cerca de 165 países membros, entre eles o Brasil, formularem suas legislações referentes a alimentos (Câmara et al., 2008).

As principais legislações do ministério da saúde (MS) em vigor sobre rotulagem de alimentos são a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 259/2002, que dispõe sobre a rotulagem de alimentos embalados (Brasil, 2002), a RDC nº 360/2003 que dispõe sobre a rotulagem nutricional de alimentos embalados (Brasil, 2003a) e a RDC nº 54/2012 que dispõe sobre a informação nutricional complementar (Brasil, 2012). Também é importante a Portaria 29 de 1998, referente à rotulagem de alimentos para fins especiais (Brasil, 1998), bem como a Lei nº 10.764, que destaca a obrigatoriedade da declaração “contém glúten” ou “não contém glúten” (Brasil, 2003b). Esse conjunto de normas são importantes ferramentas que regulamentam as informações referentes aos produtos disponíveis no mercado.

Com o objetivo de auxiliar o consumidor na escolha de seus alimentos, foram proibidas algumas informações como: sinais, denominações, símbolos, emblemas, ilustrações, atribuir ao produto efeitos e qualidades não consolidadas, entre outros que possam induzir o consumidor ao equívoco (Brasil, 2002).

Atualmente, observa-se um novo perfil de consumidor cada vez mais exigente, o que influenciou uma evolução na legislação brasileira nos últimos anos (Gomes e Silva, 2004; Ferreira e Lanfer-Marquez, 2007).

A Rotulagem Nutricional é toda descrição destinada a informar ao consumidor sobre a composição e propriedades nutricionais dos alimentos (Brasil, 2003a). O objetivo principal, instituído pelo Ministério da Saúde, é prover informações que permitam ao consumidor a escolha de alimentos mais adequados a uma dieta saudável, além de ter um cunho educativo (Gomes e Silva, 2004; Abrantes, 2007).

A informação nutricional deve conter, obrigatoriamente, o valor energético e as quantidades de proteínas, carboidrato, gordura total, gordura saturada, gordura trans, fibra dietética e sódio na porção do alimento, que deve ser expressa em grama ou mililitro e na medida caseira correspondente, utilizando utensílios domésticos como colher, xícara, dentre outros. As vitaminas e os demais minerais podem ser declarados desde que estejam presentes em quantidades cujo percentual de ingestão diária recomendada – %IDR – seja igual ou superior a 5 % na porção indicada no rótulo (Brasil, 2003a).

Hurt (2002) reportou que, na Europa, o crescimento do interesse público nas relações entre dieta e saúde, juntamente com o aumento dos problemas de

saúde pública, foram fatores que levaram a Comissão Europeia a propor uma padronização da legislação sobre rotulagem de alimentos.

Porém, é importante ressaltar que as informações contidas na rotulagem nutricional devem apresentar terminologias significativas e de fácil entendimento, pois a padronização e o formato simples ajudam o consumidor a utilizar a rotulagem e comparar alimentos. Desta forma, compreende-se que a rotulagem nutricional pode não ser efetiva em situações onde o nível educacional é inadequado (Wijngaart, 2002).

Infelizmente, os órgãos responsáveis por elaborar as legislações referentes aos alimentos ainda não se atentaram para a insuficiência renal crônica, que é uma doença cuja principal restrição está relacionada à ingestão de sódio, potássio e fósforo; sendo apenas o sódio citado na legislação.

A falta de declaração dos teores de potássio e fósforo na informação nutricional, muitas vezes, resulta na ingestão de alimentos que não deveriam ser consumidos por estes indivíduos.

2.8. METODOLOGIAS PARA DETERMINAÇÃO DE MINERAIS EM ALIMENTOS

O estudo dos minerais teve um grande avanço a partir da década de 70, com o desenvolvimento de técnicas analíticas mais sensíveis e precisas, que permitiram não apenas a quantificação de elementos encontrados como traços em alimentos e fluidos biológicos, como também, desvendar alguns dos mecanismos com que estes exercem suas funções no organismo (Cozzolino, 1997).

Os minerais podem ser determinados pelas técnicas de:

- espectrometria, cuja fonte de radiação emite até a região do ultravioleta do espectro. Desta radiação selecionam-se os comprimentos de onda específicos e definidos que constituem bandas, com largura menor que 1 nm (Vogel, 1992).
- volumetria (titrimetria) com indicadores visuais ou potenciométricos. Nas titulações com indicadores visuais, o término da titulação é percebido por alguma modificação física provocada pela adição de um reagente auxiliar (indicador) e nas titulações potenciométricas, as medições se fazem enquanto

a titulação ocorre e o ponto de equivalência será revelado por uma abrupta mudança do potencial no gráfico da leitura contra o titulante (Vogel, 1992).

- voltametria de redissolução anódica é a relação entre a voltagem, a corrente e o tempo, durante a eletrólise numa célula (Vogel, 1992).

A escolha da técnica analítica depende principalmente do elemento a ser analisado, da concentração na amostra, do número de amostras, do custo envolvido, do tempo disponível para emissão de resultados, além da exatidão e precisão requeridas (Zenebon; Pascuet e Tiglia, 2008).

De uma forma geral, a determinação de minerais é iniciada com a destruição da matéria orgânica da amostra, podendo ser realizada por via úmida, com a utilização de ácidos, ou via seca, por meio de calcinação da amostra em mufla (Zenebon; Pascuet e Tiglia, 2008).

Desde 1950 quando foi introduzida a técnica fotométrica para determinação de minerais, que pesquisadores despendem esforços para aprimorá-la e adaptá-la aos mais variados tipos de alimentos (Berry et al, 1946; Schrenk e Glendening, 1955; Porter e Wyld, 1955; White, 1952; Spector, 1955; Dubbs, 1952).

A metodologia oficial para determinação de minerais, segundo a Association of Official Analytical Chemists determina a lavagem de vidraria por imersão em ácido, para que seja eliminado todo o mineral presente, enxágue em água desmineralizada e posterior secagem. O preparo da amostra é por via úmida, por meio da ação de ácido nítrico (HNO_3) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) sob alta temperatura, até que ocorra oxidação total da matéria orgânica. Após esta etapa o resíduo mineral presente no recipiente deve ser diluído até o volume exato e por fim submetido à leitura. Inicialmente prepara-se soluções padrões do elemento que se deseja analisar, calibra-se o equipamento com estas soluções e por fim faz-se a leitura das amostras desejadas em espectrometria de emissão atômica por plasma de argônio indutivamente acoplado (ICP-OES) (AOAC, 2000).

O tempo longo e a necessidade de reagentes de alto custo são os principais pontos negativos deste preparo, embora permita um melhor acompanhamento da oxidação da amostra.

Outra forma de preparo das amostras é por via seca, processo este realizado pela combustão da matéria orgânica em mufla, a temperatura de aproximadamente 550 °C por um período de 5 a 6 horas (Zenebon; Pascuet e Tiglea, 2008). O tempo prolongado, a possibilidade de perda da amostra no interior do equipamento e a dificuldade de manusear grandes números de amostras são pontos desvantajosos deste preparo.

Diversos estudos são encontrados na literatura utilizando a fotometria de chama para determinação de sódio e potássio em alimentos (Cuppari et al, 2004; Copeti et al, 2010; Rodrigues et al, 2010).

Devido ao fato da fotometria de chama não alcançar alto aquecimento e não possuir vastos comprimentos de ondas, este equipamento é direcionado para análise de Na, K, Li e Ca que são minerais que possuem átomos de fácil excitação (Vogel, 1992).

A base da fotometria de chama consiste em aspirar uma solução com um sal metálico por uma chama, formando um vapor que contém átomos do metal. Alguns destes átomos, no estado gasoso, podem ser promovidos a um nível de energia suficientemente elevado para que ocorra a emissão da radiação característica do metal (Vogel, 1992).

A espectrometria de absorção atômica também é empregada para determinação de sódio, potássio e outros minerais em alimentos (Gondim et al, 2005; Mendil, 2006). Já Ferreira et al (2002) determinaram minerais em diversos alimentos por absorção atômica no modo emissão. Esta técnica consiste na submissão dos átomos das amostras a comprimentos de onda capazes de excitá-los acima do estado fundamental (Vogel, 1992).

A leitura dos teores de fósforo pelo método oficial é por espectrometria de emissão atômica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES) (AOAC, 2000), entretanto pode ser substituída pela espectrofotometria na região do UV-Visível (Zenebon; Pascuet e Tiglea, 2008).

Para leitura em espectrofotômetro UV-Visível, previamente preparam-se soluções padrão de fósforo com 50 mg.L⁻¹, de molibdato de amônio e ácido ascórbico 2 %. Após o preparo, alíquotas conhecidas destas soluções e das amostras são transferidas para tubos de ensaio, em seguida agitam-se os tubos e após 10 minutos determina-se a absorbância a 725 nm (AOAC, 2000).

O princípio desta técnica consiste na interação do fósforo com o molibdênio formando um complexo que, ao sofrer uma redução seletiva pela ação do ácido ascórbico, adquire uma coloração azulada. A intensidade da cor azul é proporcional à quantidade de fósforo proveniente da amostra (Vogel, 1992).

2.9. DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA

O desenvolvimento de metodologia pode ser realizado de várias formas, embora as mais utilizadas sejam por meio de adaptações em método já validado, incorporando pequenas alterações, ou por meio do delineamento experimental para criar um novo método (EURACHEM, 1998)

É de extrema importância que os laboratórios possuam meios e critérios bem definidos para demonstrar, pela validação, que os métodos que executam conduzem a resultados confiáveis e adequados (INMETRO, 2011).

O processo de validação de um método deve estar descrito em um procedimento e os estudos para determinar os parâmetros de validação devem ser realizados com equipamentos e instrumentos dentro das especificações, funcionando corretamente e adequadamente calibrados (INMETRO, 2011).

Todos os métodos normalizados utilizados fora dos padrões para os quais foram concebidos, ampliados ou modificados devem ser validados, bem como os métodos não normalizados e criados ou desenvolvidos pelos laboratórios (ISO/EC, 2005).

Da mesma forma que se um método existente for modificado para atender aos requisitos específicos, ou um método totalmente novo for desenvolvido, o laboratório deve se assegurar de que as características de desempenho do método atendem aos requisitos para as operações analíticas pretendidas (INMETRO, 2011).

Há pesquisadores que defendem que a validação realizada de forma correta, deve constituir uma etapa após o completo desenvolvimento do método (Bruce, Minkkinen e Riekkola, 1998). Em contrapartida, outros autores compreendem que a melhor forma de se validar um método é realizar esta etapa em conjunto com o desenvolvimento do método (Green, 1996; Huber, 1998). Sendo assim o analista é o responsável por adotar a melhor forma de validar sua metodologia, considerando as particularidade do mesmo.

Como a área de alimentos compreende vários segmentos e conhecimentos de outras ciências, dificilmente é possível realizar a validação por estudos colaborativos com todas as concentrações e combinações de analitos (Hill e Reynolds, 1999)

Dentre as maneiras de verificar a eficácia de uma nova metodologia ou uma modificação proposta está o método comparativo, pelo qual as amostras são submetidas à análise com o método modificado e pelo método oficial (Chen et al., 2005). Outra forma consiste na análise de materiais certificados (Batista et al., 2008).

Os métodos analíticos oficiais muitas vezes são modificados para atender a alguma especificidade inerente à amostra (Azeredo et al, 1998), torná-lo mais acessível (Chen et al, 2005) ou para aumentar a sensibilidade do método (Maidana et al, 2009; Chumbimuni-Torres e Kubota, 2006; Lapa et al, 1996).

Chen *et al.* (2005) compararam a fotometria de chama e a titulação de Morh para determinar salinidade (sódio) em alimentos processados e concluíram que a fotometria de chama é uma alternativa mais rápida, precisa e menos tediosa para esta determinação em alimentos processados.

Já Azeredo et al (1998) desenvolveram uma metodologia para análise de potássio em mel que consiste na passagem da solução de mel por uma coluna contendo uma resina catiônica. Após esta etapa, o eluído deve ser recolhido e titulado com solução padronizada de hidróxido de sódio para determinação da quantidade de ácido, que é proporcional a de potássio que ficou retida na coluna. O inconveniente é que a coluna deve ser regenerada com HCl antes de cada determinação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abrantes, V.R.S. (2007) Rotulagem de alimentos: análise em fórmulas infantis, leites em pó e alimentos em pó à base de soja, comercializados no varejo do Município do Rio de Janeiro/RJ. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Seropédica – RJ, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ, 141p.

AOAC – Association of official analytical Chemists (2000) Official methods of analysis. 17 ed. Gaythersburg, MD.

- Azeredo, Maria et al. (1998) Determinação de potássio em méis após precipitação com tetrafenilborato de sódio e separação em coluna de troca-iônica. *Química Nova*. São Paulo, 5:651-654.
- Batista, Bruno L et al. (2008) Simultaneous determination of Cd, Cu, Mn, Ni, Pb and Zn in nail samples by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) after tetramethylammonium hydroxide solubilization at room temperature comparison with ETAAS. *Talanta*, 3:575-579.
- Bernardi, Alberto C. C. et al. (2005) Produção, aparência e teores de nitrogênio, fósforo e potássio em alface cultivada em substrato com zeólita. *Horticultura Brasileira*. Brasília, 4:920-24.
- Berry, John W. et al. (1946) Improved method of flame photometry. *Analytical*, 1: 19-24.
- Bertol, Ildegardis et al. (2007) Aspectos financeiros relacionados às perdas de nutrientes por erosão hídrica em diferentes sistemas de manejo do solo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, 31:133-42.
- Bortolotto, Luiz Aparecido. (2008) Hipertensão arterial e Insuficiência renal crônica. *Revista Brasileira de Hipertensão*, 3:152-55.
- Brasil (1969) Decreto-Lei nº 986. Institui Normas básicas sobre alimentos. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, 21 de outubro.
- Brasil, Ministério da Saúde (1998) Portaria nº 29. Aprova o Regulamento Técnico referente a Alimentos para Fins Especiais. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, 30 de março.
- Brasil, Ministério da Saúde (2002) Resolução RDC nº 259. Regulamento Técnico sobre Rotulagem de Alimentos Nutricional de Alimentos Embalados, tornando obrigatória a rotulagem nutricional. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, 23 de setembro.
- Brasil, Ministério da Saúde (2003a) Resolução RDC nº 360. Aprova Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados, tornando obrigatória a rotulagem nutricional. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, 26 de dezembro.
- Brasil, Ministério da Saúde (2003b) Lei nº 10.674. Obriga a que os produtos alimentícios comercializados informem sobre a presença de glúten, como medida preventiva e de controle da doença celíaca. *Diário Oficial da União*, 16 de maio.
- Brasil, Ministério da Saúde (2005) Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº. 269. Aprova o "REGULAMENTO TÉCNICO SOBRE A INGESTÃO DIÁRIA RECOMENDADA (IDR) DE PROTEÍNA, VITAMINAS E MINERAIS". *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, 23 de setembro.

- Brasil, Ministério da Saúde (2012) Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº. 54. Aprova o “Regulamento Técnico Sobre Informação Nutricional Complementar. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, 12 de novembro.
- Bruce, B.; Minkinen, P.; Riekkola, M.L. (1998) Practical method validation: validation sufficient for an analysis method. *Microchimica Acta*, v. 128, p. 93-106, 1998.
- Câmara, M. C. C. (2007) Análise Crítica da Rotulagem de Alimentos Diet e Light no Brasil. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) - Rio de Janeiro, RJ, Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ, 47p.
- Câmara, M.C.C. et al. (2008) A produção acadêmica sobre rotulagem de alimentos no Brasil. *Revista Panamericana Salud Publica*, 1:52-58.
- Castanheira, Joaquim et al. (2005) Impacto da hemodiálise versus diálise peritoneal na anatomia cardíaca em doentes com insuficiência renal crônica. *Anais do Congresso Virtual de Cardiologia*, 4, São Paulo. São Paulo: SBC, p.1-3.
- Chen, Min-Jane et al. (2005) Flame photometric determination of salinity in processed foods. *Food Chemistry*, 4:765-70.
- Chumbimuni-Torres, Karin., Kubota, Lauro. (2006) Simultaneous determination of calcium and potassium in coconut water by a flow-injection method with tubular potentiometric sensors. *Journal of Food Composition and Analysis*, 3:225-30.
- Copeti, Cristiane et al. (2010) Avaliação da redução de potássio em hortaliças submetidas a diferentes métodos de cocção para possível utilização na dietoterapia renal. *Revista de Nutrição*, Campinas, 23:831-38.
- Costanzo, Linda S. (2007) Fisiologia Renal. In: Costanzo, Linda S. *Fisiologia*. 3. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, p. 235-299.
- Cozzolino, Silvia M. F. (1997) Biodisponibilidade de minerais. *Revista de Nutrição*, Campinas, 2:87-98.
- Cuppari, Lilian et al. (2004) Preparo de vegetais para utilização em dieta restrita em potássio. *Revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição*, São Paulo, 28:1-7.
- D’elia, Lanfranco et al. (2011) Potassium intake, stroke, and cardiovascular disease. *Journal of the American College of Cardiology*, 10:1210-19.
- Daugirdas, John T. et al (2003) Manual de diálise. 3ª. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 744p.

- Dubbs, Clyde A. (1952) Increased sensitivity for the perkin-elmer flame photometer, use of fine-spray hot-chamber aspiration. *Analytical*. 10: 1654-1656.
- EURACHEM (1998). The fitness for purpose of analytical methods, a laboratory guide to method validation and related topics. Teddington, 1998. 61p.
- FAO/WHO - Food and Agriculture Organization of the United Nations World Health Organization (2007) Framework for the provision of scientific advice on food safety and nutrition. Genova, 2007. 50p.
- Ferreira, Andréa Benedita., Lanfer-Marquez, Ursula Maria. (2007) Legislação brasileira referente à rotulagem nutricional de alimentos. *Revista de Nutrição*, 1:83-93.
- Ferreira, Karla S. et al. (2002) Concentrações de selênio em alimentos consumidos no Brasil. *Revista Panamericana Salud Publica*. 3:172-77.
- Ferreira, Karla. Silva et al. (2004) Teores de Sódio de Potássio em Alimentos Consumidos no Brasil. *Revista Brasileira de Economia Doméstica*, 1:85-96.
- Gomes, José Carlos., SILVA, Maurício Henriques Louzada. (2004) TAL 467 – Legislação de alimentos. 1 ed. Viçosa: DTA, 330p.
- Gondim Jussara A. Melo et al. (2005) Composição Centesimal e de minerais em cascas de frutas. *Ciencia e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, 25:825-27.
- Green, J. Mark. (1996) A practical guide to analytical method validation. *Analytical Chemistry*, 1:305A-309A.
- Guyton, Arthur C; Hall, John E. (2006) Tratado de Fisiologia Médica. 11. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 1128p.
- Hill, A. R. C., Reynolds, S. L. (1999) Guidelines for in house validation of analytical methods for pesticide residues in food and animal feeds. *Analyst*, 124:953-58.
- Huber, Ludwig. (1998) Validation of analytical methods: review and strategy. *LG/GC International Magazine*, 1:96-105.
- Hurt, Eva. (2002) Nutrition labelling: European Union and United Kingdom perspectives. *Asia Pacific Journal Clinical Nutrition*, 2:77-9.
- IBGE - Instituto brasileiro de geografia e estatística. Censo populacional 2010 (2011) Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visua_liza.php?id_noticia=1766> Acessado em dezembro de 2011.
- INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (2011) DOQ-CGCRE-008 - Orientação sobre validação de métodos analíticos. Rio de Janeiro, 2011. 20p.

- ISO - International Standard Organization (2005) ISO/EC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories. Geneva, 2005. 28p.
- Lapa, Rui et al. (1996) Determination of calcium, magnesium, sodium and potassium in wines by FIA using an automatic zone sampling system. *Food Chemistry*. 4:397-442.
- Latarjet, Michel., Liard, Alfredo Ruiz. (2008) Sistema Urinário. *In: Latarjet, Michel., Liard, Alfredo Ruiz. Anatomia Humana*. Buenos Aires: Médica Panamericana, p. 1509-1526.
- Lehninger, Albert Lester. (2002) Princípios de Bioquímica. 3. ed. São Paulo: Sarvier, 897p.
- Maidana, N. L et al. (2009) Absolute determination of soluble potassium in tea infusion by gamma-ray spectroscopy. *Food Chemistry*. 2: 555-60.
- Mcdowell, Lee Russell (2012) Calcium and Phosphorus. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780444513670500052>> Acessado em 12 de fevereiro de 2012.
- Mendil, Durali. (2006) Mineral and trace metal levels in some cheese collected from Turkey. *Food Chemistry*. 4:532-37.
- NAS – National Academies Science (2004) Dietary reference intakes for water, potassium, chloride and sulfate. Washington, D.C, 2004. 617p.
- Nascimento, Marcelo Mazza; Riella, Miguel Cardoso (2001) Metabolismo da Água, Sódio, Potássio e Magnésio na Insuficiência Renal Crônica. *In: Teixeira, Patrícia Sígolo; Riella, Miguel Cardoso. Nutrição e o rim*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 27-32.
- NEPA – Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação (2011) Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO). 4.ed. Campinas: NEPA-Unicamp, 161p.
- NKF – National Kidney Foundation (2011) Sobre Insuficiência Renal Crônica. Guia para pacientes e familiares. Disponível em: <http://www.kidney.org/atoz/pdf/international/portuguese/11-50-1201_KAI_PatBro_AboutCKD_Pharmantet_Portuguese_Nov08.pdf> Acessado em 14 de dezembro 2011.
- Oliveira, Luiz Alberto Melo; Souza, Antônio Eleutério de. (2001) Potássio. *Balanço Mineral Brasileiro*, Brasília, 1:1-17.
- Peixoto, Eduardo Motta Alves. (1999) Sódio. *Química Nova na Escola*, São Paulo, 10:1.
- Peixoto, Eduardo Motta Alves. (2002) Fósforo. *Química Nova na Escola*. 15:51.

