



**6º Simpósio
de Segurança
Alimentar**

Desvendando Mitos

15 a 18 de maio de 2018
FAURGS • Gramado • RS

ENTALPIMETRIA NO INFRAVERMELHO: UMA NOVA ALTERNATIVA PARA A DETERMINAÇÃO DE SÓDIO EM MOLHOS ALIMENTÍCIOS

B. Tischer¹, P.F. Filoda², I.D. Teixeira², G. A. Helfer², J. S. Barin³, A. B. da Costa²

1- Departamento de Tecnologia dos Alimentos – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos – CEP: 00000-000 – Porto Alegre – RS – Brasil, Telefone: (51) 3308.6245– e-mail: (bruna.tischer@ufrgs.br).

2- Programa de Pós-Graduação em Sistemas e Processos Industriais – Universidade de Santa Cruz do Sul – CEP: 96.815-900 – Santa Cruz do Sul– RS – Brasil, Telefone: (51) 3717.7632– e-mail: (paulaafiloda@hotmail.com, iberedameteixeira@hotmail.com, ghelfer@gmail.com, adilson@unisc.br).

3 - Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos – Universidade Federal de Santa Maria – CEP: 97105-900 – Santa Maria – RS – Brasil, Telefone: (55) 3220.8353– e-mail: (juliano@ufsm.br).

RESUMO – A determinação do sódio em molhos alimentícios é de extrema importância, devido à influência na saúde dos consumidores e nas suas propriedades sensoriais e conservadoras. No Brasil, é obrigatória a declaração da quantidade deste mineral nos rótulos, porém não há frequência estabelecida de análise, além disso, os métodos convencionais apresentam desvantagens para serem utilizados em análises de rotina. Em vista disso, é de grande importância desenvolver métodos alternativos de determinação rápida e direta, oferecendo a possibilidade de melhorar o controle desse mineral em alimentos. Neste trabalho foi desenvolvida uma nova aplicação da TIE (análise entalpimétrica no infravermelho) para a determinação de sódio em molhos alimentícios, através de materiais simples e de uma câmera termográfica. Esta aplicação mostrou a possibilidade de uma reação seletiva para sódio, com menor consumo de reagentes e simplificação das etapas de preparo da amostra. Os resultados mostraram uma concordância com aqueles obtidos por fotometria de chama de 96 a 103%, mostrando a viabilidade para a determinação do sódio.

ABSTRACT – Determination of sodium in food sauces is extremely important because of the influence on the health of consumers and their sensory and conservative properties. In Brazil, it is necessary to declare the amount of this mineral in the labels, but there is no established frequency of analysis, in addition, the conventional methods present disadvantages to be used in routine analyzes. In view of this, it is of great importance to develop alternative methods of rapid and direct determination, offering the possibility of improving the control of this mineral in foods. In this work a new application of the TIE (enthalpimetric analysis in the infrared) was developed for the determination of sodium in food sauces, through simple materials and a thermographic camera. This application showed the possibility of a selective sodium reaction, with lower reagent consumption and simplification of the sample preparation steps. The results showed a concordance with those obtained by flame photometry of 96 to 103%, showing the viability for sodium determination.

PALAVRAS-CHAVE: TIE, MÉTODOS ALTERNATIVOS, TERMOGRAFIA, QUÍMICA VERDE.

KEYWORDS: TIE, ALTERNATIVE METHODS, THERMOGRAPHY, GREEN CHEMISTRY.



6º Simpósio de Segurança Alimentar

Desvendando Mitos

15 a 18 de maio de 2018

FAURGS • Gramado • RS

1. INTRODUÇÃO

O sódio é um mineral essencial para o bom funcionamento do organismo, pois regula o volume e a pressão sanguínea, atua no equilíbrio osmótico e no pH corporal. Entretanto a ingestão excessiva de sódio está associada ao desenvolvimento de hipertensão arterial e a doenças relacionadas (Ha, 2014; Moreno-Rojas, Cámara-Martos, & Amaro López, 2016). A Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda uma ingestão segura de sódio em quantidades abaixo de 2 g por dia. Os molhos alimentares geralmente contêm elevados teores de sódio, devido as características sensoriais e por razões de segurança alimentar e, portanto, provavelmente contribuem para o elevado consumo deste mineral (Gordon & Williams, 2017; WHO, 2012).