- Peixoto, Eduardo Motta Alves. (2004) Potássio. *Química Nova na Escola*, São Paulo, 19:47.
- Piovesan, Ricardo Prado et al. (2009) Perdas de nutrientes via subsuperfícies em colunas de solo sob fertilização mineral e orgânica. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, 33:757-66.
- Porter, Paul; Wyld, Garrard. (1955) Elimination of interferences in flame photometry. *Analytical Chemistry*, 5:733-736.
- Riella, Miguel Cardoso (1980) Metabolismo do Potássio. *In: Riella, Miguel Cardoso. Princípios da Nefrologia e Distúrbios Hidroeletrólíticos*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 129-150.
- Rodrigues, Hayla Félix et al. (2010) Avaliação de rotulagem nutricional, composição centesimal e teores de sódio e potássio em batatas-palha. *Revista Instituto Adolfo Lutz*, São Paulo, 69:423-7.
- Romão Jr, João Egídio. (2004) Doença Renal Crônica: Definição, Epidemiologia e Classificação. *Jornal Brasileiro de Nefrologia*, São Paulo, 3:1-3.
- Salgado Filho, Natalino; Brito, Diego José de Araújo. (2006) Doença renal crônica: a grande epidemia deste milênio. *Jornal Brasileiro de Nefrologia*, São Paulo, 3:1-5.
- SBN - Sociedade Brasileira de Nefrologia (2012) Censo de Diálise 2010. Disponível em: <<http://www.sbn.org.br/leigos/index.php?censo>> Acessado em 13 de fevereiro de 2012.
- Schrenk, W.G.; Glendening, B. L. (1955) Performance of interference filter in simple flame photometer. *Analytical Chemistry*, 6:1031-1033.
- Sesso, Ricardo et al. (2008) Relatório do Censo Brasileiro de Diálise. *Jornal Brasileiro de Nefrologia*, São Paulo, 4:233-238.
- Silva, José Alexandro et al. (2006) Influência das variáveis nitrogênio, fósforo e °brix na produção dos metabólitos secundários contaminantes totais da fermentação alcoólica. *Química Nova*, 4:695-698.
- Souza, Antônio Eleutério (2001) Fosfato. *Balanço Mineral*, Brasília, 1:1-31.
- Spector, Jacob. (1955) Mutual interference and elimination of calcium interference in flame photometry. *Analytical Chemistr*, 9:1452-1455.
- Taiz, Lincoln; Zeiger, Eduardo (2004) Fisiologia Vegetal. 3. ed. Porto Alegre: Artmed. 722p.
- Teixeira, Patrícia Sígolo; Riella, Miguel Cardoso (2001a). Metabolismo do Cálcio, Fósforo e Vitamina D na Insuficiência Renal Crônica. *In: Teixeira, Patrícia Sígolo; Riella, Miguel Cardoso. Nutrição e o rim*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 33-42.

- Teixeira, Patrícia Sígolo; Riella, Miguel Cardoso (2001b). Metabolismo das Proteínas, Carboidratos e Lipídios na Insuficiência Renal Crônica. *In*: Teixeira, Patrícia Sígolo; Riella, Miguel Cardoso. *Nutrição e o rim*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 12-26.
- USDRS - United States Data Renal System (2011) Atlas of Chronic Kidney Disease and End-Stage Renal Disease in the United States. *Annual Data Report*. p. 127.
- Vogel, Arthur I. (1992) Análise Química Quantitativa. 5. ed. Rio de Janeiro: LTC, 712p.
- White, John U. (1952) Precision of a simple flame photometer. *Analytical Chemistry*, 2:394-396.
- Wijngaart, Annoek Wem Van Den. (2002) Nutrition labelling: purpose, scientific issues and challenges. *Asia Pacific Journal Clinical Nutrition*, 2:68-71.
- Zenebon, Odair; Pascuet, Neus; Tiglia, Paulo. (2008) Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos. 4. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020p.

3. TRABALHOS

AVALIAÇÃO DE MODIFICAÇÕES NO PREPARO DE AMOSTRAS DE ALIMENTOS PARA DETERMINAÇÃO DE SÓDIO

EVALUATION OF CHANGES IN THE PREPARATION OF FOOD SAMPLES FOR DETERMINATION OF SODIUM

Jeferson dos Santos Silva e Karla Silva Ferreira

Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias (CCTA),
Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF),
Avenida Alberto Lamego, 2000, CEP:28013-602,
Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, Brasil, Telefone: (22) 2739-7160

RESUMO

O sódio é um mineral amplamente distribuído nos alimentos, principalmente nos industrializados e, ou preparados com adição de cloreto de sódio. Embora seja essencial para a manutenção da vida dos animais, este mineral, se ingerido em excesso, pode contribuir para o desenvolvimento de hipertensão arterial e suas consequências, por exemplo, doença renal e cardiovasculares. Por isso, é importante o controle do consumo de sódio. O método tradicional de se analisar sódio em alimentos requer uma etapa de preparo das amostras com tratamento ácido e calor, que é dispendioso e demorado. Sendo assim, este trabalho teve como objetivo testar métodos alternativos, com baixas quantidades de reagente e

menor tempo, para o preparo de amostras para análise de sódio por emissão de chama visando rapidez, baixo custo e praticidade. Amostras de alimentos panificados, lácteos, bebidas, molhos, cárneos e batata palha foram tratadas com peróxido de hidrogênio, ácido clorídrico e centrifugação. A exatidão dos procedimentos foi avaliada pela comparação dos resultados obtidos com esses procedimentos e os obtidos com a metodologia oficial por meio de regressão linear, teste de tendência, teste F e teste t de student (emparelhado). A precisão por meio do coeficiente de variação de repetições da mesma amostra em cada tratamento. A porcentagem de recuperação foi realizada com todos os tratamentos pela adição de analito. Verificaram-se também, os limites de detecção e quantificação, que foram $0,15 \text{ mg.L}^{-1}$ e $0,30 \text{ mg.L}^{-1}$, respectivamente, indicando boa sensibilidade e especificidade pelo equipamento utilizado para leitura. Todos os procedimentos foram avaliados quanto à porcentagem de recuperação por meio da adição de analito e obtiveram resultados dentro da faixa aceitável entre 80 % e 120 % para a maioria. Pela análise de regressão e teste F, todos os tratamentos apresentaram exatidão satisfatória. Pelo teste t apenas a centrifugação diferiu do tratamento oficial, não sendo indicada. Pelo teste de tendência, o tratamento com peróxido de hidrogênio não foi exato apenas para o grupo das bebidas e “ketchup”, com ácido clorídrico para o leite, batata palha e bebidas e a centrifugação para bebidas, molhos, cárneos e leite. Para os demais alimentos esses tratamentos podem ser utilizados em substituição ao método oficial, propiciando redução de custo, tempo e, ou quantidade de reagente.

Palavras chave: Composição de alimentos, minerais, análise de alimentos, emissão de chama.

ABSTRACT

Sodium is a mineral widely distributed in foods, particularly in industrialized and either prepared with addition of sodium chloride. While it is essential for maintenance of animal life, this mineral is ingested in excess, can contribute to the development of hypertension and its consequences, such as cardiovascular and

renal disease. So it is important to control sodium intake. The traditional method of analyzing sodium in foods requires a step of preparing the samples with acid and heat treatment, which is costly and time consuming. Thus, this study aimed to test alternative methods, with low amounts of reagent and less time to prepare samples for analysis of sodium by flame emission aiming speed, low cost and practicality. Samples of baked foods, dairy, beverages, sauces, meat and potato sticks were treated with hydrogen peroxide, hydrochloric acid and centrifugation. The accuracy of the procedure was assessed by comparing the results obtained with these procedures and those obtained with the official method by linear regression trend test, F test and the Student t test (paired). The accuracy of the coefficient of variation of repetitions of the same sample in each treatment. The percentage of recovery was performed with all treatments by the addition of analyte. There have also, limits of detection and quantification were $0,15 \text{ mg.L}^{-1}$ and $0,30 \text{ mg.L}^{-1}$, respectively, indicating good sensitivity and specificity for equipment used for reading. All procedures were evaluated for the percentage recovery by the addition of analyte and obtained results within the acceptable range between 80 % and 120 % for most. Regression analysis and F test, all treatments showed satisfactory accuracy. By t test only differed from the official centrifugation treatment, not being indicated. The trend test, treatment with hydrogen peroxide was not accurate only to the group of beverages and "ketchup" with hydrochloric acid to milk, potato chips and drinks and centrifuging for drinks, sauces , meat and milk. For other foods such treatments can be used to replace the official method, enabling reduction of cost, time, or amount of reagent.

Keywords: Composition of foods, minerals, food analysis, emission flame.

INTRODUÇÃO

Os teores de sódio nos alimentos de origem vegetal podem variar de acordo com o solo de cultivo, variedade, período de colheita e metabolismo da planta (Taiz e Zeiger, 2004). Já nos alimentos de origem animal, podem variar de acordo com a espécie, alimentação, tipo de tecido ou secreção. De modo geral,

os teores de sódio são baixos nos alimentos “in natura” e elevados nos alimentos processados com adição de NaCl (Ferreira, 2004; NEPA, 2011)

O sódio é o principal cátion do líquido extracelular, que representa cerca de 20% do peso corporal. Sua principal função é a regulação do equilíbrio osmótico das células. Além disso, também atua no sistema nervoso auxiliando na condução de impulsos nervosos e na movimentação muscular (Guyton e Hall, 2006).

O consumo em excesso de sódio pode contribuir para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares e aumento da hipertensão arterial (Molina et al, 2003). Em indivíduos com insuficiência renal crônica há necessidade de intenso controle do consumo de sódio. Nestes indivíduos, quando a taxa de filtração glomerular cai para em torno de $15 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, este elemento pode se acumular facilmente no sangue, elevar a pressão arterial e levar o indivíduo ao óbito (Nascimento e Riella, 2001)

A ingestão diária recomendada de sódio estabelecida pela Academia Nacional de Ciências dos Estados Unidos é $2300 \text{ mg}\cdot\text{dia}^{-1}$, quantia considerada como tolerável para prevenção de aumento da pressão arterial (NAS, 2004). A legislação brasileira de rotulagem de alimentos obriga a declaração dos teores de sódio presentes nos alimentos, tomando como referência para ingestão a quantia de $2400 \text{ mg}\cdot\text{dia}^{-1}$ de sódio para uma dieta de 2000 Kcal (Brasil, 2003b).

Para a análise de sódio pelo método oficial, primeiramente são preparadas soluções após a oxidação da matéria orgânica das amostras de alimentos por via úmida, com utilização de ácido nítrico, peróxido de hidrogênio sob aquecimento. Essas soluções são levadas para leitura dos teores de sódio por emissão atômica com plasma indutivamente acoplado.

Outros procedimentos são também utilizados, como a oxidação da matéria orgânica por calcinação em mufla a $400 - 550 \text{ }^\circ\text{C}$ e posteriormente preparadas soluções que são submetidas à leitura por métodos diversos, sendo os mais frequentes a absorção atômica com chama (Zenebon; Pascuet e Tiglea, 2008) e emissão de chama, nesse último caso podendo ser em equipamento de absorção atômica no modo emissão ou usando fotômetro de chama (Ferreira et al., 2002)

Ambos os processos são demorados, onerosos e, em alguns casos, demandam o uso de equipamentos sofisticados. No caso da digestão por via

úmida, um dos ácidos utilizados é o ácido nítrico, cuja comercialização é controlada ora pelo Exército e ora pela Polícia Federal, que faz exigências quanto à quantidade adquirida, local de armazenamento e forma de utilização do produto, o que em muitos casos dificulta sua aquisição.

Desta forma, o presente estudo teve por objetivo testar e avaliar novos procedimentos para a liberação do sódio da matriz orgânica para sua determinação por emissão de chama em alguns alimentos industrializados, buscando a redução do custo e a diminuição do tempo de análise.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras

Foram analisados os seguintes alimentos: panificados (pão de fôrma, pão francês, biscoito de maizena, biscoito cream-cracker), bebidas (suco à base de soja sabor pêssigo, refrigerante de cola, refrigerante de guaraná, néctar sabor goiaba), molhos (maionese, ketchup, mostarda), laticínios (queijo tipo mussarela, queijo tipo cheddar, queijo prato, queijo minas frescal, leite integral UHT e iogurte sabor morango), cárneos (peito de peru, presunto, hambúrguer, salsicha) e batata palha.

As amostras destes alimentos foram homogeneizadas, trituradas quando sólidas e pesadas em balança analítica, peso exato em torno de 2 g, em erlenmeyer de 125 mL, tubos de ensaio ou tubos de centrifugação tipo Falcon, em triplicata e submetidos aos processos de digestão pelos métodos oficial e propostos. Quando necessário, foram armazenados em recipientes de polietileno sob refrigeração (5 - 7 °C) por no máximo 24 horas.

Avaliação das modificações propostas

As modificações foram realizadas durante a etapa de digestão das amostras, alterando os reagentes e a temperatura de aquecimento. Os teores de sódio detectados foram comparados com os teores obtidos quando as amostras foram submetidas à oxidação da matéria orgânica pelo método oficial por meio dos seguintes testes: tendência, regressão linear, teste F e teste t de student (emparelhado). Os testes para validação aplicados seguiram as orientações da

Resolução nº 899 - Guia para validação de métodos analíticos e bio-analíticos da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil, 2003a) e Orientação sobre validação de métodos analíticos do Instituto Nacional de Metrologia Qualidade e Tecnologia - Documento Orientativo da Coordenação Geral de Acreditação - DOQ-CGCRE 008 (INMETRO, 2011), cujas informações são baseadas nas orientações dos órgãos internacionais.

Preparo das amostras pelo método oficial

As amostras previamente pesadas foram submetidas à digestão por via úmida com ácido nítrico e peróxido de hidrogênio sob aquecimento até total oxidação da matriz orgânica do alimento, observada quando a solução se apresentava límpida e cristalina. Em seguida foram levadas a volume final de 50 mL para posterior leitura dos teores de sódio.

Preparo das amostras com peróxido de hidrogênio

Às amostras previamente pesadas em tubos de ensaio, foram adicionados 5 mL de água desmineralizada e 5 mL de peróxido de hidrogênio. Em seguida foram aquecidos em bloco de aquecimento regulado para 100 °C por 20 minutos. Após este tempo, o volume foi completado para 50 mL com água desmineralizada, as soluções foram filtradas em kitassato com papel filtro tarja preta, 110 mm de diâmetro, usando-se bomba a vácuo, ajustada entre 100 – 150 psi e acondicionadas sob refrigeração em frascos de polietileno até o momento das leituras.

Preparo das amostras com ácido clorídrico

Às amostras previamente pesadas em tubos de ensaio, foram adicionados 5 mL de água desmineralizada e 5 mL de ácido clorídrico (aproximadamente 37 %), aquecidas em bloco de aquecimento, com temperatura regulada para 100°C até escurecimento total da amostra, aproximadamente, 30 a 40 minutos. Em seguida os tubos foram retirados do bloco de aquecimento e adicionou-se 0,5 mL de peróxido de hidrogênio com o tubo ainda aquecido para clarear as soluções, cujos volumes foram completados para 50 mL com água desmineralizada. Estas soluções foram filtradas em kitassato com papel filtro, tarja preta, 110 mm de diâmetro, com auxílio de bomba a vácuo, ajustada entre

100 – 150 psi e acondicionadas em frascos de polietileno até o momento das leituras.

Preparo das amostras por centrifugação

Às amostras previamente pesadas em tubos de centrifugação, tipo Falcon, completou-se o volume para 40mL com água desmineralizada, homogeneizou-se com agitação manual e centrifugou-se a 2000 rpm por 5 minutos. O sobrenadante foi utilizado para a leitura dos teores de sódio.

Procedimento de leitura dos teores de sódio

Embora pelo método oficial a leitura dos teores de sódio seja realizada por emissão atômica usando espectrômetro de plasma indutivamente acoplado, neste trabalho ela foi realizada por emissão de chama usando fotômetro de chama na faixa de trabalho de 0 – 20 mg.L⁻¹ de sódio. O equipamento foi previamente calibrado com soluções padrão de sódio de 0 e 20 mg.L⁻¹. Esta calibração foi conferida por meio da leitura de soluções de concentrações conhecidas (0,5 mg.L⁻¹; 1 mg.L⁻¹; 5 mg.L⁻¹; 10 mg.L⁻¹ e 15 mg.L⁻¹, além dos pontos 0 mg.L⁻¹ e 20 mg.L⁻¹. As leituras encontradas para estas soluções foram plotadas contra as concentrações esperadas, apresentando boa linearidade e coeficiente de correlação igual a 0,9998 (Figura 1).

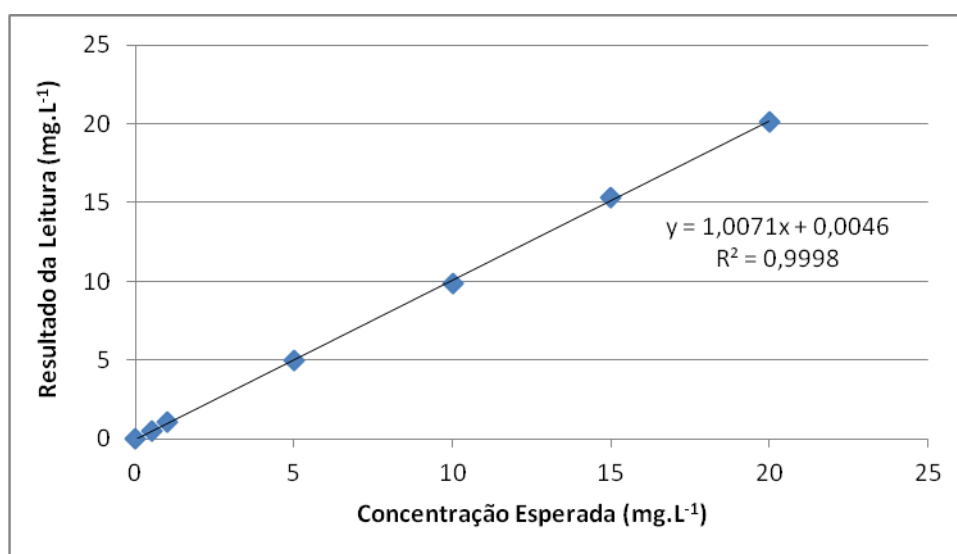


Figura 1. Curva analítica preparada com soluções padrão de sódio.

Taxa de Recuperação:

A taxa de recuperação foi utilizada para avaliar todos os procedimentos individualmente, inclusive o oficial. Para isso, foram adicionadas às amostras de alimento, antes da digestão, quantidades conhecidas do analito em um único nível de concentração, correspondente a 100 % da concentração encontrada na análise do alimento sem adição do analito e o cálculo efetuado conforme a equação (7).

$$R = \left(\frac{C_{\text{encontrado}}}{C_{\text{adicionada}} + C_{\text{amostra}}} \right) \times 100 \quad (7)$$

Em que: R = Recuperação

C encontrado = Concentração do analito na amostra com adição

C amostra = Concentração do analito na amostra sem adição

C adicionada = Concentração adicionada na amostra

Avaliação da Precisão

Precisão: O preparo de cada amostra, em cada tratamento foi realizado em triplicata e assim, pode-se calcular a precisão por meio do coeficiente de variação de cada triplicata usando-se a equação (2) (INMETRO, 2011).

$$\text{Precisão} = CV = \frac{DP}{CMD} \times 100 \quad (2)$$

Em que: CV = Coeficiente de Variação

DP = Desvio Padrão entre as triplicatas de cada amostra por tratamento

CMD = Concentração Média Determinada entre as triplicatas de cada amostra por tratamento

Avaliação da Exatidão

A exatidão foi avaliada por meio da tendência, teste F, teste t de student (emparelhado) e regressão linear.

Tendência

A porcentagem de tendência ou comparação dos resultados com o método oficial foi calculado para cada amostra por meio da equação (3), considerando o

valor obtido pela metodologia oficial como o valor esperado (100 %) (INMETRO, 2011).

$$Tend\ência = \frac{Valor\ Observado}{Valor\ Esperado} \times 100 \quad (3)$$

Em que: Valor Observado = teor obtido pelo método testado.

Valor Esperado = teor obtido pelo método oficial.

Regressão Linear

A regressão linear foi realizada utilizando o suporte de estatística do programa Microsoft Excel inserindo os resultados obtidos pelo método oficial no eixo Y e os obtidos pelo método proposto no eixo X. Em seguida calculou-se a equação e o coeficiente de correlação linear (r^2) a 5 % de significância.

Teste F

O teste F, indicado para comparação das precisões de dois métodos, foi utilizado para confrontar os resultados obtidos por meio dos métodos propostos com os resultados obtidos pelo método oficial, usando a equação (4) (Vogel, 1992).

$$F = \frac{S_A^2}{S_B^2} \quad (4)$$

Em que: S_A^2 = maior variância entre os métodos comparados.

S_B^2 = menor variância entre os métodos comparados.

Obs: A maior variância sempre deve ser colocada no numerador e a menor sempre no denominador, após este cálculo o valor deve ser comparado com o valor da tabela F de Fischer ao nível de significância desejado.