De acordo com a legislação brasileira, molhos alimentícios são produtos em forma líquida, pastosa, em emulsão ou suspensão à base de especiarias ou temperos ou outros ingredientes, fermentados ou não, utilizados para preparar e/ou adicionar sabor ou aroma a alimentos ou bebidas (BRASIL, 2005).

No Brasil, os serviços de inspeção exigem que a quantidade de sódio seja informada na tabela nutricional de molhos alimentícios, no entanto, não é estabelecida a frequência para tal determinação, sendo apenas estabelecidas as frequências para as análises microbiológicas (BRASIL, 2003). Além disso, não existe um padrão que estabeleça a quantidade máxima permitida a ser adicionada de sódio neste tipo de alimento, existindo apenas recomendações disponíveis sobre a ingestão diária máxima de sódio.

Os métodos convencionais de análise direta de sódio contribuem para a baixa frequência de análise e controle de sódio nos alimentos. Trata-se de métodos demorados, onerosos, que exigem longas e delicadas etapas de preparo de amostra (como a etapa de digestão), requerem um alto grau de treinamento do analista e envolvem o uso de reagentes perigosos com geração de resíduos químicos. Além disso, a grande maioria das indústrias utilizam métodos indiretos para a determinação de sódio, através da determinação de cloretos, reduzindo assim a confiabilidade dos resultados. Entre os métodos convencionais disponíveis para a quantificação de sódio, os mais utilizados são os espectroscópicos, como a espectrofotometria de chama, espectroscopia de plasma acoplada indutivamente (ICP) e espectroscopia de absorção atômica (AAS), ou eletrodo seletivo de íons (ISE) e também os métodos gravimétricos e titulométricos (Hwang et al, 2017; Nageswaran, Choudhary, & Jagannathan, 2017). Devido as desvantagens apresentadas pelos métodos convencionais, surge a necessidade do desenvolvimento de novos métodos, que estejam em acordo com os métodos verdes ou alternativos, ou seja, que envolvam a preparação rápida de amostras, sejam simples, de baixo custo, reduzam a quantidade de amostra e de reagentes gerando menores quantidades de resíduos (Gałuszka, Migaszewski, & Namieśnik, 2013).

Diante disso, o desenvolvimento de novas técnicas que utilizam os conceitos de métodos entalpimétricos tradicionais emerge como uma alternativa promissora para a determinação de sódio. Os métodos que envolvem a entalpimetria no infravermelho foram recentemente desenvolvidos, com base nos conceitos de entalpimetria por injeção direta, no entanto, foram feitas alterações no modo de aquisição de temperatura de reação, onde foram utilizados equipamentos de medição de temperatura superficial (câmeras infravermelhas), ou seja, de modo não invasivo. Esta técnica tem sido chamada de TIE (Entalpimetria no Infravermelho, do inglês *Thermal Infrared Enthalpimetry*). Recentemente estudos foram realizados com a TIE, na determinação da acidez total, fixa e volátil de vinagres, no teor alcoólico de bebidas destiladas e na acidez de salmoura de vegetais em conserva (Oliveira et al., 2017; Tischer et al., 2017).

A determinação de sódio utilizando técnicas entalpimétricas é possível pois o sódio reage exotermicamente com alumínio na presença de um excesso de íons de potássio e fluoreto para formar



6º Simpósio de Segurança Alimentar

Desvendando Mitos

15 a 18 de maio de 2018

FAURGS • Gramado • RS

NaK_2AlF_6 (precipitado), sendo possível determinar o calor gerado na reação e a determinação quantitativa do mineral na amostra (Metrohm; Smith & Haider, 2014).

O objetivo deste estudo foi aplicar a TIE para a determinação direta de sódio em molhos alimentícios, de forma a disponibilizar uma metodologia de análise mais rápida e simples, eliminando a etapa de digestão e com elevada frequência analítica.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Amostras e reagentes

Foram adquiridos no comércio local de Santa Cruz do Sul, RS, molhos alimentícios de alho, shoyo (molho de soja), de pimenta e de tomate, de diferentes fabricantes. Um sistema Milli-Q (Advantage A10, Millipore Corp., EUA) foi utilizado para diluir as amostras e os padrões. Ácido nítrico (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil) e peróxido de hidrogênio (Synth, São Paulo, Brasil) foram utilizados para preparar as amostras. Para a construção da curva de calibração de sódio, foi utilizado um padrão de sódio (1000 mg L^{-1} , Ultra Scientific, Norte Kingstown, EUA). O reagente espectroscópico de cloreto de cério e padrão de lantânio Schinkel (Merck, Darmstadt, Alemanha) contendo 100 g L^{-1} de La e 10 g L^{-1} de CsCl foi adicionado nas amostras e nos pontos da curva, previamente a análise no fotômetro de chama.