Teste t de student (emparelhado)

O teste t de student (emparelhado), indicado para comparação entre métodos por meio das diferenças entre os valores obtidos, foi conduzido usando a equação (5) (Vogel, 1992).

$$t = \frac{d' \sqrt{n}}{S_d} \quad (5)$$

$$S_d = \sqrt{\frac{\sum (d-d)^2}{n}} \quad (6)$$

Em que: d' = Média da subtração dos valores obtidos pelo método oficial e o comparado

n = Número de resultados avaliados

S_d = Desvio padrão das diferenças, previamente calculado pela equação (6)

Limite de Detecção e Quantificação

Soluções padrão de sódio nas concentrações de 0,1 mg.L⁻¹ a 0,5 mg.L⁻¹ foram preparadas e submetidas à leitura até a identificação da menor concentração capaz de ser reconhecida pelo equipamento. Esta solução foi considerada o limite de detecção. O limite de quantificação foi estabelecido como duas vezes o limite de detecção (Caulcutt e Boddy, 1983).

Repetibilidade

Foram selecionadas três soluções de concentrações distintas, 5 mg.L⁻¹, 10 mg.L⁻¹ e 15 mg.L⁻¹. Cada uma destas soluções foi submetida a 20 leituras e os resultados destas leituras, separadamente, foram avaliados pela equação (8), (Caulcutt e Boddy, 1983), para se determinar o limite de repetibilidade (r) referente a cada concentração.

$$r = t \cdot \sqrt{2} \cdot sr \quad (8)$$

Em que: t = valor tabelado ao nível de 5 % de confiança para vinte repetições.

sr = desvio padrão calculado

Precisão Intermediária

O limite de precisão intermediária foi avaliado realizando-se 20 leituras das mesmas soluções padrão de sódio, 5 mg.L⁻¹, 10 mg.L⁻¹ e 15 mg.L⁻¹, em dias distintos e por analistas e equipamentos diferentes. Os resultados de cada grupo

de soluções foram submetidos a equação (9), para comparar os resultados de cada solução entre os distintos dias, analistas e equipamentos (INMETRO, 2011).

$$S(pi) = \sqrt{\frac{1}{t(n-1)} \sum \sum (Y_{jk} - Y_j)^2} \quad (9)$$

Em que: $S(pi)$ = Desvio padrão da Precisão Intermediária

t = Total de amostras ensaiadas

n = Total de ensaios efetuados por amostra

k = Número do ensaio da amostra

j = Número da amostra

Y_{jk} = Valor do resultado k para a amostra j

Y_j = Média aritmética dos resultados da amostra j

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os teores de sódio e os desvios detectados pelo método oficial de oxidação da matéria orgânica dos alimentos e pelos procedimentos propostos (preparo das amostras com peróxido de hidrogênio, com ácido clorídrico e centrifugação), estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Teores de sódio (mg por 100 g) detectados nos alimentos por emissão de chama em diferentes processos de preparo das amostras para a análise por emissão de chama

Tipo	Produtos	HNO ₃	H ₂ O ₂	HCl	Centrifugação
		M ± DP	M ± DP	M ± DP	M ± DP
Panificação	Biscoito Cream Cracker	1094 ± 43	1128 ± 30	1061 ± 13	941 ± 17
	Biscoito Maisena	529 ± 1,53	520 ± 16	521 ± 2,6	446 ± 10
	Pão Francês	1083 ± 15	1095 ± 16	1029 ± 5,4	1004 ± 1,75
	Pão de Forma	1032 ± 31	1000 ± 16	1003 ± 7,6	961 ± 2,8
Bebidas	Suco / Soja Sabor Pêssego	18 ± 0,40	25 ± 2,50	26 ± 2,35	14 ± 0,04
	Néctar Sabor Goiaba	8,0 ± 0,29	5,2 ± 0,25	3,2 ± 0,21	2,8 ± 0,02
	Refrigerante de Cola	11 ± 0,43	8,4 ± 0,29	6,6 ± 0,5	6,4 ± 0,32
Molhos	Refrigerante de Guaraná	12 ± 0,57	9,7 ± 0,07	7,7 ± 0,25	8,5 ± 0,04
	Ketchup	2076 ± 30	1622 ± 16	1812 ± 26	1615 ± 8,2
	Maionese	2046 ± 40	1888 ± 44	1776 ± 38	1560 ± 35
Lácteos	Mostarda	1239 ± 24	1144 ± 77	1214 ± 48	974 ± 22
	logurte Sabor Morango	30 ± 0,7	33 ± 0,53	25 ± 0,34	25 ± 0,15
	Leite Integral UHT	122 ± 0,7	98 ± 0,21	97 ± 0,85	59 ± 0,17
	Queijo Minas Frescal	392 ± 12	426 ± 13	364 ± 35	372 ± 5,9
	Queijo Prato	833 ± 69	832 ± 81	972 ± 28	670 ± 30
Cárneos	Queijo Tipo Cheddar	2047 ± 62	1763 ± 34	1971 ± 19	1301 ± 53
	Queijo Tipo Mussarela	866 ± 4,95	808 ± 64	863 ± 17	654 ± 23
	Hambúrguer	1131 ± 36	1196 ± 54	1043 ± 13	757 ± 10
	Peito de Peru	1338 ± 32	1302 ± 39	1213 ± 30	1053 ± 16
	Presunto	1732 ± 32	1815 ± 151	1830 ± 136	1325 ± 50
	Salsicha	1781 ± 23	1694 ± 89	1975 ± 25	1331 ± 80
	Batata Palha	423 ± 24	342 ± 38	299 ± 25	460 ± 34

Legenda: M ± DP = Média ± Desvio Padrão.

Conforme Brasil (2003a) e Huber (1998), são aceitáveis taxas de recuperação entre 80 % e 120 %. As taxas de recuperação encontradas para cada alimento e o tratamento variaram de 80 % a 104 % para o tratamento oficial; 78% a 108% para o tratamento com peróxido de hidrogênio; 72 % a 106 % para o tratamento com ácido clorídrico; e 69 % a 121 % para o tratamento com centrifugação. Observa-se que o tratamento das amostras pelo método oficial apresentou taxa de recuperação dentro da faixa aceitável para todos os alimentos. Os valores fora da faixa de recuperação aceitável estão apresentados em negrito na Tabela 2.

Tabela 2. Taxas de recuperação encontradas para sódio nos alimentos em estudo

Produtos	HNO ₃	H ₂ O ₂	HCl	Cent
	Taxa de Recuperação (%)			
Biscoito Cream Cracker	86	93	96	85
Biscoito Maisena	99	99	96	85
Pão de Forma	83	90	86	82
Pão Francês	100	93	106	94
Néctar Sabor Goiaba	102	91	98	96
Refrigerante de Cola	92	91	76	92
Refrigerante de Guaraná	104	91	89	97
Suco / Soja Sabor Pêssego	80	78	72	81
Ketchup	83	94	89	92
Maionese	86	91	84	93
Mostarda	91	99	90	102
Queijo Tipo Mussarela	94	80	90	89
Iogurte Sabor Morango	90	80	80	90
Leite Integral UHT	93	108	100	121
Queijo Minas Frescal	95	80	90	100
Queijo Tipo Cheddar	100	101	103	102
Queijo Prato	93	86	87	103
Hambúrguer	96	93	94	92
Peito de Peru	104	92	86	98
Presunto	90	91	95	103
Salsicha	93	96	86	95
Batata Palha	95	90	96	69

Legenda: Cent = Centrifugação

Na tabela 3 são mostrados teores de sódio detectados em diferentes alimentos, presentes em trabalhos de outros autores. Observa-se que há concordância entre os resultados da literatura e os encontrados neste trabalho.

Ressalta-se que há variação entre os autores, fato que é aceitável, mediante os vários fatores que podem acarretar variação na composição dos alimentos, por exemplo, local de cultivo, maturação, irrigação, adubação recebida (Taiz e Zeiger, 2004), modo de preparo e formulação (NEPA, 2011).

Tabela 3. Teores de sódio em mg. L⁻¹ encontrados na literatura

Produtos	Literatura			
	NEPA	USDA	Diversos	
Pão de Forma	22	540	825-889 ²⁰	419,9-504 ⁵
Pão Francês	648	608		
Biscoito Maizena	352	460		
Biscoito Cream Cracker	854	790	300-930 ¹⁴	223-1280 ¹⁸
Suco / Soja Sabor Pêssego			26,5*	
Refrigerante de Cola	7	4,05	2-7,3 ⁹	
Refrigerante de Guaraná	9		4,5-10,6 ⁹	
Néctar Sabor Goiaba			15-28,5 ²⁸	16 ¹⁹
Maionese		557		
Ketchup		1116	758*	
Mostarda		1400		
Queijo Tipo Mussarela	581	613		
Queijo Tipo Cheddar		607	1170 ¹	
Queijo Prato	580			
Queijo Minas Frescal	31		246-289 ²⁷	
Peito de Peru	711	78,5	1024 ²³	
Presunto	1039	1328		
Hambúrguer	869			
Salsicha		968	1110 ²	
Batata Palha	607	194	160 – 237 ²⁶	

Legenda: * valor contido no rótulo do alimento; ** número referente ao autor citado nas referências bibliográficas

Os valores calculados de precisão para cada procedimento e as porcentagens de tendência estão apresentados na tabela 4. Observa-se que a precisão variou entre 0,57 e 8,4 com o preparo das amostras pelo método oficial.

O preparo com peróxido de hidrogênio propiciou precisão entre 0,77 e 11; com ácido clorídrico entre 0,55 e 9,9; e pela centrifugação 0,5 e 9,6. Entretanto, com exceção da batata palha preparada com peróxido de hidrogênio, todos os valores de precisão foram inferiores a 10, resultados considerados aceitáveis de acordo com Pimentel-Gomes (2009).

A tendência, que é a comparação da média de cada resultado em relação ao resultado obtido pelo procedimento oficial, expressa a exatidão da metodologia testada. A faixa aceitável para esta variável compreende os valores entre 80 % e 120 %, conforme Brasil (2003a) e Huber (1998). Para os procedimentos com peróxido de hidrogênio e ácido clorídrico, exceto no grupo de bebidas, a batata

palha, o ketchup e o leite, os valores de tendência situaram-se entre 80 % e 117 %. Já o preparo das amostras por centrifugação alcançou porcentagem de tendência situada na faixa aceitável apenas para o grupo de panificados, batata palha e para o iogurte. Com base nesta avaliação, observa-se que os tratamentos apresentaram exatidão satisfatória apenas para alguns grupos de alimentos.

Tabela 4. Porcentagens de Precisão e Tendência calculados para os alimentos nos diferentes processos

Tipo	Produtos	HNO ₃		H ₂ O ₂		HCl		Centrifugação	
		Prec	Prec	Tend	Prec	Tend	Prec	Tend	
Panificação	Biscoito Cream Cracker	3,96	2,71	103	1,24	97	1,9	86	
	Biscoito Maizena	2,89	3,10	98	0,50	98	2,3	84	
	Pão Francês	1,43	1,48	101	0,53	95	0,17	92	
	Pão de Forma	3,08	1,62	96	0,75	97	0,3	93	
Bebidas	Suco / Soja Sabor Pêssego	2,18	9,7	138	8,9	143	0,29	75	
	Néctar Sabor Goiaba	3,55	4,76	65	6,71	40	0,76	35	
	Refrigerante de Cola	3,60	3,46	71	7,6	55	5,00	54	
	Refrigerante de Guaraná	4,56	0,77	78	3,24	61	0,50	67	
Molhos	Ketchup	1,45	0,98	78	1,45	87	0,51	78	
	Maionese	1,97	2,38	93	2,16	87	2,28	77	
	Mostarda	2,00	6,7	92	3,96	98	2,33	79	
Lácteos	Iogurte Sabor Morango	0,82	1,55	110	1,33	84	0,61	82	
	Leite Integral UHT	0,57	1,23	80	0,88	79	0,28	48	
	Queijo Minas Frescal	3,28	3,26	109	9,9	93	1,61	95	
	Queijo Prato	8,4	9,7	100	2,91	117	4,54	80	
	Queijo Tipo Cheddar	3,05	1,98	86	0,97	96	4,08	64	
	Queijo Tipo Mussarela	0,57	7,9	93	2,02	100	3,52	75	
Cárneos	Hambúrguer	3,27	4,59	106	1,31	92	1,38	67	
	Peito de Peru	2,41	3,05	97	2,53	91	1,55	79	
	Presunto	7,5	8,3	105	7,4	106	3,84	76	
	Salsicha	1,30	5,3	95	1,28	111	6,1	75	
	Batata Palha	5,7	11	81	8,4	71	7,5	109	

Legenda: Prec = Precisão; Tend = %Tendência.

O coeficiente de correlação da regressão linear é outra forma de comparar dois métodos analíticos. Quanto mais próximo a 1 for o coeficiente de correlação, mais os resultados obtidos pelos dois métodos se assemelham, demonstrando que estes apresentam comportamentos semelhantes (Gomes e

Oliveira, 2011). Os coeficientes de correlação linear (r^2) variaram entre 0,9829 e 0,9862. O r^2 mais elevado ocorreu entre o método oficial e o tratamento com centrifugação. Observa-se que todos os coeficientes foram semelhantes, não se obtendo, em nenhum caso, $r^2 > 0,99$ (Figura 2). Como os testes se igualaram por meio dos coeficientes de correlação, faz-se necessário a junção de resultados de outras análises para a tomada de decisão quanto ao melhor método a ser adotado.

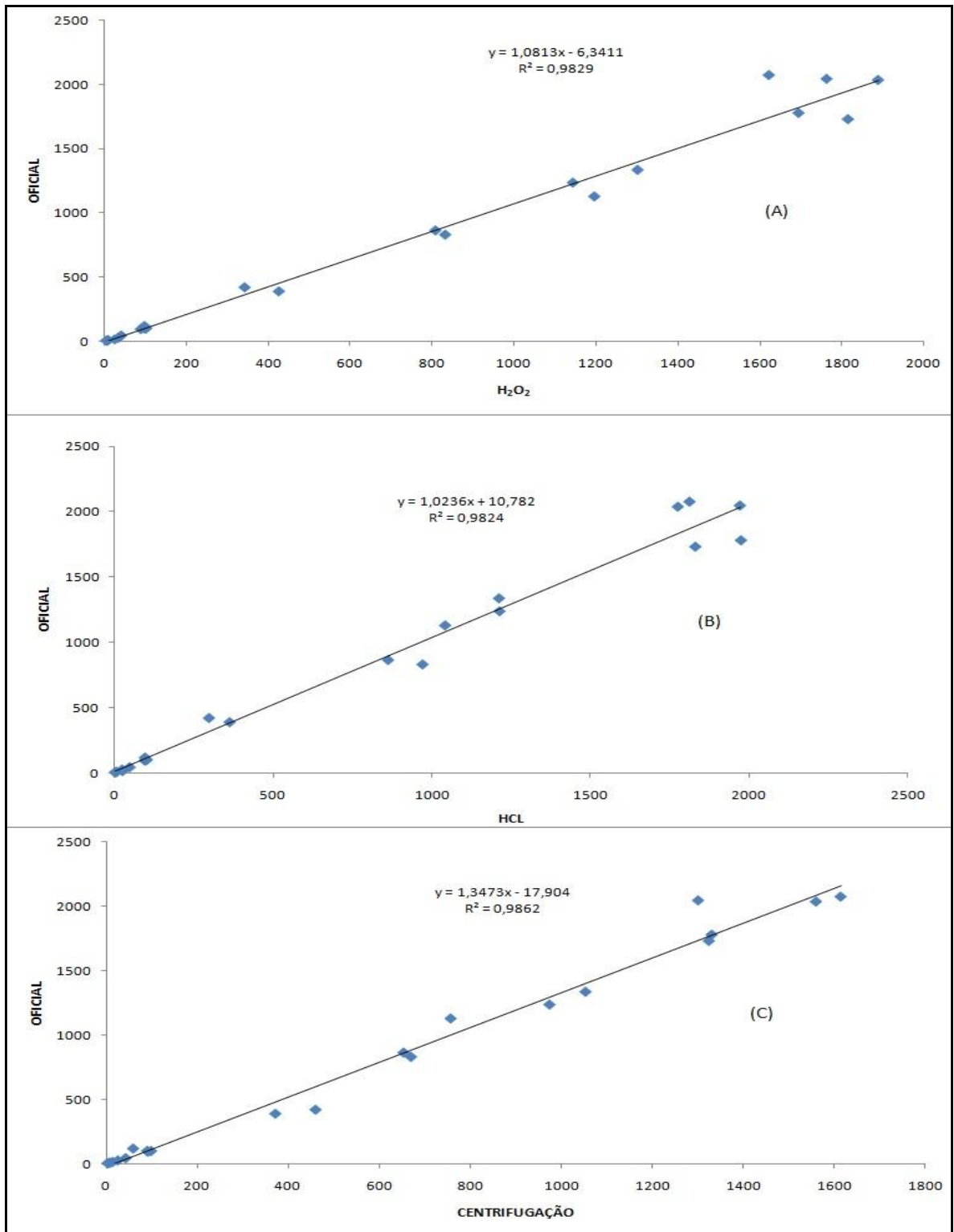


Figura 2. Regressão linear entre os resultados do método oficial e do método com peróxido de hidrogênio (A), entre o método oficial e o método com ácido clorídrico (B) e entre o método oficial e o método de centrifugação (C).

De acordo com o teste F não há diferença entre os tratamento (Tabela 5). Observa-se que o F tabelado é maior que o valor F calculado para todos os métodos. Desta forma, aceita-se a hipótese de nulidade e assume-se que não há diferença significativa ao nível de 5 % pelo teste F entre os resultados obtidos pelos propostos em comparação aos resultados obtidos pela metodologia oficial.

Tabela 5. Teste F aplicado para comparação das variâncias entre os métodos propostos e o método oficial

	Oficial	H ₂ O ₂	HCl	Centrifugação
Variância	526214	443462	494562	293366
F calculado		1,19*	1,06*	1,79*
F tabelado (5%)			2,03	

Legenda: * = não significativo pelo teste F ao nível de 5 % de significância

O teste t foi realizado de forma emparelhada, combinando os dados obtidos no tratamento de oxidação da matriz orgânica pelo método oficial em comparação com cada um dos tratamentos propostos no trabalho separadamente, sempre cruzando os dados do mesmo alimento.

Para a realização deste teste e obtenção do valor “t” para cada tratamento, é necessário calcular o valor “d”, que é a diferença entre o resultado obtido pelo método proposto em relação ao método oficial para cada alimento. Valores “d” negativos indicam que os resultados do método proposto foram inferiores aos do método oficial e se positivos, superiores. A porcentagem de erro aceitável é de $\pm 20\%$. Os valores em negrito na Tabela 6 apresentaram variações acima de 20 % em relação ao valor obtido pelo método oficial. Observa-se que para o tratamento com peróxido de hidrogênio 4 produtos apresentaram erro acima do aceitável, para o tratamento com ácido clorídrico 5 produtos e para a centrifugação 14 produtos.

Após a determinação do valor “t” para cada tratamento, este foi comparado com o valor disponível em tabela para verificar se existe diferença significativa entre as médias obtidas para um mesmo alimento nos diferentes tratamentos. Verificou-se que houve diferença significativa ao nível de 5 % de significância pelo teste t, apenas para o tratamento com centrifugação. Este teste

confirma os resultados dos anteriores, nos quais também ficou evidenciado que a centrifugação não é indicada como preparo de amostra para a maior parte dos alimentos estudados.

Tabela 6. Valores "d", teste t e limite de erro aceitável para cada alimento

Produtos	H ₂ O ₂ d	HCl d	Cent d	Aceitável ± 20%
Biscoito Cream Cracker	34	-33	-153	219
Biscoito Maisena	-9	-8	-83	106
Pão Francês	12	-54	-79	216,6
Pão de Forma	-32	-29	-71	206,4
Suco / Soja Sabor Pêssego	7	8	-4	3,6
Néctar Sabor Goiaba	-3	-5	-5	1,6
Refrigerante de Cola	-3	-4	-4	2,2
Refrigerante de Guaraná	-2	-4	-3	2,4
Ketchup	-454	-264	-461	415,2
Maionese	-158	-270	-486	409,2
Mostarda	-95	-25	-265	247,8
logurte Sabor Morango	3	-5	-5	6
Leite Integral UHT	-24	-25	-63	24,4
Queijo Minas Frescal	34	-28	-20	78,4
Queijo Prato	-1	139	-163	166,6
Queijo Tipo Cheddar	-284	-76	-746	409,4
Queijo Tipo Mussarela	-58	-3	-212	173,2
Hambúrguer	65	-88	-374	226,2
Peito de Peru	-36	-125	-285	267,6
Presunto	83	98	-407	346,4
Salsicha	-87	194	-450	356,2
Batata Palha	-81	-124	37	508
t calculado	1,94*	1,47*	3	
t tabelado		2,07		

Legenda: d = resultado do método oficial subtraído o resultado do método proposto; Cent = Centrifugação; * = não significativo pelo teste t ao nível de 5 % de significância

Todos os alimentos analisados possuem sódio adicionado, o que contribui para maior facilidade de liberação deste elemento para leitura. Entretanto, este mineral pode estar complexado com outros elementos ou grupamentos químicos presentes nos alimentos.

A composição dos alimentos panificados difere dos demais por ser rica em amido, composto que não possui grupos químicos que interagem com

minerais, o que não ocorre com proteínas, ácidos graxos livres e alguns aditivos à base de ânions, por exemplo, fosfatos, que possuem grupamentos que atraem cátions (Fennema et al, 2010).

Possivelmente, nas bebidas, o sódio esteja complexado com fosfatos, formando compostos refratários que não são dissociados na chama, o que impediria a liberação e detecção do mesmo. As análises dos alimentos tipo bebidas foram refeitas em todos os tratamentos propostos, em triplicata, confirmando os resultados que subestimam os teores reais de sódio.