Para a determinação do sódio através da TIE, ácido clorídrico (Dinâmica, São Paulo, Brasil) e o fluoreto de amônio (Dinâmica, São Paulo, Brasil) foram adicionados e misturados no meio de reação com a amostra. Nitrato de alumínio (Exôdo Científica, São Paulo, Brasil) e nitrato de potássio (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil) foram utilizados como reagentes em excesso. Cloreto de sódio (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil) foi utilizado para a construção da curva de calibração de sódio.

As soluções de titulação ($\text{Al}^{3+} = 0,5 \text{ mol L}^{-1}$ e $\text{K}^+ = 1,1 \text{ mol L}^{-1}$, foram preparadas a partir de nitrato de alumínio $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ e nitrato de potássio, KNO_3 . O reagente tampão (NH_4F) fluoreto de amônio foi preparado na concentração de 400 g L^{-1} . O meio ácido para liberação de sódio foi conseguido com o uso de ácido clorídrico, na concentração de 1 mol L^{-1} .

2.2 Instrumentação

O método convencional para determinação de sódio foi conduzido através de um fotômetro de chama (B462, Micronal, Brasil). Um sistema de digestão com micro-ondas (Mars Xpress - CEM Corporation, NC, EUA) foi utilizado para a decomposição das amostras antes da determinação pelo método convencional.

Para a determinação do sódio por TIE (Figura 1), utilizou-se uma câmera infravermelha (no infravermelho distante, $7,5\text{-}13,0 \mu\text{m}$, modelo FLIR A35, FLIR, Wilsonville, EUA), que forneceu imagens com 320×256 pixels e taxa de quadros de 60 Hz. As imagens foram processadas usando o software ResearchIR (FLIR). As reações foram realizadas em microplacas descartáveis de poliestireno (placa de ELISA) com 96 poços e volume interno de 0,3 mL (SPL Life Sciences, Korea). Para a injeção das amostras nos poços, utilizou-se uma micropipeta multicanal ($30\text{-}300 \text{ uL}$, Transferpette S-8, Marca, Alemanha) e um agitador magnético (modelo Q221, Quimis, São Paulo, Brasil) para misturar as amostras e os reagentes. Foram adicionadas barras magnéticas de politetrafluoroetileno ($3,0 \times 5,0 \text{ mm}$) dentro dos poços de reação para melhorar a homogeneização.

Figura 1 – Instrumentação utilizada para determinação de sódio, através da Entalpiimetria no Infravermelho (TIE).



2.3 Análises pela Fotometria em Chama

Para a determinação de sódio através da fotometria em chama, as amostras foram primeiramente digeridas. Foi feita a adição de 1 mL de amostra e de 3 mL de ácido nítrico em tubos de digestão, os quais foram submetidos a digestão em micro-ondas (10 minutos a 400 W, 10 minutos com ajuste a 170 ° C e 5 minutos finais de resfriamento). Após a digestão, adicionou-se peróxido de hidrogênio aos tubos e a amostra foi diluída com água Mili-Q.

Posteriormente, foi construída uma curva de calibração usando solução de referência (1000 mg L⁻¹), onde pontos utilizados foram 0; 1,0; 3,0; 5,0; 7,0 e 10,0 mg L⁻¹. Todas as leituras de amostras e pontos da curva foram feitas em triplicata.

2.3 Análises pela TIE

Na determinação de sódio pela TIE foram utilizadas placas ELISA de 96 poços. Foi feita a adição de 125 µL da mistura (por cavidade, n=24) contendo amostra ou solução de referência, solução auxiliar (fluoreto de amônio) e ácido clorídrico para gerar um meio ácido para favorecer a reação de precipitação. Na TIE, a etapa de digestão da amostra foi dispensada, de modo que a amostra foi apenas pesada e misturada com os reagentes, e em seguida encaminhada para a determinação de sódio (reação com nitrato de alumínio, na presença de nitrato de potássio).