Cada teste utilizado para avaliar a exatidão das metodologias (teste de tendência, regressão linear, teste F e teste t de student (emparelhado), possuem particularidades e divergências em alguns resultados.

1. Pelo teste de correlação e teste F, todos os métodos testados possuem exatidão. Entretanto nenhum destes testes avaliam a exatidão por grupo de alimentos, conforme ocorre com o teste de tendência.

2. Pelo teste de tendência, o tratamento com peróxido de hidrogênio não apresentou exatidão apenas para o grupo das bebidas.

3. Pelo teste t de student (emparelhado) o método de centrifugação não possui exatidão. Mas este teste também não identifica em qual grupo de alimento os resultados não estão exatos.

Considerando os resultados de todos os testes, pode-se inferir dentre os métodos propostos, que os melhores tratamentos foram com peróxido de hidrogênio e ácido clorídrico para todos os grupos de alimentos, exceto para as bebidas. Estas modificações trouxeram como principais benefícios a diminuição de aproximadamente 1 hora ou mais do tempo de análise e baixo custo.

O limite de detecção encontrado neste trabalho foi $0,15 \text{ mg.L}^{-1}$ e o limite de quantificação $0,30 \text{ mg.L}^{-1}$ de sódio. Chen et al (2005) determinaram limite de detecção de sódio em alimentos e encontraram $0,14 \text{ mg.L}^{-1}$. Adotando-se o mesmo método para determinar o limite de quantificação, que é duas vezes o limite de detecção segundo Cauculte e Body (1983), o limite de quantificação encontrado por Chen et al (2005) seria $0,28 \text{ mg.L}^{-1}$ de sódio, valor próximo ao determinado neste estudo.

Observa-se que os métodos propostos apresentaram boa repetibilidade, visto que as dispersões de 20 determinações para três soluções de concentrações diferentes, em torno da média, apresentaram desvios padrão

menores que os valores calculados para “r” em todas as três concentrações avaliadas (Tabela 7).

Tabela 7. Concentração do padrão, média de 20 leituras, desvio padrão (DP) e repetibilidade (r) para as concentrações de sódio

Mineral	Concentração (mg.L ⁻¹)	Média	DP	r
Sódio	5	5,38	0,077	0,23
	10	9,8	0,173	0,51
	15	13,63	0,108	0,32

Os limites de precisão intermediária asseguram a reprodução dos resultados ainda que em condições diferentes. Desta forma, é esperado que mesmo em tempos distintos, com analistas e equipamentos diferentes, os resultados não se alterem (Tabela 8).

Tabela 8. Concentração conhecida, média de 20 leituras, coeficientes de variação (CV) e desvio padrão de precisão intermediária - S(pi) - para as três concentrações de sódio

	Concentração (mg.L ⁻¹)	Média	CV (%)	S(pi)
1° dia	5	5,38	1,42	0,09
2° dia	5	5,11	2,03	
1° dia	10	9,97	1,37	0,16
2° dia	10	9,8	1,76	
1° dia	15	13,63	0,79	0,22
2° dia	15	14,39	2,07	

CONCLUSÃO

Todos os testes apresentaram precisão satisfatória. Quanto à exatidão, os tratamentos das amostras com peróxido de hidrogênio apresentaram melhor desempenho, seguido pelo tratamento com ácido clorídrico. Os resultados do tratamento com peróxido de hidrogênio não foi exato apenas para o grupo das

bebidas e “ketchup”. O tratamento com ácido clorídrico não apresentou exatidão satisfatória para o leite, batata palha e o grupo das bebidas. Para os demais alimentos esses tratamentos podem ser utilizados em substituição ao método oficial, propiciando redução de custo, tempo e, ou quantidade de reagente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ayyash, Mutamed M; Shah, Nagendra P. (2011) Effect of partial substitution of NaCl with KCl on proteolysis of Halloumi Cheese. *Journal of food science*, 1:31-37.
2. Baptista, Débora P. et al. (2009) Salsicha com teores reduzidos de gorduras e sódio características tecnológicas, físico-químicas, microbiológicas e sensoriais. Disponível em: <<http://www.iac.sp.gov.br/areadoinstituto/pibic/anais/2009/Artigos/RE0901030.pdf>> Acessado em 10 de dezembro de 2012.
3. Brasil (2003a) Ministério da Saúde. Resolução nº 899. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. *Diário Oficial da União*, 2 de junho.
4. Brasil. (2003b) Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 360. Aprova Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados, tornando obrigatória a rotulagem nutricional. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, 26 de dezembro.
5. Bueno, Micheli Maria. (2012) Desenvolvimento e aceitabilidade de pão de forma enriquecido com polidextrose e flocos de quinoa. Trabalho de Conclusão de Curso (Faculdade de Tecnologia em Alimentos) - Bento Gonçalves – RS, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul – IFRGS, 71p.
6. Caulcutt, Roland; Boddy, Richard. (1983) *Statistic for analytical chemists*. 1. ed. Londres: Chapman and Hall, 253p.
7. Chen, Min-Jane et al. (2005) Flame photometric determination of salinity in processed foods. *Food Chemistry*, 4:765-770.
8. Fennema, Owen R. et al. (2010) *Química de Alimentos*. 4. ed. São Paulo: Artmed, 900p.
9. Ferrari, Cristhiane Caroline; Soares, Lucia Maria Valente. (2003) Concentrações de sódio em bebidas carbonatadas nacionais. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 3:414-417.
10. Ferreira, Karla S. et al. (2002) Concentrações de selênio em alimentos consumidos no Brasil. *Revista Panamericana Salud Publica*. 3:172-77.

11. Ferreira, Karla Silva et al. (2004) Teores de Sódio de Potássio em Alimentos Consumidos no Brasil. *Revista Brasileira de Economia Doméstica*, 1:85-96.
12. Gomes, J. Carlos., OLIVEIRA, G. Fonseca (2011) Análise físico-químicas de alimentos. 1. ed. Viçosa: UFV, 303p.
13. Guyton, Arthur C; Hall, John E. (2006) Tratado de Fisiologia Médica. 11. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 1128p.
14. Haj-Isa, Niurka Maritza A.; Carvalho, Elisangela Silva. (2011) Desenvolvimento de biscoito, tipo salgado, enriquecidos pela adição de merluza. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, 2:313-318.
15. Huber, Ludwig. (1998) Validation of analytical methods: review and strategy. *LG/GC International Magazine*, 1:96-105.
16. INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (2011) DOQ-CGCRE-008 - Orientação sobre validação de métodos analíticos. Rio de Janeiro, 2011. 20p.
17. Molina, Maria Del Carmen Bisi et al. (2003) Hipertensão arterial e consumo de sal em população urbana. *Revista Saúde Pública*, São Paulo, 31:743-750.
18. Moraes, Geórgia Maciel Dias de et al. (2010) Avaliação da informação nutricional contida nos rótulos de biscoitos do tipo cream cracker. Congresso Norte e Nordeste de Pesquisa e Inovação, 5, Maceió.
19. Morgano, Marcelo Antônio et al. (1999) 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.
20. Moura, Neila Camargo de. (2008) Característica físico-químicas, nutricionais e sensoriais de pão de forma com adição de grãos de linhaça (*Linum usitatissimum*). Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Piracicaba – SP, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ, 95p.
21. NAS – National Academies Science. Instituto de Medicina (2004). Dietary reference intakes for water, potassium, sodium, chloride, and sulfate. Washington, DC, 2004, 617p.
22. Nascimento, Marcelo Mazza; Riella, Miguel Cardoso. (2001) Metabolismo da Água, Sódio, Potássio e Magnésio na Insuficiência Renal Crônica. In: Teixeira, Patrícia Sígolo; Riella, Miguel Cardoso. *Nutrição e o rim*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 27-32.
23. Nascimento, Renata do. (2010) Redução de cloreto de sódio e substituição de nitrito de sódio em produto cárneo embutido cozido: características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais. Dissertação (Mestrado em

Tecnologia de Alimentos) – Campinas – SP, Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP, 142p.

24. NEPA – Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação (2011) Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO). 4. ed. Campinas: NEPA- Unicamp, 161p.
25. Pimentel-Gomes, F. (2009) Curso de estatística experimental. 15. ed. Piracicaba: FEALQ, 451p.
26. Rodrigues, Hayla Félix et al. (2010) Avaliação de rotulagem nutricional, composição centesimal e teores de sódio e potássio em batatas-palha. *Revista Instituto Adolfo Lutz*. 3:423-427.
27. Silva, Luiz Fernando Miranda; Ferreira, Karla Silva. (2010) Avaliação de rotulagem nutricional composição química e valor energético de queijo frescal, queijo minas frescal “light” e ricota. *Alimentos e Nutrição*, Araraquara, 3:437-441.
28. Soares, Lucia M. Valente et al. (2004) Composição mineral de sucos concentrados de frutas brasileiras. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, 2:202-206.
29. Taiz, Lincoln; Zeiger, Eduardo. (2004) Fisiologia Vegetal. 3. ed. Porto Alegre: Artmed. 722p.
30. USDA – National Nutrient Database for Standard Reference. Disponível em: <<http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/Data/SR21/nutrlist/sr21w307.pdf>> Acessado em 25 de janeiro de 2013.
31. Vogel, Arthur I. (1992) Análise Química Quantitativa. 5. ed. Rio de Janeiro: LTC, 712p.
32. Zenebon, Odair; Pascuet, Neus; Tiglea Paulo. (2008) Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos. 4. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020p.

AVALIAÇÃO DE MODIFICAÇÕES NO PREPARO DE AMOSTRAS DE
ALIMENTOS PARA DETERMINAÇÃO DE POTÁSSIO

EVALUATION OF CHANGES IN THE PREPARATION OF FOOD SAMPLES
FOR DETERMINATION OF POTASSIUM

Jeferson dos Santos Silva e Karla Silva Ferreira

Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias (CCTA),
Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF),
Avenida Alberto Lamego, 2000, CEP: 28013-602,
Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, Brasil, Telefone: (22) 2739-7160

RESUMO

O potássio é um mineral amplamente distribuído nos alimentos, importante no metabolismo dos animais e por isso sua presença nas dietas é indispensável. Seu consumo é recomendado para prevenir o desenvolvimento de doenças cardiovasculares. Entretanto, em portadores de insuficiência renal crônica sua ingestão deve ser severamente controlada, visto que o acúmulo deste mineral no sangue pode ocasionar náuseas, tontura e parada cardíaca. O método oficial de se analisar potássio em alimentos requer uma etapa de preparo das amostras com tratamento ácido e calor, que é dispendioso e demorado. Sendo assim, este trabalho teve como objetivo testar métodos alternativos, com baixas quantidades de reagente e menor tempo, para o preparo de amostras para análise de potássio por emissão de chama visando rapidez, baixo custo e praticidade. Amostras de alimentos panificados, lácteos, bebidas, molhos, cárneos e batata palha foram tratadas com peróxido de hidrogênio, ácido clorídrico e centrifugação. A exatidão

dos procedimentos foi avaliada pela comparação dos resultados obtidos com esses procedimentos e os obtidos com a metodologia oficial por meio de regressão linear, teste F, teste t de student (emparelhado) e teste de tendência e a precisão por meio do coeficiente de variação de repetições da mesma amostra em cada tratamento. A porcentagem de recuperação foi realizada com todos os tratamentos pela adição de analito. Verificaram-se também, os limites de detecção e quantificação, que foram $0,15 \text{ mg.L}^{-1}$ e $0,30 \text{ mg.L}^{-1}$ respectivamente, indicando boa sensibilidade e especificidade pelo equipamento utilizado para leitura. A taxa de recuperação, utilizando-se o tratamento das amostras pelo método oficial, teve apenas um resultado fora da faixa aceitável, entre 80 % e 120 %. Pela análise de regressão a centrifugação não obteve exatidão satisfatória, diferente dos demais tratamentos. Pelo teste F e teste t, todos os tratamentos apresentaram exatidão satisfatória. Pelo teste de tendência, o tratamento com peróxido de hidrogênio não foi exato para biscoito cream cracker, pão francês, suco a base de soja sabor pêssego, refrigerante de cola e refrigerante de guaraná, com ácido clorídrico para refrigerante de guaraná, maionese e mostarda e a centrifugação apenas para batata palha. Para os demais alimentos esses tratamentos podem ser utilizados em substituição ao método oficial, propiciando redução de custo, tempo e, ou quantidade de reagente.

Palavras chave: Composição de alimentos, minerais, análise de alimentos, emissão de chama.

ABSTRACT

Potassium is a mineral widely distributed in foods, in the metabolism of animals and therefore their presence in the diet is essential. Its consumption is recommended to prevent the development of cardiovascular disease. However in patients with chronic renal failure their intake should be strictly controlled, since the accumulation of this mineral in the blood can cause nausea, dizziness and cardiac arrest. The official method of analyzing potassium food preparation requires a step of treating the samples with acid and heat, which is costly and time consuming. Thus, this study aimed to test alternative methods, with low amounts

of reagent and less time for the preparation of samples for potassium by flame emission aiming speed, low cost and practicality. Samples of baked foods, dairy products, beverages, sauces, meat and french fries were treated with hydrogen peroxide, hydrochloric acid and centrifugation. The accuracy of the procedure was assessed by comparing the results obtained with these procedures and those obtained with the official method for linear regression, F-test, paired Student's t test and trend test. The accuracy by the coefficient of variation of the same sample replicates per treatment. The percentage recovery was performed with all treatments by addition of analyte. It also limits of detection and quantification were $0,15 \text{ mg.L}^{-1}$ and $0,30 \text{ mg.L}^{-1}$, respectively, indicating good sensitivity and specificity of the apparatus used for reading. The recovery rate by using the sample treatment by the official method, only one result was outside the acceptable range, between 80 % and 120 %. Regression analysis, centrifugation did not obtain satisfactory accuracy, different from other treatments. The F test and t test, all treatments showed satisfactory accuracy. By trend test treatment with hydrogen peroxide was not accurate for cream cracker biscuit, French toast, juice, soy-based peach flavor, cola and guarana soda, hydrochloric acid to guarana soda, mayonnaise and mustard and centrifuging just for potato chips. For other foods such treatment can be used as a substitute for the official method, enabling cost reduction, and time or amount of reagent.

Keywords: Composition of foods, minerals, food analysis, emission flame.

INTRODUÇÃO

O potássio é um elemento químico monovalente essencial para os seres vivos, atuando nas membranas celulares como transmissor de impulsos eletroquímicos (Lehninger, 2002; Valente e Atallah, 2003) e na pressão osmótica intracelular (Riella, 1980), mantendo assim a turgidez da célula e por esse motivo é bem distribuído nos alimentos.

Cerca de 95 % de todo potássio presente no corpo humano é intracelular e os demais 5 % estão distribuídos pelo líquido extracelular (Guyton e Hall, 2006). Este é um dos motivos que justificam a dificuldade de determinação de potássio

no organismo humano e nos alimentos, pois para sua liberação é necessário o rompimento das células.

Em indivíduos sadios dificilmente ocorrerá excesso ou escassez de potássio no sangue, visto que os rins podem se adaptar rapidamente em ambas as situações e controlá-las (Guyton e Hall, 2006). Já em indivíduos com insuficiência renal seu consumo deve ser controlado, pois o excesso pode desencadear fraqueza e parada cardíaca (Riella, 1980). Por este motivo, é interessante que os teores de potássio sejam declarados nos rótulos dos alimentos.

A ingestão diária de potássio recomendada pela Academia Nacional de Ciência dos Estados Unidos 4700 mg.dia^{-1} (NAS, 2004). A legislação brasileira de rotulagem de alimentos não obriga a declaração dos teores de potássio presentes nos alimentos (Brasil, 2003b).

Para a análise de potássio pelo método oficial, primeiramente, são preparadas soluções após a oxidação da matéria orgânica das amostras de alimentos por via úmida, com utilização de ácido nítrico, peróxido de hidrogênio sob aquecimento. Essas soluções são levadas para leitura dos teores de potássio por emissão atômica com plasma indutivamente acoplado.

Outros procedimentos são também utilizados, como a oxidação da matéria orgânica por calcinação em mufla a $400 - 500 \text{ }^\circ\text{C}$ e posteriormente preparadas soluções que são submetidas à leitura por métodos diversos, sendo os mais frequentes a absorção atômica com chama (Zenebon; Pascuet e Tigleas, 2008) e emissão de chama, nesse último caso podendo ser em equipamento de absorção atômica no modo de emissão ou usando fotômetro de chama (Ferreira et al., 2002).

Ambos os processos são demorados, onerosos e, em alguns casos, demandam o uso de equipamentos sofisticados. No caso da digestão por via úmida, um dos ácidos utilizados é o ácido nítrico, cuja comercialização é controlada ora pelo Exército e ora pela Polícia Federal, que fazem exigências quanto à quantidade adquirida, local de armazenamento e forma de utilização do produto, o que em muitos casos dificulta sua aquisição.

Desta forma, o presente estudo tem como objetivo testar e avaliar novos procedimentos para a liberação do potássio da matriz orgânica para sua

determinação por emissão de chama em alguns alimentos, buscando a redução do custo e a diminuição do tempo de análise.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras

Foram analisados os seguintes alimentos: panificados (pão de forma, pão francês, biscoito de maizena, biscoito cream-cracker), bebidas (suco à base de soja sabor pêssego, refrigerante de cola, refrigerante de guaraná, néctar sabor goiaba), molhos (maionese, ketchup, mostarda), laticínios (queijo tipo mussarela, queijo tipo cheddar, queijo prato, queijo minas frescal, leite integral UHT e iogurte sabor morango), cárneos (peito de peru, presunto, hambúrguer, salsicha) e batata palha.

As amostras destes alimentos foram homogeneizadas, trituradas quando sólidas e pesadas em balança analítica, peso exato em torno de 2 g, em erlenmeyer de 125 mL, tubos de ensaio ou tubos de centrifugação tipo Falcon, em triplicata e submetidas aos processos de digestão pelos métodos oficial e propostos. Quando necessário, foram armazenadas em recipientes de polietileno e sob refrigeração (5 - 7 °C) por no máximo 24 horas.

Avaliação das modificações propostas

As modificações foram realizadas durante a etapa de preparo das amostras alterando os reagentes e a temperatura de aquecimento. Os teores de potássio detectados foram comparados com os teores obtidos quando as amostras foram submetidas à oxidação da matéria orgânica pelo método oficial por meio dos seguintes testes: tendência, regressão linear, teste F e teste t de student (emparelhado). Os testes para validação aplicados seguiram as orientações da Resolução nº 899 - Guia para validação de métodos analíticos e bio-analíticos da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil, 2003a) e Orientação sobre validação de métodos analíticos do Instituto Nacional de Metrologia Qualidade e Tecnologia - Documento Orientativo da Coordenação Geral de Acreditação - DOQ-CGCRE 008 (INMETRO, 2011), cujas informações são baseadas nas orientações dos órgãos internacionais.

Preparo das amostras pelo método oficial

As amostras previamente pesadas foram submetidas à digestão via úmida com ácido nítrico (aproximadamente 65 % v.v⁻¹) e peróxido de hidrogênio (aproximadamente 30 % v.v⁻¹) sob aquecimento até total oxidação da matriz orgânica do alimento. Em seguida foram levadas a volume final de 50 mL para posterior leitura dos teores de potássio (Zenebon; Pascuet e Tiglea, 2008).

Preparo das amostras com peróxido de hidrogênio

Às amostras previamente pesadas em tubos de ensaio, foram adicionados 5 mL de água desmineralizada e 5 mL de peróxido de hidrogênio (aproximadamente 30 % v.v⁻¹). Em seguida foram aquecidas em bloco de aquecimento, marca Tecnal – TE007A, regulado a 100 °C por 20 minutos. Após este tempo, o volume foi completado para 50mL com água desmineralizada, as soluções foram filtradas em kitassato com papel filtro tarja preta, 110 mm de diâmetro, usando-se bomba a vácuo, ajustada entre 100 – 150 psi e acondicionadas sob refrigeração em frascos de polietileno até o momento das leituras.

Preparo das amostras com ácido clorídrico

Às amostras previamente pesadas em tubos de ensaio, foram adicionados 5 mL de água desmineralizada e 5 mL de ácido clorídrico (aproximadamente 37 % v.v⁻¹) aquecidos em bloco de aquecimento, com temperatura regulada para 100 °C até escurecimento total da amostra, aproximadamente, 30 a 40 minutos. Em seguida os tubos foram retirados do bloco de aquecimento e adicionou-se 0,5 mL de peróxido de hidrogênio com o tubo ainda aquecido para clarear as soluções, cujos volumes foram completados para 50 mL com água desmineralizada. Estas soluções foram filtradas em kitassato com papel filtro, tarja preta, 110 mm de diâmetro, com auxílio de bomba a vácuo, ajustada entre 100 – 150 psi e acondicionadas em frascos de polietileno até o momento das leituras.

Preparo das amostras por centrifugação

Às amostras previamente pesadas em tubos de centrifugação, tipo Falcon, completou-se o volume para 40 mL com água desmineralizada,

homogeneizou-se com agitação manual e centrifugou-se a 2000 rpm por 5 minutos. O sobrenadante foi utilizado para a leitura.

Procedimento de leitura dos teores de potássio

Embora pelo método oficial a leitura dos teores de potássio seja realizada por emissão atômica usando espectrômetro de plasma indutivamente acoplado, neste trabalho ela foi realizada por emissão de chama, usando fotômetro de chama na faixa de trabalho de 0 – 20 mg.L⁻¹ de potássio. O equipamento foi previamente calibrado com soluções padrão de potássio de 0 e 20 mg.L⁻¹. Esta calibração foi conferida por meio da leitura de soluções de concentrações conhecidas (0,5 mg.L⁻¹; 1 mg.L⁻¹; 5 mg.L⁻¹; 10 mg.L⁻¹ e 15 mg.L⁻¹, além dos pontos 0 mg.L⁻¹ e 20 mg.L⁻¹. As leituras encontradas para estas soluções foram plotadas contra as concentrações esperadas, apresentando boa linearidade e coeficiente de correlação igual a 0,9994 (Figura 1).

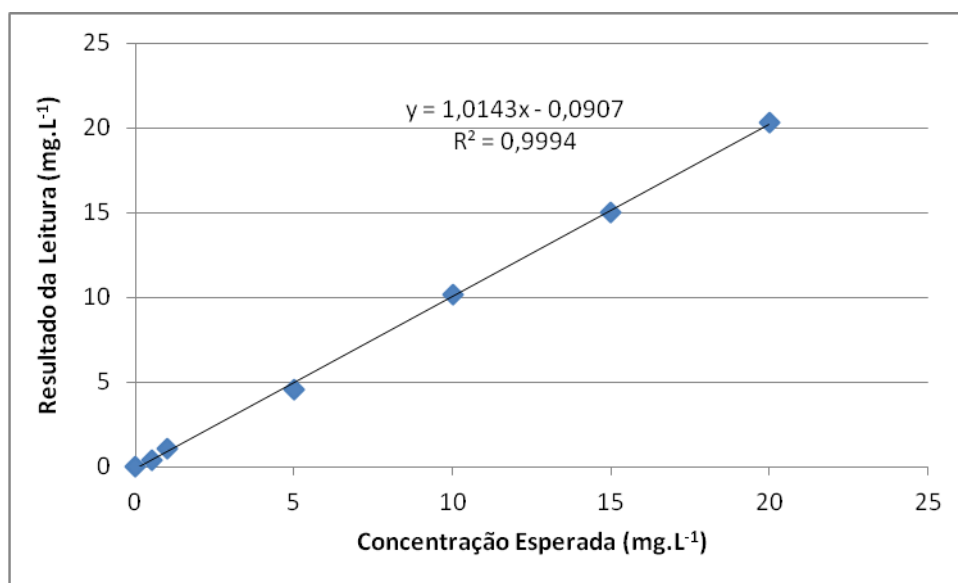


Figura 1. Curva analítica preparada com soluções padrão de potássio

Taxa de Recuperação

A taxa de recuperação foi utilizada para avaliar todos os procedimentos individualmente, inclusive o oficial. Para isso, foram adicionadas às amostras de alimentos, antes da digestão, quantidades conhecidas do analito em um único nível de concentração, correspondente a 100 % da concentração encontrada na

análise do alimento sem adição de analito e o cálculo efetuado conforme a equação (1).

$$R = \left(\frac{C_{\text{encontrado}}}{C_{\text{adicionada}} + C_{\text{amostra}}} \right) \times 100 \quad (1)$$

Em que: R = Recuperação

C encontrado = Concentração do analito na amostra com adição

C amostra = Concentração do analito na amostra sem adição

C adicionada = Concentração adicionada na amostra

Avaliação da Precisão

Precisão: O preparo de cada amostra, em cada tratamento foi realizado em triplicata e assim, pode-se calcular a precisão por meio do coeficiente de variação de cada triplicata, usando-se a equação (2) (INMETRO, 2011).

$$\text{Precisão} = CV = \frac{DP}{CMD} \times 100 \quad (2)$$

Em que: CV = Coeficiente de Variação

DP = Desvio Padrão entre as triplicatas de cada amostra por tratamento

CMD = Concentração Média Determinada entre as triplicatas de cada amostra por tratamento

Avaliação da Exatidão

A exatidão foi avaliada por meio do teste de tendência, teste F, teste t de student (emparelhado) e regressão linear.

Tendência

A porcentagem de tendência ou comparação dos resultados com o método oficial foi calculada para cada amostra por meio da equação (3), considerando o valor obtido pela metodologia oficial como o valor esperado (100 %). (INMETRO, 2011)

$$\text{Tendência} = \frac{\text{Valor Observado}}{\text{Valor Esperado}} \times 100 \quad (3)$$

Em que: Valor Observado = teor obtido pelo método testado.

Valor Esperado = teor obtido pelo método oficial.

Regressão Linear

A regressão linear foi realizada utilizando o suporte de estatística do programa Microsoft Excel, inserindo os resultados obtidos pelo método oficial no eixo Y e os obtidos pelo método proposto no eixo X. Em seguida calculou-se a equação e o coeficiente de correlação linear (r^2) a 5 % de significância.

Teste F

O teste F, indicado para comparação das precisões de dois métodos, foi utilizado para confrontar os resultados obtidos pelos métodos propostos com os resultados obtidos pelo método oficial, usando a equação (4) (Vogel, 1992).

$$F = \frac{S_A^2}{S_B^2} \quad (4)$$

Em que: S_A^2 = maior variância entre os métodos comparados.

S_B^2 = menor variância entre os métodos comparados.

Obs: A maior variância sempre deve ser colocada no numerador e a menor sempre no denominador, após este cálculo o valor deve ser comparado com o valor da tabela F de Fischer ao nível de significância desejado.

Teste t de student (emparelhado)

O teste t de student (emparelhado), indicado para comparação entre métodos por meio das diferenças entre os valores obtidos, foi conduzido usando a equação (5) (Vogel, 1992).

$$t = \frac{d'\sqrt{n}}{S_d} \quad (5)$$

$$S_d = \sqrt{\frac{\sum(d-d)^2}{n}} \quad (6)$$

Em que: d' = Média da subtração dos valores obtidos pelo método oficial e o comparado

n = Número de resultados avaliados

S_d = Desvio padrão das diferenças, previamente calculado pela equação (6)

Limite de Detecção e Quantificação

Soluções padrão de potássio nas concentrações de 0,1 mg.L⁻¹ a 0,5 mg.L⁻¹ foram preparadas e submetidas à leitura até identificação da menor concentração capaz de ser identificada pelo equipamento. Esta solução foi considerada o limite de detecção. O limite de quantificação foi estabelecido como duas vezes o limite de detecção (Caulcutt e Boddy, 1983).

Repetibilidade

Foram selecionadas três soluções de concentrações distintas, 5 mg.L⁻¹, 10 mg.L⁻¹ e 15 mg.L⁻¹. Cada uma destas soluções foi submetida a 20 leituras e os resultados destas leituras, separadamente, foram avaliados pela equação (8), (Caulcutt e Boddy, 1983), para se determinar o limite de repetibilidade (r) referente a cada concentração.

$$r = t \cdot \sqrt{2} \cdot sr \quad (8)$$

Em que: t = valor tabelado ao nível de 5% de confiança para vinte repetições.

sr = desvio padrão calculado

Precisão Intermediária

O limite de precisão intermediária foi avaliado, realizando-se 20 leituras das mesmas soluções padrão de potássio, 5 mg.L⁻¹, 10 mg.L⁻¹ e 15 mg.L⁻¹, em dias distintos e por analistas e equipamentos diferentes. Os resultados de cada grupo de soluções foram submetidos a equação (9), para comparar os resultados de cada solução entre os distintos dias, analistas e equipamentos (INMETRO, 2011).

$$S(pi) = \sqrt{\frac{1}{t(n-1)} \sum \sum (Y_{jk} - Y_j)^2} \quad (9)$$

Em que: $S(pi)$ = Desvio padrão da Precisão Intermediária

t = Total de amostras ensaiadas

n = Total de ensaios efetuados por amostra

k = Número do ensaio da amostra

j = Número da amostra

Y_{jk} = Valor do resultado k para a amostra j

Y_j = Média aritmética dos resultados da amostra j

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os teores de potássio e os desvios detectados pelo método oficial de oxidação da matéria orgânica dos alimentos e pelos procedimentos propostos (preparo das amostras com peróxido de hidrogênio, com ácido clorídrico e centrifugação), estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Teores de potássio (mg por 100 g) detectados nos alimentos por emissão de chama em diferentes processos de preparo das amostras para análise por emissão e chama

Tipo	Produtos	HNO ₃	H ₂ O ₂	HCl	Centrifug
		M ± DP	M ± DP	M ± DP	M ± DP
Panificação	Biscoito Cream Cracker	178 ± 4,3	222 ± 10	176 ± 7	202 ± 0,59
	Biscoito Maisena	150 ± 2,4	169 ± 1,8	179 ± 3,5	176 ± 12
	Pão Francês	177 ± 6	216 ± 9	181 ± 10	190 ± 6
	Pão de Forma	209 ± 2,2	228 ± 9	199 ± 11	198 ± 10
Bebidas	Suco a Base de Soja Sabor Pêssego	47 ± 2,7	65,5 ± 0,38	48 ± 2,7	50 ± 0,14
	Néctar de Fruta Sabor Goiaba	68 ± 1,4	71 ± 4,6	66 ± 1,8	65 ± 0,50
	Refrigerante de Cola	1,46 ± 0,01	0,36 ± 0,01	1,2 ± 0	1,3 ± 0
Molhos	Refrigerante de Guaraná	2,69 ± 0	1,5 ± 0,01	1,7 ± 0,01	2,5 ± 0,21
	Ketchup	723 ± 47	586 ± 17	691 ± 49	665 ± 24
	Maionese	11 ± 0,39	10 ± 0,17	3,4 ± 0,11	10 ± 0,11
Lácteos	Mostarda	34 ± 1,2	34 ± 0,16	23 ± 0,13	30 ± 0,22
	Iogurte Sabor Morango	81 ± 1,7	98 ± 0,59	91 ± 6	82 ± 1,0
	Leite Integral UHT	221 ± 1,2	196 ± 2,4	198 ± 1,7	176 ± 0,50
	Queijo Minas frescal	131 ± 1,9	118 ± 2,4	129 ± 7,1	119 ± 1,8
	Queijo Prato	73 ± 1,4	72 ± 0,83	78 ± 4,9	69 ± 0
	Queijo tipo Cheddar	430 ± 4,3	425 ± 5,9	430 ± 8	367 ± 22
	Queijo Tipo Mussarela	76 ± 0,43	77 ± 0,67	82 ± 0,48	81 ± 1,6

Tabela 1: Cont;

Cárneos	Hambúrguer	418 ± 6	393 ± 1,8	395 ± 16	353 ± 4,1
	Peito de Peru	340 ± 3,6	392 ± 9	336 ± 13	328 ± 3,8
	Presunto	337 ± 8,6	351 ± 3,1	344 ± 14	307 ± 7
	Salsicha	366 ± 8,5	389 ± 1,8	375 ± 15	302 ± 19
	Batata Palha	1299 ± 43	1379 ± 9	1404 ± 45	1713 ± 46

Legenda: M ± DP = Média ± Desvio Padrão; Centrifug = Centrifugação

Segundo Brasil (2003a) são aceitáveis taxas de recuperação entre 80 % e 120 %. As taxas de recuperação encontradas para cada alimento e tratamento variaram de 87% a 130% para o tratamento oficial; 74% a 105% para o tratamento com peróxido de hidrogênio; 73% a 113% para o tratamento com ácido clorídrico; e 78% a 121% para o tratamento com centrifugação. Os valores que foram da faixa de recuperação aceitável estão apresentados em negrito na Tabela 2.

Tabela 2. Taxa de recuperação encontrada por meio da adição de quantidades conhecidas de potássio às amostras de alimentos estudados

Produtos	HNO ₃	H ₂ O ₂	HCl	Cent
	Taxa de Recuperação (%)			
Biscoito Cream Cracker	87	81	86	86
Biscoito Maizena	92	84	85	96
Pão de Forma	93	83	92	87
Pão Francês	88	90	87	84
Néctar Sabor Goiaba	98	95	94	98
Refrigerante de Cola	110	90	89	112
Refrigerante de Guaraná	97	98	75	100
Suco / Soja Sabor Pêssego	98	105	92	98
Ketchup	98	93	97	97
Maionese	93	74	70	78
Mostarda	130	99	113	102
Queijo Tipo Mussarela	97	75	73	109
Iogurte Sabor Morango	91	101	93	107
Leite Integral UHT	98	94	90	102
Queijo Minas Frescal	100	94	99	113
Queijo Tipo Cheddar	96	96	93	101
Queijo Prato	92	93	80	90

Tabela 2: Cont;

Hambúrguer	119	95	86	121
Peito de Peru	107	83	84	99
Presunto	113	96	96	99
Salsicha	102	94	103	103
Batata Palha	89	83	89	81

Legenda: Cent = Centrifugação

Na Tabela 3 são mostrados teores de potássio detectados em diferentes alimentos, presentes em trabalhos de outros autores. Observa-se que há concordância entre os resultados da literatura e os encontrados neste trabalho.

Ressalta-se que há variações entre os autores, fato que é aceitável mediante os vários fatores que podem acarretar variação na composição mineral dos alimentos, por exemplo, local de cultivo, maturação, irrigação, adubação recebida (Taiz e Zeiger, 2004), modo de preparo e formulação (NEPA, 2011).

Tabela 3. Teores de potássio em mg.L^{-1} disponíveis na literatura

Produtos	NEPA	USDA	Diversos	
Biscoito Cream Cracker	181	134	204 ⁷	
Biscoito Maizena	142	120	208 ⁷	
Pão Francês	142	128	109 ⁷	
Pão de Forma	163	184		
Suco / Soja Sabor Pêssego				80 - 143 ⁵
Néctar Sabor Goiaba			111 - 114 ¹³	98 - 173 ¹⁸
Refrigerante de Cola	1	2		
Refrigerante de Guaraná	1	2		
Ketchup		316		
Maionese	16	21		
Mostarda		140		
Iogurte Sabor Morango	52	155	126 ⁷	
Leite Integral UHT	133	140	145 ⁷	
Queijo Minas Frescal	105		148 ⁷	
Queijo Prato	73			83,9 - 87,8 ¹¹
Queijo Tipo Cheddar		100		
Queijo Tipo Mussarela	62	78		74,6 - 75,4 ¹¹
Hambúrguer	383			160 - 213 ¹
Peito de Peru		297		
Presunto	307	350	284 ⁷	
Salsicha		292	142 ⁷	
Batata Palha	1014	578		600 - 834 ¹⁷

* = Número referente ao autor citado nas referências bibliográficas

Os valores de precisão para cada procedimento e as porcentagens de tendência estão apresentados na tabela 4. Observa-se que a precisão variou entre 0 – 7 com o preparo das amostras pelo método oficial. Quando preparado com peróxido de hidrogênio a precisão variou de 0,46 – 7; com ácido clorídrico variou entre 0 – 7; e pela centrifugação variou entre 0 – 8. Todos os valores de precisão foram inferiores a 10, portanto todos os resultados foram aceitáveis de acordo com Pimentel-Gomes (2009).

A tendência, que é a comparação da média de cada resultado em relação ao resultado obtido pelo procedimento oficial, expressa a exatidão da metodologia testada. A faixa aceitável para esta variável compreende os valores entre 80% e 120%, conforme Brasil (2003a).

Para o procedimento com peróxido de hidrogênio, exceto para biscoito cream cracker, pão francês, suco a base de soja sabor pêssego, refrigerante de cola e guaraná, foram obtidos valores de tendência entre 88% e 120%. Para o procedimento com ácido clorídrico, exceto para o refrigerante de guaraná, maionese e mostarda, foram obtidos valores de tendência entre 87% e 119%. Já para o procedimento com centrifugação não foi obtido valor de tendência dentro da faixa aceitável apenas para a batata palha, os demais alimentos obtiveram valores de tendência entre 80% e 117%. Observa-se que a exatidão do tratamento se alterou de acordo com a matriz alimentar, indicando que o tratamento não se aplica a todas as matrizes de alimentos.

Tabela 4. Porcentagens de Precisão e Tendência calculadas para os alimentos nos diferentes processos

Tipo	Produtos	HNO ₃ H ₂ O ₂		HCl		Centrifug		
		Prec	Prec	Tend	Prec	Tend	Prec	Tend
Panificação	Biscoito Cream Cracker	2,4	4,8	124	4,3	99	0,29	113
	Biscoito Maisena	1,6	1,1	112	2,0	119	7	117
	Pão Francês	3,7	4,4	122	6	102	3,2	107
	Pão de Forma	1,1	4,1	109	6	95	5,4	95
Bebidas	Suco / Soja Sabor Pêssego	6	0,6	137	6	101	0,29	104
	Néctar de Fruta Sabor Goiaba	2,1	7	104	2,7	97	0,76	96
	Refrigerante de Cola	1,2	2,8	24	0	87	0,29	95

Tabela 4: Cont;

	Refrigerante de Guaraná	0	0,54	59	0,36	65	8	93
Molhos	Ketchup	7	3,0	81	7	95	3,6	92
	Maionese	3,4	1,7	85	0,36	29	1,0	90
	Mostarda	3,6	0,47	99	0,56	67	0,75	87
Lácteos	Iogurte Sabor Morango	2,1	0,59	120	7	111	1,3	101
	Leite Integral UHT	0,57	1,2	88	0,86	89	0,28	80
	Queijo Minas frescal	1,5	2,1	90	5	99	1,6	91
	Queijo Tipo Mussarela	0,57	0,86	101	0,58	107	2,1	106
Cárneos	Hambúrguer	1,6	0,46	94	4,2	94	1,2	84
	Peito de Peru	1,1	2,3	115	4,1	99	1,2	96
	Presunto	2,6	0,89	104	4,2	102	2,3	91
	Salsicha	2,3	0,46	106	4,0	102	7	82
	Batata Palha	3,3	0,67	106	3,3	108	2,7	132

Legenda: Prec = Precisão, Tend = Tendência; Centrifug = Centrifugação

O coeficiente de correlação da regressão linear é outra forma de comparar dois métodos analíticos. Para este parâmetro, quanto mais próximo a 1 for o coeficiente de correlação, mais os resultados de ambos os métodos se assemelham e possuem comportamento semelhantes (Gomes e Oliveira, 2011).

Os coeficientes de correlação linear (r^2) variaram entre 0,9586 a 0,9953. O r^2 mais elevado, foi obtido entre o método oficial e o tratamento com ácido clorídrico. Com exceção do r^2 obtido quando comparado o tratamento oficial com a centrifugação, os coeficientes foram semelhantes, sendo obtido $r^2 > 0,99$ apenas quando comparado tratamento oficial com peróxido de hidrogênio (Figura 2).

De posse desses resultados, observa-se pouca semelhança entre o tratamento oficial e a centrifugação, já para os demais tratamentos faz-se necessário a junção de resultados de outras análises para a tomada de decisão quanto ao melhor método a ser adotado.

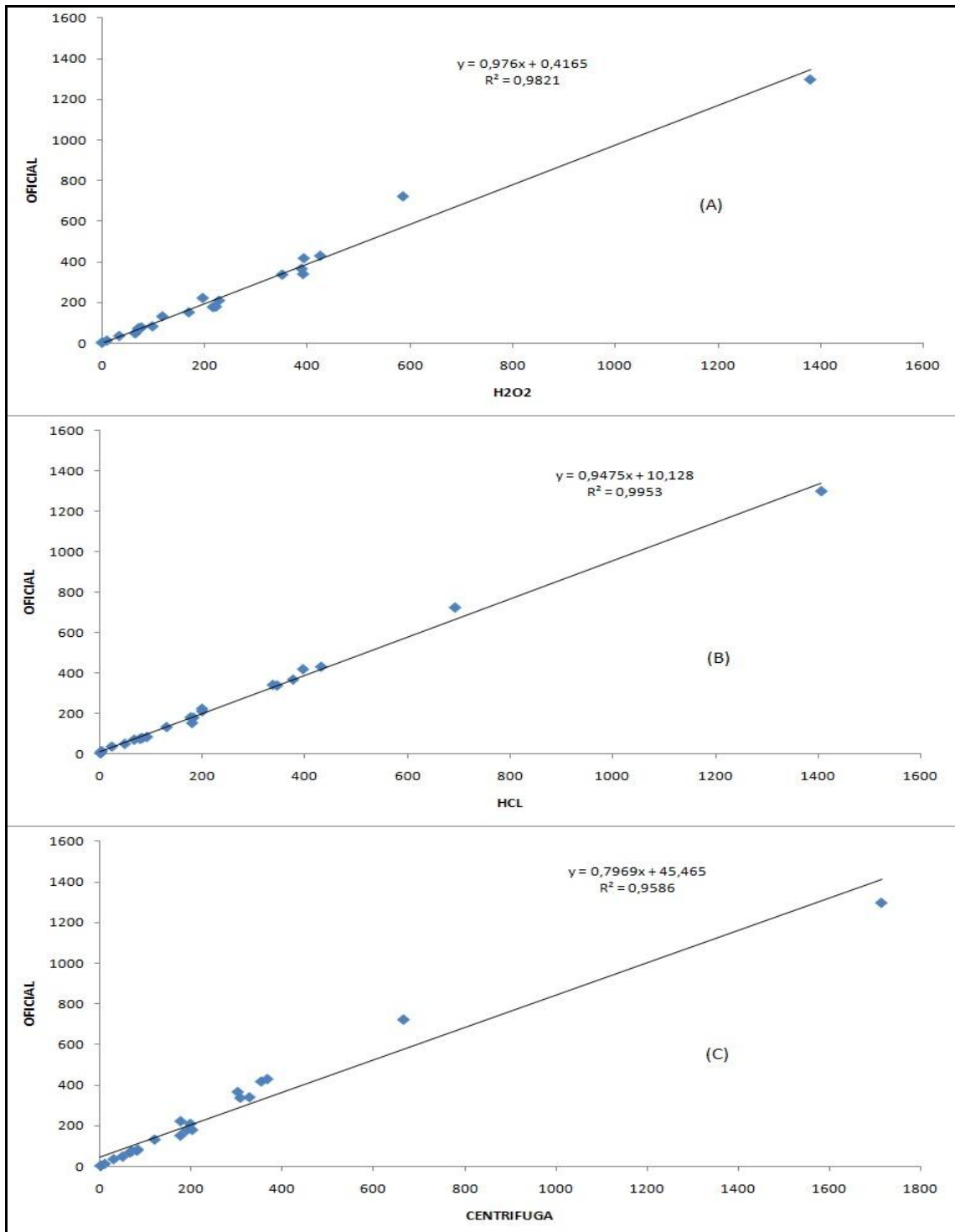


Figura 2. Regressão linear entre os resultados do método oficial e do método com peróxido de hidrogênio (A); entre o método oficial e o método com ácido clorídrico (B); e entre o método oficial e o método de centrifugação (C).