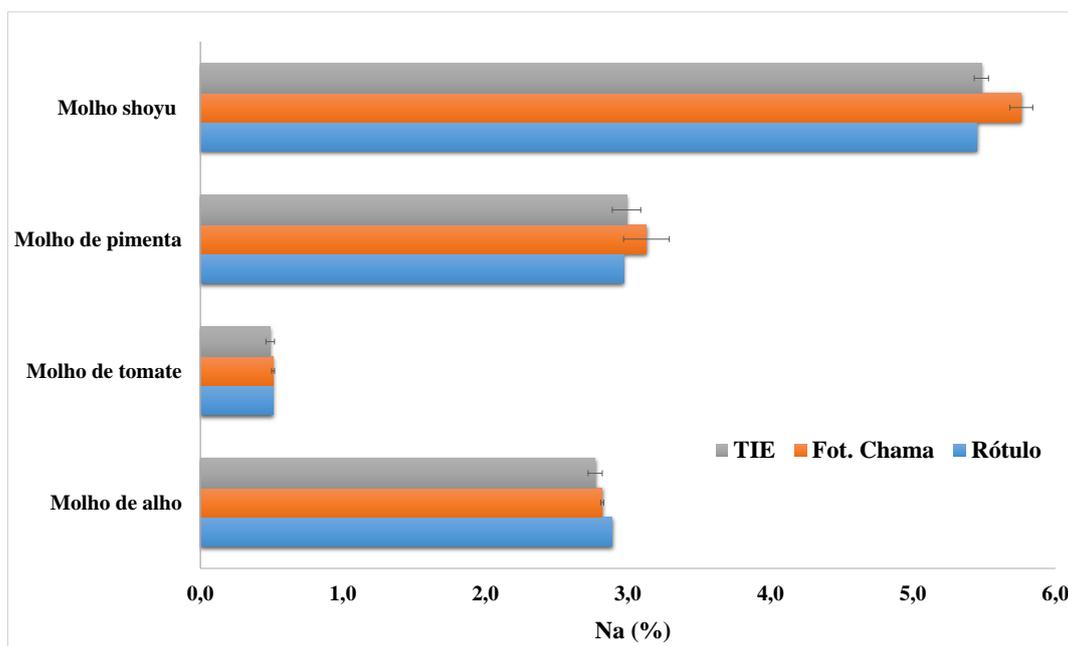
Após a adição de 125 µL da mistura contendo amostra, solução auxiliar e ácido clorídrico, foram adicionados 125 µL de reagente em excesso (solução de nitrato de alumínio e nitrato de potássio). Durante e após a adição do reagente em excesso, a mistura foi agitada (500 rpm) para homogeneizar a solução mais rapidamente e favorecer a reação de precipitação. Para a construção da curva de calibração, foram preparadas soluções de sódio a partir de cloreto de sódio nas concentrações 0,0; 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0; 6,0 e 7,0%.

O monitoramento da temperatura foi feito usando utilizando a câmera no infravermelho. Foram monitoradas as temperaturas iniciais (antes da adição do reagente em excesso) e as temperaturas finais. Para a aquisição de temperatura, foi selecionada uma elipse de 30 pixels e as temperaturas foram monitoradas durante 15 segundos antes e após a adição do excesso de reagente. A partir da curva de calibração, foi possível verificar a concentração de sódio em cada amostra usando a variação de temperatura gerada na reação, sendo uma determinação direta. Para cada ponto da curva de calibração ou para cada amostra, foram utilizadas 24 cavidades da placa, n=24.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através da espectrofotometria de chama, foi possível quantificar o sódio em molhos alimentícios, os valores de sódio estão apresentados na Figura 2. A curva de calibração para o TIE mostrou um coeficiente de determinação bastante satisfatório ($r = 0,998$). Os resultados mostraram uma concordância entre 97,5 e 105,70% conforme apresentado no rótulo e nenhuma diferença significativa foi identificada ($p > 0,05$).

Figura 2 – Conteúdo de sódio ($\text{g Na } 100 \text{ g amostra}^{-1} \pm \text{DP}$) em diferentes molhos alimentícios *($n=3$ para Fotometria em Chama e $n=24$ para Entalpipimetria no Infravermelho-TIE).