De acordo com o teste F não há diferença entre os tratamentos (Tabela 5). Observa-se que o F tabelado é maior que o valor F calculado para todos os

métodos. Desta forma aceita-se a hipótese de nulidade e assume-se que não há diferença significativa ao nível de 5% pelo teste F entre os obtidos pelos métodos propostos em comparação aos resultados obtidos pelo método oficial.

Tabela 5. Teste F aplicado para comparação das variâncias entre os métodos propostos e o método oficial

Tratamentos				
	Oficial	H ₂ O ₂	HCL	Centrifugação
Variância	87668	90384	97200	132317
F calculado		1,03*	1,11*	1,51*
F tabelado (5%)				2,03

Legenda: * = não significativo pelo teste F, ao nível de 5% de significância

O teste t de student (emparelhado) foi aplicado cobinando os dados obtidos no tratamento de oxidação da matriz orgânica pelo método oficial em comparação com cada um dos tratamentos propostos no trabalho, separadamente, sempre cruzando os dados do mesmo alimento.

Para realização deste teste e obtenção do valor “t” para cada tratamento, é necessário calcular o valor “d”, que é a diferença entre o resultado obtido pelo método proposto em relação ao método oficial para cada alimento. Valores “d” negativos indicam que os resultados do método proposto foram inferiores aos do método oficial e se positivos, superiores. A porcentagem de erro aceitável é de $\pm 20\%$. Os valores em negrito na Tabela 6 apresentaram variações acima de 20% em relação ao valor obtido pelo método oficial. Observa-se que para o tratamento com peróxido de hidrogênio, 6 produtos apresentaram erro acima do aceitável, para o tratamento com ácido clorídrico, 3 produtos e para a centrifugação, apenas 1 produto.

Após a determinação do valor “t” para cada tratamento, este foi comparado com o valor disponível em tabela para verificar se existe diferença significativa entre as médias obtidas para um mesmo alimento nos diferentes tratamentos. Verificou-se que não houve diferença significativa ao nível de 5% de significância pelo teste t, para nenhum tratamento proposto em relação ao

tratamento oficial. Este teste ressalta que existem particularidades inerentes aos métodos propostos de acordo com a matriz do alimento.

Tabela 6. Valores "d" e comparação dos métodos propostos com o método oficial por meio do Teste t student (emparelhado)

Produtos	H ₂ O ₂ d	HCL d	Cent d	Aceitável ± 20 %
Biscoito Cream Cracker	44,0	-2	24	36
Biscoito Maizena	19,0	29	26	30
Pão Francês	39,0	4	13	35
Pão de Forma	19,0	-10	-11	42
Suco / Soja Sabor Pêssego	18,5	1	3	9
Néctar Sabor Goiaba	3,0	-2	-3	14
Refrigerante de Cola	-1,1	0	0	0,3
Refrigerante de Guaraná	-1,2	-1	0	0,5
ketchup	-137,0	-32	-58	145
Maionese	-1,0	-8	-1	2
Mostarda	0,0	-11	-4	7
logurte Sabor Morango	17,0	10	1	16
Leite Integral UHT	-25,0	-23	-45	44
Queijo Minas Frescal	-13,0	-2	-12	26
Queijo Prato	-1,0	5	-4	15
Queijo Tipo Cheddar	-5,0	0	-63	86
Queijo Tipo Mussarela	1,0	6	5	15
Hambúrguer	-25,0	-23	-65	84
Peito de Peru	52,0	-4	-12	68
Presunto	14,0	7	-30	68
Salsicha	23,0	9	-64	73
Batata Palha	80,0	105	414	260
t calculado	0,63*	0,47*	0,25*	
t tabelado		2,07		

d = resultado encontrado pelo método proposto subtraído o resultado encontrado pelo método oficial; Cent = Centrifugação; * = não significativos pelo teste t, ao nível de 5% de significância.

De acordo com os resultados previamente obtidos pelos tratamentos propostos, pode-se concluir que estes possuem exatidão e precisão semelhantes ao método oficial. Entretanto, há a necessidade de conhecer a matriz do alimento que se deseja analisar e uma vez de acordo com o alimento o tratamento que apresenta melhor resultado e praticidade pode se alterar.

Os benefícios de diminuição do tempo de análise em aproximadamente 1 hora e a diminuição do custo são pontos positivos dos métodos propostos neste trabalho.

O limite de detecção encontrado neste trabalho foi $0,15 \text{ mg.L}^{-1}$ e o limite de quantificação foi $0,30 \text{ mg.L}^{-1}$ de potássio.

Observam-se que os métodos propostos apresentaram boa repetibilidade, visto que as dispersões de 20 determinações para três soluções de concentrações diferentes, em torno da média, apresentaram desvios padrão menores que os valores calculados para "r" em todas as três concentrações avaliadas (Tabela 7).

Tabela 7. Concentração do padrão, média de 20 leituras, desvio padrão (DP) e repetibilidade (r) para a concentração de potássio

Mineral	Concentração (mg.L^{-1})	Média	DP	r
Potássio	5	5,45	0,089	0,26
	10	10,27	0,098	0,29
	15	14,64	0,082	0,24

Os limites de precisão intermediária asseguram a reprodução dos resultados, ainda que em condições diferentes. Desta forma, é esperado que mesmo em tempos distintos, com analistas e equipamentos diferentes os resultados não se alterem (Tabela 8). Com base neste dado pode-se inferir que o equipamento utilizado para a realização das leituras estava corretamente calibrado e estável.

Tabela 8. Concentração conhecida, média de 20 leituras, coeficientes de variação (CV) e desvio padrão de precisão intermediária - $S(\rho_i)$ - para as três concentrações de potássio

	Concentração (mg.L^{-1})	Média	CV (%)	$S(\rho_i)$
1º dia	5	5,45	1,63	0,15
2º dia	5	4,77	4,02	
1º dia	10	10,27	0,95	0,23
2º dia	10	9,69	3,23	

1° dia	15	14,64	0,56	0,42
2° dia	15	14,41	4,06	

CONCLUSÃO

Todos os testes apresentaram precisão e exatidão satisfatória, entretanto, o tratamento com centrifugação que obteve baixa coeficiente de correlação linear. Os resultados do tratamento com peróxido de hidrogênio não foi exato para biscoito cream cracker, pão francês, suco a base de soja sabor pêssego, maionese e mussarela. O tratamento com ácido clorídrico não apresentou exatidão satisfatória para refrigerante de guaraná, maionese, mostarda e mussarela. Já a centrifugação não foi exata para batata palha e maionese. Para os demais alimentos, esses tratamentos podem ser utilizados em substituição ao método oficial, propiciando redução de custo, tempo e, ou quantidade de reagente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Barros, Nara V. dos Anjos et al. (2012) Elaboração de hambúrguer enriquecido com fibras de caju. *Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*, 2:315-325.
2. Brasil (2003a) Ministério da Saúde. Resolução – RE nº 899. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. *Diário Oficial da União*, Brasília, 2 de junho.
3. Brasil (2003b) Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 360. Aprova Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados, tornando obrigatória a rotulagem nutricional. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, 26 de dezembro.
4. Caulcutt, Roland; Boddy, Richard. (1983) *Statistic for analytical chemists*. 1. ed. Londres: Chapman and Hall, 253p.
5. Ciaboti, Sueli et al. (2006) Avaliações químicas e bioquímicas dos grãos, extratos e tofus de soja comum e de soja livre de lipoxigenase. *Revista Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, 5:920-929.
6. Ferreira, Karla S. et al. (2002) Concentrações de selênio em alimentos

consumidos no Brasil. *Revista Panamericana Salud Publica*. 3:172-77.

7. Ferreira, Karla Silva. et al. (2004) Teores de Sódio de Potássio em Alimentos Consumidos no Brasil. *Revista Brasileira de Economia Doméstica*. 1:85-96.
8. Gomes, José. Carlos., Oliveira, Gustavo. Fonseca. (2011) Análise físico-químicas de alimentos. 1. ed. Viçosa: UFV, 303p.
9. Guyton, Arthur C; Hall, John E. (2006) Tratado de Fisiologia Médica. 11. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 1128p.
10. INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. DOQ-CGCRE-008 - Orientação sobre validação de métodos analíticos. Rio de Janeiro: INMETRO, 2011. 20p.
11. Kira, Carmen; Maihara, Vera. (2007) Determinação de elementos essenciais maiores e traço em queijos por espectrometria de emissão atômica com plasma de argônio induzido após digestão parcial. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, 3:446-450.
12. Lehninger, Albert Lester. (2002) Princípios de Bioquímica. 3. ed. São Paulo: Sarvier, 897p.
13. Morgano, Marcelo Antônio et al. (1999) 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.
14. NEPA – Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação (2011) Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO). 4. ed. Campinas: NEPA-Unicamp, 161p.
15. Pimentel-Gomes, F. (2009) Curso de estatística experimental. 15. ed. Piracicaba: FEALQ, 451p.
16. Riella, Miguel Cardoso. (1980) Metabolismo do Potássio. *In: Riella, Miguel Cardoso. Princípios da Nefrologia e Distúrbios Hidroeletrólíticos*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 129-150.
17. Rodrigues, Hayla Félix et al. (2010) Avaliação de rotulagem nutricional, composição centesimal e teores de sódio e potássio em batatas-palha. *Revista Instituto Adolfo Lutz*. São Paulo, 3:423-427.
18. Soares, Lucia M. Valente et al. (2004) Composição mineral de sucos concentrados de frutas brasileiras. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, 2:202-206.
19. Taiz, Lincoln; Zeiger, Eduardo. (2004) Fisiologia Vegetal. 3. ed. Porto Alegre: Artmed. 722p.

20. USDA – National Nutrient Database for Standard Reference. Disponível em: <
<http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/Data/SR21/nutrlist/sr21w307.pdf>>
Acessado em 25 de janeiro de 2013.
21. Valente, Orsine; Atalah, Álvaro Nagib. (2003) Distúrbios do Metabolismo do Sódio e Potássio. *Temas Gerais*, São Paulo, 1:1721-1730.
22. Vogel, Arthur I. (1992) *Análise Química Quantitativa*. 5. ed. Rio de Janeiro: LTC, 712p.
23. Zenebon, Odair; Pascuet, Neus; Tiglia, Paulo. (2008) *Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos*. 4. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020p.

AVALIAÇÃO DE MODIFICAÇÕES NO PREPARO DE AMOSTRAS DE
ALIMENTOS PARA DETERMINAÇÃO DE FÓSFORO

EVALUATION OF CHANGES IN THE PREPARATION OF FOOD SAMPLES FOR
DETERMINATION OF PHOSPHORUS

Jeferson dos Santos Silva e Karla Silva Ferreira

Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias (CCTA),
Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF),
Avenida Alberto Lamego, 2000, CEP: 28013-602,
Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, Brasil, Telefone: 2739-7160

RESUMO

O fósforo é um mineral essencial a todos os seres vivos, motivo pelo qual é encontrado tanto nos alimentos de origem vegetal quanto animal. Para os animais superiores, além da transferência de energia, tem também função estrutural. Entretanto seu consumo em excesso por insuficientes renais crônicos pode contribuir para o desenvolvimento de hiperparatireoidismo e calcificação de tecidos moles. A metodologia oficial para determinação de fósforo necessita de uma etapa de preparo das amostras com tratamento ácido e calor, dispendiosa e demorada e, posteriormente, leitura realizada em espectrometria de emissão atômica com plasma de argônio indutivamente acoplado (ICP-OES). Entretanto, a leitura por espectrofotometria UV-Visível é amplamente utilizada para determinação de fósforo em alimentos. Sendo assim, este trabalho teve como objetivo testar métodos alternativos de preparo das amostras de panificados, bebidas, lácteos, cárneos, molhos e batata palha combinados com a técnica de

espectrofotometria UV-Visível para a análise de fósforo em alimentos visando rapidez, baixo custo e praticidade. Amostras dos alimentos foram tratadas com peróxido de hidrogênio, ácido clorídrico e centrifugação. A exatidão dos procedimentos foi avaliada pela comparação dos resultados obtidos com os mesmos e os obtidos pela metodologia oficial por meio dos testes de tendência, regressão linear, teste F e teste t de student (emparelhado). Pelos testes aplicados nenhum dos tratamentos propostos apresentou exatidão satisfatória, de forma que não podem ser utilizados para a determinação de fósforo nos alimentos estudados.

Palavras chave: Composição de alimentos, minerais, análise de alimentos, emissão de chama.

ABSTRACT

Phosphorus is an essential mineral for all living beings, why is found in both plant foods and animal. For higher animals, as well as the transfer of energy, also has a structural function. However its use in excess of chronic renal failure may contribute to the development of hyperparathyroidism and soft tissue calcification. The official method for the determination of phosphorus requires a step of the sample preparation with acid treatment and heat, costly and time consuming, and subsequently reading held in atomic emission spectrometry with inductively coupled plasma (ICP-OES). However by spectrophotometry UV-Visible is widely used for determination of phosphorus in foods. Thus, this study aimed to test alternative methods of sample preparation for bakery, beverage, dairy, meat, sauces and french fries combined with the technique of UV-Visible spectrophotometry for the analysis of phosphorus in foods aimed at speed, low cost and practicality. Food samples were treated with hydrogen peroxide, hydrochloric acid and centrifugation. The accuracy of the procedure was assessed by comparing the results obtained with them, and those obtained by the official method by means of trend tests, linear regression, F-test and Student's t test (paired). Tests applied by any of the treatments proposed showed satisfactory

accuracy, so that they can not be used for the determination of phosphorus in foods studied.

Keywords: Composition of foods, minerals, food analysis, emission flame.

INTRODUÇÃO

O fósforo compõe a membrana das células (fosfolípidos), os ácidos nucleicos e exerce papel central na transferência de energia nos seres vivos (Lehninger, 2002). Nos vegetais é armazenado na forma de ácido fítico e nos animais exerce também função estrutural (Taiz e Zeiger, 2004).

Nos seres humanos, aproximadamente 85% do fosfato encontram-se armazenados nos ossos, enquanto os demais 14% a 15% estão presentes nas células, e menos de 1% no líquido extracelular. Em adultos, os limites normais de fósforo no sangue variam de 3 a 4 mg.dL⁻¹, enquanto em crianças este limite varia de 4 a 5 mg.dL⁻¹ (Guyton e Hall, 2006).

O fósforo, quando em excesso no sangue, favorece o desenvolvimento da hiperfosfatemia e pode contribuir para o hiperparatireoidismo secundário e doença óssea metabólica, resultando na calcificação de tecidos moles (Teixeiras e Riella, 2001). Por outro lado, a escassez caracteriza a hipofosfatemia que pode causar dentre outros problemas, fraqueza muscular, anorexia e distúrbios neurológicos (Riella, 1980). Insuficientes renais crônicos são mais susceptíveis a estes sintomas, pois em indivíduos sadios as concentrações de fósforo no sangue são facilmente reguladas pelos rins.

A ingestão diária recomendada de fósforo é variável conforme a idade e estado fisiológico. Para adultos sadios, o instituto de medicina americano recomenda como ingestão dietética de referência 700 mg.dia⁻¹ (NAS, 1997).

Para a determinação de fósforo, as amostras são submetidas à oxidação da matéria orgânica e posteriormente preparadas soluções que são submetidas à leitura por métodos diversos, sendo o oficial por emissão atômica com plasma indutivamente acoplado (Zenebon, Pascuet e Tiglia, 2008). Embora a metodologia oficial estabeleça que a leitura deve ser realizada em emissão atômica com plasma indutivamente acoplado à técnica de espectrofotometria é

usualmente utilizada em substituição à emissão com plasma por possibilitar a realização desta análise em equipamento de menor custo (Zenebon, Pascuet e Tiglea, 2008).

Para o preparo destas soluções, o procedimento oficial é por via úmida, com adição de ácido nítrico, peróxido de hidrogênio e aquecimento da amostra para oxidação da matéria orgânica. Esta etapa também pode ser realizada por meio da submissão da amostra a temperaturas de 400 – 550 °C em mufla (Zenebon, Pascuet e Tiglea, 2008). Ambos os processos são demorados, onerosos e, em alguns casos, demandam o uso de equipamentos específicos.

Sendo assim, o presente estudo teve como objetivo testar e avaliar novos procedimentos para a liberação do fósforo da matriz orgânica para sua determinação por espectrofotometria UV-Visível, buscando a redução do custo e a diminuição do tempo de análise.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras

Foram analisados os seguintes alimentos: panificados (pão de forma, pão francês, biscoito de maizena, biscoito cream-cracker), bebidas (suco a base de soja sabor pêssego, refrigerante de cola, refrigerante de guaraná, néctar de fruta sabor goiaba), molhos (maionese, ketchup, mostarda), queijos (queijo tipo mussarela, queijo tipo cheddar, queijo prato e queijo minas frescal), cárneos (peito de peru, presunto, hambúrguer, salsicha) e batata palha.

As amostras destes alimentos foram homogeneizadas, trituradas quando sólidas e pesadas em balança analítica, com peso exato em torno de 2 g, em erlenmeyer de 125 mL, tubos de ensaio ou tubos de centrifugação tipo Falcon, em triplicata, e submetidos aos processos de digestão pelos métodos oficial e propostos. Quando necessário, foram armazenados em recipientes de polietileno e mantidos sob refrigeração (5 – 7 °C) por no máximo 24 horas.

Avaliação das modificações propostas

As modificações foram realizadas durante a etapa de digestão das amostras, alterando principalmente os reagentes e a temperatura de

aquecimento. Os teores de fósforo detectados foram comparados com os teores obtidos quando as amostras foram submetidas à oxidação da matéria orgânica pelo método oficial pelos seguintes testes: tendência, regressão linear, teste F e teste t de student (emparelhado).

Preparo das amostras pelo método oficial

As amostras previamente pesadas em erlenmeyer foram submetidas à digestão por via úmida com ácido nítrico (aproximadamente 65 % v.v⁻¹) e peróxido de hidrogênio (aproximadamente 30 % v.v⁻¹) sob aquecimento até total oxidação da matriz orgânica, observada quando a solução se apresentava límpida e cristalina. Em seguida, foram levadas a volume final de 50mL e procedeu-se a leitura conforme descrito posteriormente.

Preparo das amostras com peróxido de hidrogênio

Às amostras previamente pesadas em tubos de ensaio, foram adicionados 5 mL de água desmineralizada e 5 mL de peróxido de hidrogênio (aproximadamente 30 % v.v⁻¹). Em seguida foram aquecidas em bloco de aquecimento regulado a 100°C por 20 minutos. Após este tempo, o volume foi completado para 50 mL com água desmineralizada, as soluções foram filtradas em kitassato com papel filtro tarja preta, 110 mm de diâmetro, usando-se bomba à vácuo, ajustada entre 100 – 150 psi e acondicionados em frascos de polietileno para posterior leitura dos teores de fósforo.

Preparo das amostras com ácido clorídrico

Às amostras previamente pesadas em tubos de ensaio, foram adicionados 5 mL de água desmineralizada e 5 mL de ácido clorídrico (aproximadamente 37 % v.v⁻¹) e aquecidas em bloco de aquecimento, com temperatura regulada a 100 °C até escurecimento total da amostra, aproximadamente de 30 a 40 minutos. Em seguida, os tubos foram retirados do bloco de aquecimento e adicionou-se 0,5 mL de peróxido de hidrogênio (aproximadamente 30 % v.v⁻¹) com o tubo ainda aquecido, para clarear as soluções, cujos volumes foram completados para 50 mL com água desmineralizada. Estas soluções foram filtradas em kitassato com papel filtro, tarja preta, 110 mm de diâmetro, com auxílio de bomba à vácuo, ajustada entre

100 – 150 psi e acondicionadas em frascos de polietileno para posterior leitura dos teores de fósforo.

Preparo das amostras por centrifugação

Às amostras previamente pesadas e trituradas em tubos tipo Falcon, completou-se o volume para 40 mL com água desmineralizada, homogeneizou-se com agitação manual e centrifugou-se a 2000 rpm por 5 minutos. Foram retiradas alíquotas do sobrenadante e procedeu-se a análise conforme descrito no procedimento de leitura.

Leitura dos teores de fósforo

Para os tratamentos oficial, ácido clorídrico e centrifugação foram tomadas alíquotas de 0,1 mL para os alimentos cárneos, queijos e panificados e 1 mL para os demais produtos. Estas alíquotas foram transferidas para tubo de ensaio, completando-se o volume para 8mL com água desmineralizada e adicionando-se 1 mL de solução de molibdato de amônio e 1,0 mL de ácido ascórbico 4 %. Em seguida os tubos foram agitados, deixados em repouso durante 10 minutos.

Para o tratamento com peróxido de hidrogênio foram tomadas alíquotas de 0,1 mL para os alimentos cárneos, queijos e panificados e 0,5 mL para os demais produtos. Estas alíquotas foram transferidas para tubos de ensaio, adicionando-se 1 mL de molibdato de amônio, 2 mL de ácido ascórbico 4% e completando-se o volume para 10 mL com água desmineralizada. Em seguida os tubos foram agitados e a leitura realizada após 10 minutos de repouso.

As leituras foram realizadas em espectrofotômetro UV-Visível, comprimento de onda de 725 nm, na faixa de trabalho de 0 – 5 mg.L⁻¹ de fósforo. A curva analítica foi preparada com soluções padrão de fósforo nas concentrações de 1 mg.L⁻¹, 2 mg.L⁻¹, 3 mg.L⁻¹, 4 mg.L⁻¹ e 5 mg.L⁻¹, apresentou coeficiente de correlação R²= 0,999 e equação $y = 0,9894x - 0,0219$.

Avaliação da Precisão

Precisão: a precisão foi determinada por meio do coeficiente de variação dos resultados obtidos para cada amostra e tratamento, realizados em triplicata usando-se a equação (2) (INMETRO, 2011).

$$PRECISÃO = CV = \frac{DP}{CMD} \times 100 \quad (2)$$

Em que: CV = Coeficiente de Variação

DP = Desvio Padrão entre as triplicatas de cada amostra por tratamento

CMD = Concentração Média Determinada entre as triplicatas de cada amostra por tratamento

Avaliação da Exatidão

A exatidão foi avaliada por meio da tendência, teste F, teste t de student (emparelhado) e regressão linear.

Tendência

A porcentagem de tendência ou comparação dos resultados com o método oficial foi calculada para cada amostra por meio da equação (3), considerando o valor obtido pela metodologia oficial como o valor esperado (100 %) (INMETRO, 2011).

$$EXATIDÃO = \frac{\text{Valor Observado}}{\text{Valor Esperado}} \times 100 \quad (3)$$

Em que: Valor Observado = teor obtido pelo método testado.

Valor Esperado = teor obtido pelo método oficial.

Regressão Linear

A regressão linear foi realizada utilizando o suporte de estatística do programa Microsoft Excel inserindo os resultados obtidos pelo método oficial no eixo Y e os obtidos pelo método proposto no eixo X. Em seguida calculou-se a equação e o coeficiente de correlação linear (r^2) a 5 % de significância.

Teste F

O teste F, indicado para comparação das precisões de dois métodos, foi utilizado para confrontar os resultados obtidos por meio dos métodos propostos com os resultados obtidos pelo método oficial, usando a equação (4) (Vogel,1992).

$$F = \frac{S_A^2}{S_B^2} \quad (4)$$

Em que: S_A^2 = maior variância entre os métodos comparados.

S_B^2 = menor variância entre os métodos comparados.

Obs: A maior variância sempre deve ser dividida pela menor e o resultado comparado com o valor F tabelado ao nível de significância desejado. Neste trabalho utilizou-se 5 % de significância.

Teste t de student (emparelhado)

O teste t de student (emparelhado), indicado para comparação entre métodos por meio das diferenças entre os valores obtidos, foi conduzido usando a equação (5) (Vogel, 1992).

$$t = \frac{d'\sqrt{n}}{S_d} \quad (5)$$

$$S_d = \sqrt{\frac{\sum(d-d)^2}{n}} \quad (6)$$

Em que: d' = Média da subtração dos valores obtidos pelo método oficial e o comparado

n = Número de resultados avaliados

S_d = Desvio padrão das diferenças, previamente calculado pela equação (6)

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Embora as modificações tenham resultado na diminuição de, aproximadamente, uma hora no tempo de preparo das amostras, no custo e na facilidade de aquisição dos reagentes, os resultados encontrados não foram condizentes com aqueles obtidos pelo método oficial. Os teores de fósforo detectados pelo método oficial de oxidação da matéria orgânica dos alimentos e pelos métodos propostos (preparo das amostras com peróxido de hidrogênio, com ácido clorídrico e centrifugação) estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Teores de fósforo (mg por 100 g) detectados nos alimentos submetidos a diferentes processos de oxidação da matéria orgânica e leitura por espectrofotometria a 725 nm

Tipo	Produtos	HNO ₃	H ₂ O ₂	HCl	Centrif
		M ± DP	M ± DP	M ± DP	M ± DP
Panificação	Biscoito Cream Cracker	197 ± 20	146 ± 22	178 ± 87	95 ± 22
	Biscoito Maisena	225 ± 11	36 ± 2	138 ± 62	52 ± 2,8
	Pão Francês	171 ± 2,4	53 ± 7	97 ± 8	111 ± 26
	Pão de Forma	233 ± 8	35 ± 1,5	89 ± 18	77 ± 22
Bebidas	Suco a Base de Soja Sabor Pêssego	18 ± 1,0	12 ± 0,16	7,9 ± 1,1	3 ± 1
	Néctar de Fruta Sabor Goiaba	9 ± 0,66	4,2 ± 2,3	6,4 ± 0,7	3 ± 2
	Refrigerante de Cola	20 ± 2,3	15 ± 3,6	18 ± 1,1	21 ± 3
	Refrigerante de Guaraná	6 ± 0,21	7 ± 0,08	9,8 ± 3	3 ± 0,72
Molhos	Ketchup	38 ± 0,73	17 ± 1,3	18 ± 0,2	23 ± 1,4
	Maionese	16 ± 0,24	7,84 ± 0	9 ± 0,8	6 ± 5
	Mostarda	30 ± 1,3	25 ± 0,23	9 ± 0,9	8 ± 0,89
Lácteos	Queijo Minas Frescal	460 ± 49	332 ± 21	295 ± 26	167 ± 12
	Queijo Prato	579 ± 23	340 ± 45	389 ± 20	108 ± 13
	Queijo Tipo Cheddar	436 ± 57	403 ± 38	348 ± 44	227 ± 23
	Queijo Tipo Mussarela	532 ± 10	361 ± 16	391 ± 40	152 ± 26
Cárneos	Hambúrguer	313 ± 32	247 ± 27	281 ± 42	226 ± 29
	Peito de Peru	375 ± 9,5	198 ± 3	352 ± 31	265 ± 28
	Presunto	269 ± 14	166 ± 44	335 ± 31	182 ± 16
	Salsicha	322 ± 48	157 ± 54	257 ± 48	169 ± 54
	Batata Palha	76 ± 1,9	57 ± 1,4	60 ± 4,2	50 ± 2,4

Legenda: M ± DP = Média ± Desvio Padrão; Centrif = Centrifugação

Observa-se que a precisão variou entre 0,01 e 0,82, resultados abaixo de 10, portanto aceitáveis de acordo com Pimentel-Gomes (2009).

Pelo teste de tendência, os resultados situaram entre 15 % e 143 % para os procedimentos propostos, com apenas 10 resultados na faixa aceitável, entre 80 % a 120 % (Brasil, 2003a), sendo 3 pelo tratamento com peróxido de hidrogênio; 6 obtidos pelo tratamento com ácido clorídrico e 1 pelo tratamento com centrifugação. Valores em negrito na Tabela 2.

Tabela 2. Valores de Precisão e Tendência calculados para cada alimento nos diferentes processos de oxidação da matriz orgânica

Tipo	Produtos	HNO ₃	H ₂ O ₂	Tend	HCl		Centrifugação	
		Prec	Prec		Prec	Tend	Prec	Tend
Panificação	Biscoito Cream Cracker	0,10	0,15	74	0,49	90	0,23	48
	Biscoito Maisena	0,04	0,05	16	0,45	61	0,05	23
	Pão Francês	0,01	0,14	31	0,09	57	0,23	65
	Pão de Forma	0,03	0,04	15	0,20	38	0,28	33
Bebidas	Suco / Soja Sabor Pêssego	0,05	0,0	67	0,15	42	0,35	15
	Néctar Sabor Goiaba	0,07	0,55	47	0,10	71	0,77	38
	Refrigerante de Cola	0,11	0,24	73	0,06	87	0,15	100
	Refrigerante de Guaraná	0,03	0,01	104	0,31	143	0,27	38
Molhos	Ketchup	0,01	0,07	44	0,01	48	0,06	59
	Maionese	0,01	0,05	46	0,08	58	0,82	35
	Mostarda	0,04	0,01	85	0,09	31	0,11	27
Lácteos	Queijo Minas Frescal	0,10	0,06	72	0,08	64	0,07	36
	Queijo Prato	0,04	0,13	59	0,05	67	0,12	19
	Queijo Tipo Cheddar	0,13	0,09	92	0,12	80	0,10	52
	Queijo Tipo Mussarela	0,01	0,04	68	0,10	73	0,17	29
Cárneos	Hambúrguer	0,10	0,11	79	0,15	90	0,13	72
	Peito de Peru	0,02	0,01	53	0,09	94	0,10	71
	Presunto	0,05	0,26	62	0,01	124	0,08	68
	Salsicha	0,15	0,34	49	0,18	80	0,32	52
	Batata Palha	0,03	0,02	76	0,07	79	0,04	66

Prec = Precisão; Tend = Tendência

Quando calculado o coeficiente de correlação linear (r^2), estes variaram entre 0,6221 a 0,9046 (Figura 2). O r^2 mais elevado foi obtido quando se comparou o método oficial e o tratamento com ácido clorídrico, entretanto não atingiu o valor mínimo recomendado, que é 0,99 (Brasil, 2003a).

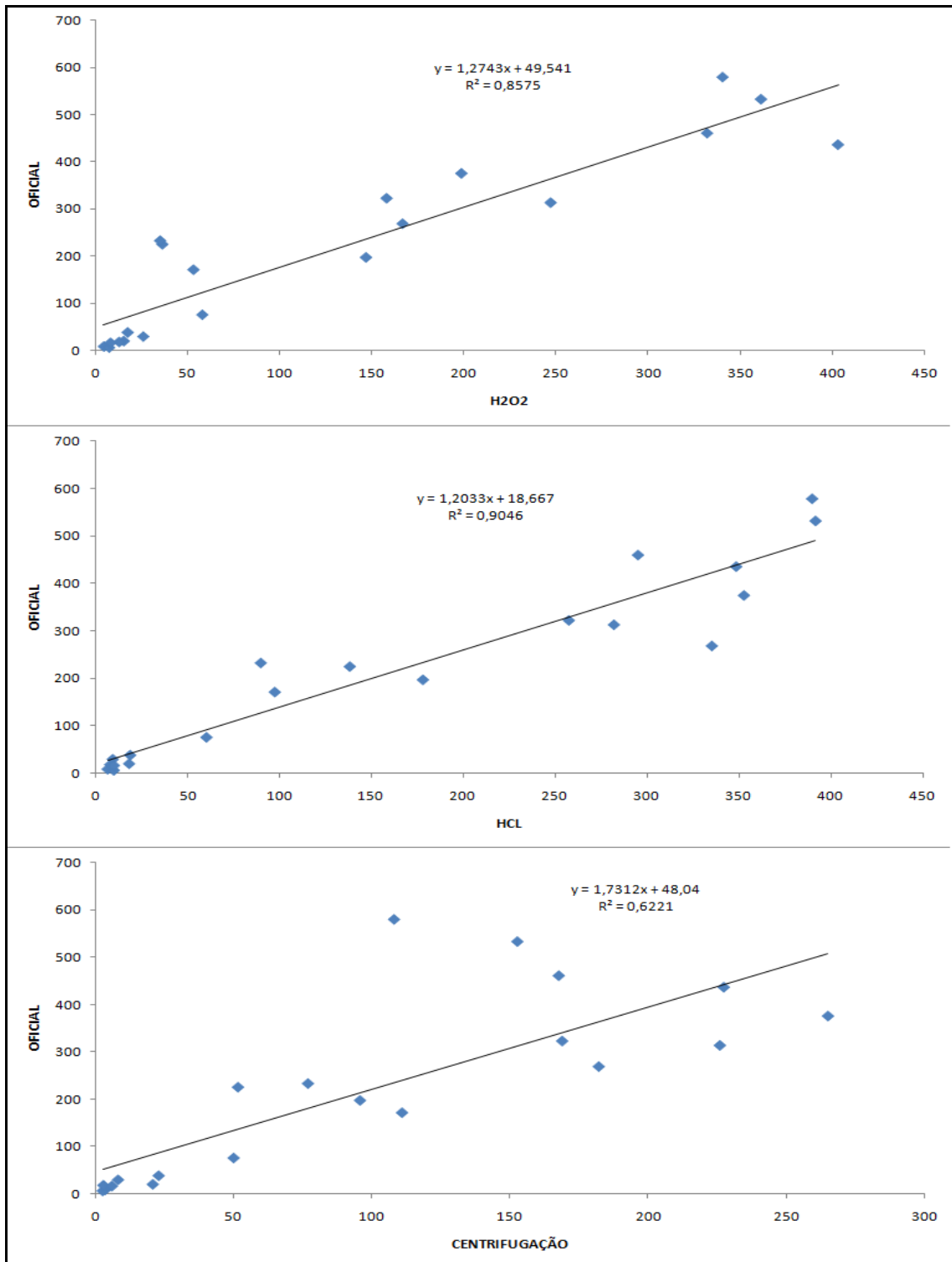


Figura 1. Regressão linear entre os resultados do método oficial e do método com peróxido de hidrogênio (A); entre o método oficial e o método com ácido clorídrico (B); e entre o método oficial e o método de centrifugação (C).

Pelo teste F (Tabela 3) ao nível de 5 % de significância observou-se que dois dos tratamentos propostos não diferiram do método oficial. Porém, este teste avalia apenas uma variável de forma isolada, sendo necessário a aplicação de outros testes estatísticos para se concluir com clareza sobre o bom desempenho da metodologia. Por isso, embora seja um resultado inesperado, é aceitável. Prova disso que este teste é recomendado em livros para comparação e validação de metodologias (Gomes e Oliveira, 2011; Vogel, 1992).

Tabela 3. Teste F, aplicado para comparação das variâncias entre os métodos

	Tratamentos			
	HNO ₃	H ₂ O ₂	HCL	Centrif
Variância	35852	18932	22398	7441
F calculado		1,89*	1,60*	4,82
F tabelado (5%)			2,10	

*= não significativo ao nível de 5% pelo teste F; Centrif = Centrifugação

A tabela 4 apresenta os resultados do teste t de student (emparelhado). Após a determinação do valor t para cada tratamento este foi comparado com o valor t disponível em tabela para verificar se existe ou não diferença significativa. Verificou-se que todos os tratamentos testados diferiram do tratamento oficial ao nível de 5 % de significância, visto que em todas as situações o t calculado se sobrepôs ao valor tabelado.

Tabela 4. Valores de "d" e comparação entre os métodos por meio do Teste t de student (emparelhado)

	H ₂ O ₂	HCl	Cent
Produtos	d	d	d
Biscoito Cream Cracker	-51	-19	-101
Biscoito Maizena	-189	-87	-173
Pão Francês	-118	-74	-60
Pão de Forma	-198	-144	-156
Suco / Soja Sabor Pêssego	-6	-10	-15
Refrigerante de Cola	-5	-2	0
Refrigerante de Guaraná	1	4	-3
Ketchup	-21	-20	-15
Maionese	-8	-7	-10
Queijo Prato	-239	-190	-471
Queijo Tipo Cheddar	-33	-88	-209
Queijo Tipo Mussarela	-171	-141	-380
Hambúrguer	-66	-32	-87
Peito de Peru	-177	-23	-110
Presunto	-103	66	-87
Salsicha	-165	-65	-154
Batata Palha	-19	-16	-25
t calculado	4,72	3,51	4,01
t tabelado		2,09	

d = método proposto - método oficial; Cent = Centrifugação.

Pelo fato de que apenas no teste F ao nível de 5 % de significância houve alguma semelhança entre os métodos propostos e o método oficial, optou-se por interromper o experimento, uma vez que nenhum dos tratamentos propostos apresentou exatidão satisfatória.

O insucesso destas modificações pode estar relacionado ao fato do fósforo não ter sido liberado para formar o complexo fosfomolibdenio por estar localizado no interior das células e ligado por ligação covalente a outros átomos formando moléculas (Taiz e Zeiger, 2004). Além disso, a leitura das soluções foi por espectrofotometria, de forma que alterações na intensidade de cor das soluções causa interferência nos resultados.

O tratamento com ácido clorídrico resultou em soluções escuras. Pressupondo que a coloração poderia interferir nos resultados, foram feitos testes com ácido tricloroacético 10 % (v.v⁻¹) e peróxido de hidrogênio de grau pró-análise. A adição de peróxido de hidrogênio clareou as soluções quando

adicionado às amostras ainda quentes. Entretanto, ainda assim, os teores de fósforo detectados não foram exatos

Com a centrifugação algumas soluções apresentaram-se com gordura no sobrenadante, o que poderia levar a erros na análise devido a não homogeneidade das mesmas.

Apesar da maior porcentagem dos lipídeos presentes nos alimentos estarem na forma de triacilgliceróis, que não possuem fósforo em sua estrutura, algumas categorias de lipídeos possuem fósforo, por exemplo os fosfolipídios das membranas celulares (Fennema et al, 2010). Entretanto, esta não deve ter sido a razão do insucesso deste tratamento, mas principalmente a turbidez das soluções que interferiram na cor do complexo de fósforo com molibdênio.

Outro fato observado foi que o peróxido de hidrogênio provocou a oxidação do ácido ascórbico utilizado como agente redutor no método espectrofotométrico, impedindo a formação de cor. Para tanto, foram utilizadas soluções de ácido ascórbico 4 % ao invés de soluções de concentração 2 %, que é a recomendada. Além disso aumentou-se o volume de ácido ascórbico adicionado à solução, de 1 mL para 2 mL. Com estas adaptações a coloração azulada foi atingida, comprovando que houve reação entre o molibdato e o fósforo conforme desejado. Mas ainda assim, os resultados não foram satisfatórios quanto à exatidão.

CONCLUSÃO

Os três tratamentos propostos no estudo levaram a resultados discrepantes dos encontrados pelo método oficial. De acordo com os resultados obtidos presume-se que o insucesso das modificações tenha sido devido à não liberação do fósforo da matriz orgânica do alimento para formação do complexo colorido de fosfomolibdênio e a turbidez das soluções para leitura por espectrofotometria.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Brasil (2003a) Ministério da Saúde. Resolução – RE nº 899. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. *Diário Oficial da União*, Brasília, 2 de junho.
2. Fennema, Owen R. et al. (2010) *Química de Alimentos*. 4. ed. São Paulo: Artmed, 900p.
3. Gomes, J. Carlos., OLIVEIRA, G. Fonseca (2011) *Análise físico-químicas de alimentos*. 1. ed. Viçosa: UFV, 303p.
4. Guyton, Arthur C; Hall, John E. (2006) *Tratado de Fisiologia Médica*. 11. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 1128p.
5. INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (2011) DOQ-CGCRE-008 - Orientação sobre validação de métodos analíticos. Rio de Janeiro, 2011. 20p.
6. Lehninger, Albert Lester. (2002) *Princípios de Bioquímica*. 3. ed. São Paulo: Sarvier, 2002. 897p.
7. NAS – National Academies Science. Instituto de Medicina (2004). Dietary reference intakes for Calcium, Phosphorus, Magnesium, Vitamin D and Fluoride. Washington, DC, 1997, 617p.
8. Pimentel-Gomes, F. (2009) *Curso de estatística experimental*. 15. ed. Piracicaba: FEALQ, 451p.
9. Riella, Miguel Cardoso. (1980) *Metabolismo do Potássio*. In: Riella, Miguel Cardoso. *Princípios da Nefrologia e Distúrbios Hidroeletrólíticos*, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 129-150.
10. Taiz, Lincoln; Zeiger, Eduardo. (2004) *Fisiologia Vegetal*. 3. ed. Porto Alegre: Artmed. 722p.
11. Teixeira, Patrícia Sígolo; Riella, Miguel Cardoso (2001). *Metabolismo das Proteínas, Carboidratos e Lipídios na Insuficiência Renal Crônica*. In: Teixeira, Patrícia Sígolo; Riella, Miguel Cardoso. *Nutrição e o rim*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 12-26.
12. Vogel, Arthur I. (1992) *Análise Química Quantitativa*. 5. ed. Rio de Janeiro: LTC, 712p.
13. Zenebon, Odair; Pascuet, Neus; Tiglia, Paulo. (2008) *Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos*. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1020p.

4. RESUMOS E CONCLUSÕES

Alguns minerais são essenciais para os seres vivos, dentre eles o sódio, potássio e fósforo. A ingestão excessiva de sódio pode acarretar hipertensão arterial. Já a de potássio e fósforo, em indivíduos saudáveis, dificilmente acarretará problemas, pois os rins podem se adaptar e eliminar o excesso. Entretanto em insuficientes renais crônicos, cujos rins não mais desempenham suas funções, se consumidos em excesso, o potássio pode desencadear fraqueza e parada cardíaca e o fósforo para o desenvolvimento de hiperparatireoidismo e calcificação de tecidos moles

A legislação brasileira determina como padrão de ingestão de fósforo para indivíduos adultos saudáveis 700 mg.dia⁻¹. Além deste teor existem padrões de ingestões distintos para crianças, lactentes, gestantes e lactantes de acordo com a sua fase de desenvolvimento. A ingestão diária para potássio não é especificada, por isso os profissionais de saúde adotam como referência para a ingestão de potássio a quantia estabelecida pela academia nacional de ciências dos Estados Unidos de 4700 mg.dia⁻¹. Para sódio a ingestão recomendada é de 2400 mg.dia⁻¹ para uma dieta de 2000 Kcal. No Brasil, é obrigatória a declaração dos teores de sódio no rótulo nutricional dos alimentos embalados para consumo humano. Os demais minerais podem ser declarados se a quantia presente na porção for maior que 5 % da ingestão diária recomendada. Isso dificulta a manutenção de dietas para os indivíduos que precisam controlar a ingestão desses minerais, como é o caso dos portadores de insuficiência renal crônica.