Em trabalhos anteriores com a TIE, foi possível estimar a quantidade de sódio em salmoura de conservas vegetais, no entanto, a determinação foi feita de forma indireta, através da análise de cloreto de sódio e, a partir de uma relação de cálculo, foi possível estimar a quantidade de sódio nas amostras (Tischer et al., 2017). A determinação indireta de sódio através da análise de cloretos, é feita devido à maior simplicidade da técnica, porém a reação direta de sódio é desejada, porque este é o composto de interesse, tanto para informações de embalagem quanto para controle de qualidade de alimentos.

Desta forma, através da TIE, foi possível determinar diretamente a quantidade de sódio nas amostras analisadas, através da reação de precipitação envolvendo sódio, nitrato de alumínio, nitrato de potássio e fluoreto de amônio em um meio ácido. A nova aplicação desta técnica pode ser expandida para uma grande variedade de alimentos.

A TIE mostrou-se vantajosa, devido ao uso de mínimas quantidades de amostra e reagentes em cada determinação por eliminar a etapa de digestão, simplificando a etapa de preparo de amostra. Além disso, mostrou-se como uma técnica não invasiva e com uma frequência analítica bastante elevada, enquanto com o método convencional foram feitas 3 determinações, com a TIE foram realizadas 24, sendo possível aumentar ainda mais o número de determinações pela TIE.

4. CONCLUSÃO



6º Simpósio de Segurança Alimentar

Desvendando Mitos

15 a 18 de maio de 2018

FAURGS • Gramado • RS

Considerando que o sódio em altas quantidades pode ser prejudicial para a saúde e também pode afetar na qualidade do produto, é necessário controlar periodicamente esse mineral em produtos alimentares. Portanto, a TIE apresenta-se como uma excelente opção para a determinação de sódio em molhos alimentícios.

5. AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi apoiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS).

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Brasil, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. (2003). Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados (RDC n°. 360, de 23 de dezembro de 2003).

Brasil, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. (2005). Regulamento técnico para especiarias, temperos e molhos (RDC n°. 276, de 22 de setembro de 2005).

Eurachem. The Fitness for Purpose of Analytical Methods: a laboratory guide to method validation and related topics. EURACHEM, 2014.

Gałaszka, A., Migaszewski, Z., & Namieśnik, J. (2013). The 12 principles of green analytical chemistry and the SIGNIFICANCE mnemonic of green analytical practices. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 50, 78-84.

Gordon, A., & Williams, R. (2017). 5 - Case study: formula safe foods—sauces Food Safety and Quality Systems in Developing Countries, Volume 2 (pp. 117-148). San Diego: Academic Press.

Ha, S. K. (2014). Dietary Salt Intake and Hypertension. *Electrolytes & Blood Pressure: E & BP*, 12(1), 7-18.

Hwang, J., Kim, J., Moon, H., Yang, J., & Kim, M. (2017). Determination of sodium contents in traditional fermented foods in Korea. *Journal of Food Composition and Analysis*, 56, 110-114.

Metrohm. Titration Application Note H-124, Determination of sodium in margarine manufacture.

Moreno-Rojas, R., Cámara-Martos, F., & Amaro López, M. Á. (2016). Sodium: Properties and Determination Encyclopedia of Food and Health (pp. 19-23). Oxford: Academic Press.

Nageswaran, G., Choudhary, Y. S., & Jagannathan, S. (2017). Chapter 8 - Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry A2 - Thomas, Sabu. In R. Thomas, A. K. Zachariah & R. K. Mishra (Eds.), *Spectroscopic Methods for Nanomaterials Characterization* (pp. 163-194): Elsevier.

WHO, (2012). Guideline: Sodium intake for adults and children.

Oliveira, A. S., Nora, F. M. D., Mello, R. O., Mello, P. A., Tischer, B., Costa, A. B., et al. (2017). One-Shot, reagent-free determination of the alcoholic content of distilled beverages by thermal infrared enthalpimetry. *Talanta*, 171, 335-340.

Smith, T., & Haider, C. (2014). Novel method for determination of sodium in foods by thermometric endpoint titrimetry (TET). *Journal of Agricultural Chemistry and Environment*, Vol.03No.01, 6.

Tischer, B., Oliveira, A. S., Costa, A. B., Cichoski, A. J., Barcia, M. T., Wagner, R., et al. (2017). Rapid and simultaneous determination of acidity and salt content of pickled vegetable brine by using thermal infrared enthalpimetry. *Journal of Food Composition and Analysis*, 63, 34-37.