O procedimento para a análise desses elementos pelo método oficial requer o preparo de soluções para leitura por emissão atômica com plasma indutivamente acoplado após a oxidação da matéria orgânica dos alimentos por via úmida, que consiste na adição de ácidos fortes e aquecimento. Por essa metodologia as análises são de elevado custo, além de requerer equipamento sofisticado, de elevado custo unitário e operacional.

Visando a diminuição do tempo e custo das análises de minerais em alimentos e focando naqueles minerais que causam maiores problemas para a saúde de insuficientes renais foram testados três métodos, com peróxido de hidrogênio, ácido clorídrico e centrifugação, para o preparo das amostras e leituras dos teores de fósforo por espectrofotometria a 725 nm e de sódio e potássio por emissão atômica de chama.

Para tanto foram adquiridos alimentos industrializados, dos grupos de panificados, bebidas, molhos, cárneos, lácteos e batata palha. Amostras destes alimentos foram submetidas a oxidação da matéria orgânica pelo método oficial e pelos tratamentos testados. Após as análises, os resultados obtidos pelos tratamentos testados foram comparados com os resultados obtidos pelo método oficial por meio do teste F, teste t de student (emparelhado), tendência e regressão linear para avaliar a exatidão. Também foram determinados precisão, limites de detecção, de quantificação e a taxa de recuperação para todos os tratamentos relacionados à determinação de sódio e potássio.

Todos os testes apresentaram precisão satisfatória para a análise de sódio. Quanto à exatidão, o tratamento das amostras com peróxido de hidrogênio apresentou melhor desempenho, seguido pelo tratamento com ácido clorídrico. Os resultados do tratamento com peróxido de hidrogênio não foi exato apenas para o grupo das bebidas e "ketchup". O tratamento com ácido clorídrico não apresentou exatidão satisfatória para o leite, batata palha e o grupo das bebidas. Para os demais alimentos esses tratamentos podem ser utilizados em substituição ao método oficial, propiciando redução de custo, tempo e, ou quantidade de reagente.

Para a análise de potássio todos os testes apresentaram precisão e exatidão satisfatória, entretanto o tratamento com centrifugação que obteve baixo coeficiente de correlação linear. Os resultados do tratamento com peróxido de hidrogênio não foi exato para biscoito cream cracker, pão francês, suco à base de

soja sabor pêssego, maionese mussarela. O tratamento com ácido clorídrico não apresentou exatidão satisfatória para refrigerante de guaraná, maionese, mostarda e mussarela. Já a centrifugação não foi exata para batata palha e maionese. Para os demais alimentos esses tratamentos podem ser utilizados em substituição ao método oficial, propiciando redução de custo, tempo e, ou quantidade de reagente.

Os três tratamentos propostos no estudo levaram a resultados discrepantes dos encontrados pelo método oficial para análise de fósforo. De acordo com os resultados obtidos presume-se que o insucesso das modificações tenha sido devido a não liberação do fósforo da matriz orgânica do alimento para formação do complexo colorido de fosfomolibdênio e a turbidez das soluções para leitura por espectrofotometria.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abrantes, V.R.S. (2007) *Rotulagem de alimentos: análise em fórmulas infantis, leites em pó e alimentos em pó à base de soja, comercializados no varejo do Município do Rio de Janeiro/RJ*. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Seropédica – RJ, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ, 141p.
- AOAC – Association of official analytical Chemists (2000) *Official methods of analysis*. 17 ed. Gaythersburg, MD.
- Ayyash, Mutamed M; Shah, Nagendra P. (2011) Effect of partial substitution of NaCl with KCl on proteolysis of Halloumi Cheese. *Journal of food science*, 1:31-37.
- Azeredo, Maria et al. (1998) Determinação de potássio em méis após precipitação com tetrafenilborato de sódio e separação em coluna de troca-iônica. *Química Nova*. São Paulo, 5:651-654.
- Baptista, Débora P. et al. (2009) Salsicha com teores reduzidos de gorduras e sódio características tecnológicas, físico-químicas, microbiológicas e sensoriais. Disponível em: <<http://www.iac.sp.gov.br/areadoinstituto/pibic/anais/2009/Artigos/RE0901030.pdf>> Acessado em 10 de dezembro de 2012.
- Barros, Nara V. dos Anjos et al. (2012) Elaboração de hambúrguer enriquecido com fibras de caju. *Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*, 2:315-325.
- Batista, Bruno L et al. (2008) Simultaneous determination of Cd, Cu, Mn, Ni, Pb and Zn in nail samples by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) after tetramethylammonium hydroxide solubilization at room temperature comparison with ETAAS. *Talanta*, 3:575-579.
- Bernardi, Alberto C. C. et al. (2005) Produção, aparência e teores de nitrogênio, fósforo e potássio em alface cultivada em substrato com zeólita. *Horticultura Brasileira*. Brasília, 4:920-24.
- Berry, John W. et al. (1946) Improved method of flame photometry. *Analytical*, 1: 19-24.
- Bertol, Ildegardis et al. (2007) Aspectos financeiros relacionados às perdas de nutrientes por erosão hídrica em diferentes sistemas de manejo do solo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, 31:133-42.
- Bortolotto, Luiz Aparecido. (2008) Hipertensão arterial e Insuficiência renal crônica. *Revista Brasileira de Hipertensão*, 3:152-55.
- Brasil (1969) Decreto-Lei nº 986. Institui Normas básicas sobre alimentos. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, 21 de outubro.

- Brasil (2003a) Ministério da Saúde. Resolução – RE nº 899. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. *Diário Oficial da União*, Brasília, 2 de junho.
- Brasil (2003b) Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 360. Aprova Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados, tornando obrigatória a rotulagem nutricional. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, 26 de dezembro.
- Brasil, Ministério da Saúde (2003c) Lei nº 10.674. Obriga a que os produtos alimentícios comercializados informem sobre a presença de glúten, como medida preventiva e de controle da doença celíaca. *Diário Oficial da União*, 16 de maio.
- Brasil, Ministério da Saúde (1998) Portaria nº 29. Aprova o Regulamento Técnico referente a Alimentos para Fins Especiais. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, 30 de março.
- Brasil, Ministério da Saúde (2002) Resolução RDC nº 259. Regulamento Técnico sobre Rotulagem de Alimentos Nutricional de Alimentos Embalados, tornando obrigatória a rotulagem nutricional. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, 23 de setembro.
- Brasil, Ministério da Saúde (2005) Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº. 269. Aprova o "REGULAMENTO TÉCNICO SOBRE A INGESTÃO DIÁRIA RECOMENDADA (IDR) DE PROTEÍNA, VITAMINAS E MINERAIS". *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, 23 de setembro.
- Brasil, Ministério da Saúde (2012) Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº. 54. Aprova o "Regulamento Técnico Sobre Informação Nutricional Complementar. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, 12 de novembro.
- Bruce, B.; Minkinen, P.; Riekkola, M.L. (1998) Practical method validation: validation sufficient for an analysis method. *Microchimica Acta*, v. 128, p. 93-106, 1998.
- Bueno, Micheli Maria. (2012) *Desenvolvimento e aceitabilidade de pão de forma enriquecido com polidextrose e flocos de quinoa*. Trabalho de Conclusão de Curso (Faculdade de Tecnologia em Alimentos) - Bento Gonçalves – RS, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul – IFRGS, 71p.
- Câmara, M. C. C. (2007) *Análise Crítica da Rotulagem de Alimentos Diet e Light no Brasil*. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) - Rio de Janeiro, RJ, Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ, 47p.
- Câmara, M.C.C. et al. (2008) A produção acadêmica sobre rotulagem de alimentos no Brasil. *Revista Panamericana Salud Publica*, 1:52-58.

- Castanheira, Joaquim et al. (2005) Impacto da hemodiálise versus diálise peritoneal na anatomia cardíaca em doentes com insuficiência renal crônica. *Anais do Congresso Virtual de Cardiologia*, 4, São Paulo. São Paulo: SBC, p.1-3.
- Caulcutt, Roland; Boddy, Richard. (1983) *Statistic for analytical chemists*. 1. ed. Londres: Chapman and Hall, 253p.
- Chen, Min-Jane et al. (2005) Flame photometric determination of salinity in processed foods. *Food Chemistry*, 4:765-70.
- Chumbimuni-Torres, Karin., Kubota, Lauro. (2006) Simultaneous determination of calcium and potassium in coconut water by a flow-injection method with tubular potentiometric sensors. *Journal of Food Composition and Analysis*, 3:225-30.
- Ciaboti, Sueli et al. (2006) Avaliações químicas e bioquímicas dos grãos, extratos e tofus de soja comum e de soja livre de lipoxigenase. *Revista Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, 5:920-929.
- Copeti, Cristiane et al. (2010) Avaliação da redução de potássio em hortaliças submetidas a diferentes métodos de cocção para possível utilização na dietoterapia renal. *Revista de Nutrição*, Campinas, 23:831-38.
- Costanzo, Linda S. (2007) Fisiologia Renal. In: Costanzo, Linda S. *Fisiologia*. 3. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, p. 235-299.
- Cozzolino, Silvia M. F. (1997) Biodisponibilidade de minerais. *Revista de Nutrição*, Campinas, 2:87-98.
- Cuppari, Lilian et al. (2004) Preparo de vegetais para utilização em dieta restrita em potássio. *Revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição*, São Paulo, 28:1-7.
- D'elia, Lanfranco et al. (2011) Potassium intake, stroke, and cardiovascular disease. *Journal of the American College of Cardiology*, 10:1210-19.
- Daugirdas, John T. et al (2003) *Manual de diálise*. 3ª. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 744p.
- Dubbs, Clyde A. (1952) Increased sensitivity for the perkin-elmer flame photometer, use of fine-spray hot-chamber aspiration. *Analytical*. 10: 1654-1656.
- EURACHEM (1998). *The fitness for purpose of analytical methods, a laboratory guide to method validation and related topics*. Teddington, 1998. 61p.
- FAO/WHO - Food and Agriculture Organization of the United Nations World Health Organization (2007) *Framework for the provisional of scientific advice on food safety and nutrition*. Genova, 2007. 50p.

- Fennema, Owen R. et al. (2010) Química de Alimentos. 4. ed. São Paulo: Artmed, 900p.
- Ferrari, Cristhiane Caroline; Soares, Lucia Maria Valente. (2003) Concentrações de sódio em bebidas carbonatadas nacionais. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 3:414-417.
- Ferreira, Andréa Benedita., Lanfer-Marquez, Ursula Maria. (2007) Legislação brasileira referente à rotulagem nutricional de alimentos. *Revista de Nutrição*, 1:83-93.
- Ferreira, Karla S. et al. (2002) Concentrações de selênio em alimentos consumidos no Brasil. *Revista Panamerican Salud Publica*. 3:172-77.
- Ferreira, Karla S. et al. (2002) Concentrações de selênio em alimentos consumidos no Brasil. *Revista Panamerican Salud Publica*. 3:172-77.
- Ferreira, Karla Silva et al. (2004) Teores de Sódio de Potássio em Alimentos Consumidos no Brasil. *Revista Brasileira de Economia Doméstica*, 1:85-96.
- Gomes, J. Carlos., OLIVEIRA, G. Fonseca (2011) Análise físico-químicas de alimentos. 1. ed. Viçosa: UFV, 303p.
- Gomes, J. Carlos., OLIVEIRA, G. Fonseca (2011) Análise físico-químicas de alimentos. 1. ed. Viçosa: UFV, 303p.
- Gomes, José Carlos., SILVA, Maurício Henriques Louzada. (2004) TAL 467 – Legislação de alimentos. 1 ed. Viçosa: DTA, 330p.
- Gondim Jussara A. Melo et al. (2005) Composição Centesimal e de minerais em cascas de frutas. *Ciencia e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, 25:825-27.
- Green, J. Mark. (1996) A practical guide to analytical method validation. *Analytical Chemistry*, 1:305A-309A.
- Guyton, Arthur C; Hall, John E. (2006) Tratado de Fisiologia Médica. 11. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 1128p.
- Haj-Isa, Niurka Maritza A.; Carvalho, Elisangela Silva. (2011) Desenvolvimento de biscoito, tipo salgado, enriquecidos pela adição de merluza. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, 2:313-318.
- Hill, A. R. C., Reynolds, S. L. (1999) Guidelines for in house validation of analytical methods for pesticide residues in food and animal feeds. *Analyst*, 124:953-58.
- Huber, Ludwig. (1998) Validation of analytical methods: review and strategy. *LG/GC International Magazine*, 1:96-105.
- Hurt, Eva. (2002) Nutrition labelling: European Union and United Kingdom perspectives. *Asia Pacific Journal Clinical Nutrition*, 2:77-9.

- IBGE - Instituto brasileiro de geografia e estatística. Censo populacional 2010 (2011) Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualliza.php?id_noticia=1766> Acessado em dezembro de 2011.
- INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (2011) DOQ-CGCRE-008 - Orientação sobre validação de métodos analíticos. Rio de Janeiro, 2011. 20p.
- ISO - International Standard Organization (2005) ISO/EC 17025. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories. Geneva, 2005. 28p.
- Kira, Carmen; Maihara, Vera. (2007) Determinação de elementos essenciais maiores e traço em queijos por espectrometria de emissão atômica com plasma de argônio induzido após digestão parcial. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, 3:446-450.
- Lapa, Rui et al. (1996) Determination of calcium, magnesium, sodium and potassium in wines by FIA using an automatic zone sampling system. *Food Chemistry*. 4:397-442.
- Latarjet, Michel., Liard, Alfredo Ruiz. (2008) Sistema Urinário. *In: Latarjet, Michel., Liard, Alfredo Ruiz. Anatomia Humana*. Buenos Aires: Médica Panamericana, p. 1509-1526.
- Lehninger, Albert Lester. (2002) Princípios de Bioquímica. 3. ed. São Paulo: Sarvier, 897p.
- Maidana, N. L et al. (2009) Absolute determination of soluble potassium in tea infusion by gamma-ray spectroscopy. *Food Chemistry*. 2: 555-60.
- Mcdowell, Lee Russell (2012) Calcium and Phosphorus. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780444513670500052>> Acessado em 12 de fevereiro de 2012.
- Mendil, Durali. (2006) Mineral and trace metal levels in some cheese collected from Turkey. *Food Chemistry*. 4:532-37.
- Molina, Maria Del Carmen Bisi et al. (2003) Hipertensão arterial e consumo de sal em população urbana. *Revista Saúde Pública*, São Paulo, 31:743-750.
- Moraes, Geórgia Maciel Dias de et al. (2010) Avaliação da informação nutricional contida nos rótulos de biscoitos do tipo cream cracker. Congresso Norte e Nordeste de Pesquisa e Inovação, 5, Maceió.
- Morgano, Marcelo Antônio et al. (1999) 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.

- Moura, Neila Camargo de. (2008) *Característica físico-químicas, nutricionais e sensoriais de pão de forma com adição de grãos de linhaça (Linum usitatissimum)*. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Piracicaba – SP, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ, 95p.
- NAS – National Academies Science. Instituto de Medicina (2004). Dietary reference intakes for water, potassium, sodium, chloride, and sulfate. Washington, DC, 2004, 617p.
- Nascimento, Marcelo Mazza; Riella, Miguel Cardoso (2001) Metabolismo da Água, Sódio, Potássio e Magnésio na Insuficiência Renal Crônica. *In: Teixeira, Patrícia Sígolo; Riella, Miguel Cardoso. Nutrição e o rim*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 27-32.
- Nascimento, Renata do. (2010) *Redução de cloreto de sódio e substituição de nitrito de sódio em produto cárneo embutido cozido: características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais*. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Campinas – SP, Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP, 142p.
- NEPA – Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação (2011) Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO). 4.ed. Campinas: NEPA-Unicamp, 161p.
- NKF – National Kidney Foundation (2011) Sobre Insuficiência Renal Crônica. Guia para pacientes e familiares. Disponível em: <http://www.kidney.org/atoz/pdf/international/portuguese/11-50-1201_KAI_PatBro_AboutCKD_Pharmantet_Portuguese_Nov08.pdf> Acessado em 14 de dezembro 2011.
- Oliveira, Luiz Alberto Melo; Souza, Antônio Eleutério de. (2001) Potássio. *Balanço Mineral Brasileiro*, Brasília, 1:1-17.
- Peixoto, Eduardo Motta Alves. (1999) Sódio. *Química Nova na Escola*, São Paulo, 10:1.
- Peixoto, Eduardo Motta Alves. (2002) Fósforo. *Química Nova na Escola*. 15:51.
- Peixoto, Eduardo Motta Alves. (2004) Potássio. *Química Nova na Escola*, São Paulo, 19:47.
- Pimentel-Gomes, F. (2009) Curso de estatística experimental. 15. ed. Piracicaba: FEALQ, 451p.
- Piovesan, Ricardo Prado et al. (2009) Perdas de nutrientes via subsuperfícies em colunas de solo sob fertilização mineral e orgânica. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Viçosa, 33:757-66.
- Porter, Paul; Wyld, Garrard. (1955) Elimination of interferences in flame photometry. *Analytical Chemistry*, 5:733-736.

- Riella, Miguel Cardoso (1980) Metabolismo do Potássio. *In: Riella, Miguel Cardoso. Princípios da Nefrologia e Distúrbios Hidroeletrólíticos*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 129-150.
- Rodrigues, Hayla Félix et al. (2010) Avaliação de rotulagem nutricional, composição centesimal e teores de sódio e potássio em batatas-palha. *Revista Instituto Adolfo Lutz*, São Paulo, 69:423-7.
- Romão Jr, João Egídio. (2004) Doença Renal Crônica: Definição, Epidemiologia e Classificação. *Jornal Brasileiro de Nefrologia*, São Paulo, 3:1-3.
- Salgado Filho, Natalino; Brito, Diego José de Araújo. (2006) Doença renal crônica: a grande epidemia deste milênio. *Jornal Brasileiro de Nefrologia*, São Paulo, 3:1-5.
- SBN - Sociedade Brasileira de Nefrologia (2012) Censo de Diálise 2010. Disponível em: <<http://www.sbn.org.br/leigos/index.php?censo>> Acessado em 13 de fevereiro de 2012.
- Schrenk, W.G.; Glendening, B. L. (1955) Performance of interference filter in simple flame photometer. *Analytical Chemistry*, 6:1031-1033.
- Sesso, Ricardo et al. (2008) Relatório do Censo Brasileiro de Diálise. *Jornal Brasileiro de Nefrologia*, São Paulo, 4:233-238.
- Silva, José Alexandro et al. (2006) Influência das variáveis nitrogênio, fósforo e °brix na produção dos metabólitos secundários contaminantes totais da fermentação alcoólica. *Química Nova*, 4:695-698.
- Silva, Luiz Fernando Miranda; Ferreira, Karla Silva. (2010) Avaliação de rotulagem nutricional composição química e valor energético de queijo frescal, queijo minas frescal “light” e ricota. *Alimentos e Nutrição*, Araraquara, 3:437-441.
- Soares, Lucia M. Valente et al. (2004) Composição mineral de sucos concentrados de frutas brasileiras. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, 2:202-206.
- Souza, Antônio Eleutério (2001) Fosfato. *Balanço Mineral*, Brasília, 1:1-31.
- Spector, Jacob. (1955) Mutual interference and elimination of calcium interference in flame photometry. *Analytical Chemistr*, 9:1452-1455.
- Taiz, Lincoln; Zeiger, Eduardo (2004) Fisiologia Vegetal. 3. ed. Porto Alegre: Artmed. 722p.
- Teixeira, Patrícia Sígolo; Riella, Miguel Cardoso (2001). Metabolismo das Proteínas, Carboidratos e Lipídios na Insuficiência Renal Crônica. *In: Teixeira, Patrícia Sígolo; Riella, Miguel Cardoso. Nutrição e o rim*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 12-26.

- Teixeira, Patrícia Sígolo; Riella, Miguel Cardoso (2001a). Metabolismo do Cálcio, Fósforo e Vitamina D na Insuficiência Renal Crônica. *In: Teixeira, Patrícia Sígolo; Riella, Miguel Cardoso. Nutrição e o rim*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 33-42.
- Teixeira, Patrícia Sígolo; Riella, Miguel Cardoso (2001b). Metabolismo das Proteínas, Carboidratos e Lipídios na Insuficiência Renal Crônica. *In: Teixeira, Patrícia Sígolo; Riella, Miguel Cardoso. Nutrição e o rim*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 12-26.
- USDA – National Nutrient Database for Standard Reference. Disponível em: <<http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/Data/SR21/nutrlist/sr21w307.pdf>> Acessado em 25 de janeiro de 2013.
- USDRS - United States Data Renal System (2011) Atlas of Chronic Kidney Disease and End-Stage Renal Disease in the United States. *Annual Data Report*. p. 127.
- Valente, Orsine; Atalah, Álvaro Nagib. (2003) Distúrbios do Metabolismo do Sódio e Potássio. *Temas Gerais*, São Paulo, 1:1721-1730.
- Vogel, Arthur I. (1992) Análise Química Quantitativa. 5. ed. Rio de Janeiro: LTC, 712p.
- White, John U. (1952) Precision of a simple flame photometer. *Analytical Chemistry*, 2:394-396.
- Wijngaart, Annoek Wem Van Den. (2002) Nutrition labelling: purpose, scientific issues and challenges. *Asia Pacific Journal Clinical Nutrition*, 2:68-71.
- Zenebon, Odair; Pascuet, Neus; Tiglia Paulo. (2008) Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos. 4. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020p.