

USO DA COMBUSTÃO INICIADA POR MICRO-ONDAS PARA O PREPARO DE AMOSTRAS DE OVO INTEGRAL DESIDRATADO E SUAS FRAÇÕES PARA POSTERIOR DETERMINAÇÃO DE Cl E S POR CROMATOGRAFIA IÔNICA

GILBERTO DA SILVA COELHO JUNIOR; ÍSIS GONÇALVES TORALLES;
THAIS MAZZETTI; DIOGO LA ROSA NOVO; VANIZE CALDEIRA DA COSTA;
MÁRCIA FOSTER MESKO.

*Universidade Federal de Pelotas - gilbertocoelhojunior@hotmail.com; isistoralles@yahoo.com.br;
thmazzetti@gmail.com; diogo.la.rosa@hotmail.com; vanizecaldeira@gmail.com;
marcia.mesko@pq.cnpq.br*

1. INTRODUÇÃO

A suplementação mineral em rações de aves de postura é essencial e está diretamente relacionada com a qualidade deste alimento, visto que os ovos são susceptíveis à incorporação de teores significativos de vários elementos, como por exemplo, o cloro e enxofre, considerando que estes são os minerais majoritários implementados em rações (ARAÚJO et al., 2008). Neste sentido, pode-se dizer que os ovos podem ser considerados uma fonte alimentar de Cl e S para o organismo humano. Sobre estes minerais, cabe mencionar que, fisiologicamente eles desempenham diversas funções, como por exemplo, a participação na distribuição e equilíbrio da água e de minerais nos tecidos corporais. Ainda, cabe destacar que, em concentrações elevadas podem ocasionar problemas à saúde, como acidose metabólica, problemas renais, hipertensão arterial, desequilíbrio de outros minerais no organismo, entre outros (BORSOI, 1995).

Desta forma, o desenvolvimento de métodos que possibilitem a determinação de Cl e S em ovos integrais desidratados, bem como em suas frações (clara e gema), é imprescindível para a obtenção de informações acerca da concentração destes analitos em alimentos. Para tanto, o uso de soluções alcalinas associado a sistemas fechados que possibilitem a extração dos analitos ou a combustão das amostras, têm sido utilizados visando minimizar a formação e a perda de elementos voláteis (NÓBREGA et al., 2006). Nessa perspectiva, um método de preparo de amostra que tem se mostrado adequado é a combustão iniciada por micro-ondas (MIC), o qual foi utilizado para a decomposição de diversas matrizes, incluindo amostras alimentícias, visando a posterior determinação de halogênios e S. (PEREIRA et al., 2008).

Dentre as mais diversas técnicas utilizadas para a determinação de Cl e S, a cromatografia de íons (IC) tem se destacado pela sua elevada sensibilidade e baixos limites de detecção (LDs), tornando-se favorável para a quantificação de elementos em baixas concentrações. Além disso, a IC apresenta um custo relativamente baixo, quando comparada a técnicas espectrométricas, bem como possibilita análise multielementar, o que aumenta a frequência de análise (MELLO et al., 2013). Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo desenvolver um método de preparo de amostras utilizando a MIC, visando a posterior determinação de Cl e S em ovo integral desidratado e suas frações por IC.

2. METODOLOGIA

As amostras de ovo integral desidratado e suas frações utilizadas neste trabalho foram adquiridas no comércio local de Pelotas/RS. Com o intuito de obter mais informações a respeito da matriz da amostra, foi realizado um estudo de caracterização físico-química, no qual foram avaliados os teores de proteína bruta e de gordura. Cabe destacar que esta etapa é importante previamente ao desenvolvimento do método de preparo de amostra, pois, dependendo das características da amostra, pode haver dificuldades na etapa de decomposição (BOYACI et al., 2015).

O teor de proteína bruta foi determinado utilizando o método de Kjeldahl. Neste procedimento, foi utilizada uma massa de amostra de 300 mg que, após digestão a 350 °C com 5 ml de H₂SO₄ concentrado, na presença de 2 g de um catalisador salino metálico (Na₂SO₄/CuSO₄ 10:1), foi destilado a amônia em um destilador de nitrogênio (MA036, Marconi, Brasil). Por fim, a solução de H₃BO₃ 4% (m/v) utilizada para coletada amônia destilada, foi titulada com HCl 0,1 mol l⁻¹. Para o teor de gordura, foi utilizado o método de Mojonnier, envolvendo a digestão de 1 g de amostra com 10 ml de HCl (4:1) a 70 °C/30 min. Após o processo de digestão, a gordura foi extraída com misturas de éter de petróleo e éter etílico, e por meio de centrifugação, visando a posterior evaporação dos solventes em estufa a 100 °C por cerca de 90 min (HORWITZ; LATIMER, 2011).

Para a decomposição das amostras por MIC foram utilizados filmes de polietileno para envolver as amostras (100 a 450 mg) umedecidas com NH₄NO₃ 6 mol l⁻¹ (50 ou 100 µl). A seguir, os invólucros formados foram inseridos na base de suportes de quartzo contendo um disco de papel filtro umedecido com 50 µl de NH₄NO₃ 6 mol l⁻¹. Posteriormente, os suportes com os invólucros, foram colocados no interior de frascos de quartzo contendo 6 ml de solução absorvedora (H₂O ou NH₄OH 10 a 75 mmol l⁻¹). A partir disso, os frascos foram fechados, introduzidos em um rotor e pressurizados com 20 bar de O₂. Em seguida, o rotor foi inserido em um forno micro-ondas (Multiwave 3000, Anton Paar, Áustria) e submetido a um programa de aquecimento de: *i*) 1400 W/50 s; *ii*) 0 W/1 min; *iii*) 1400 W/5 min e *iv*) 0 W/20 min. Logo, as soluções obtidas foram recolhidas em frascos de polietileno e posteriormente analisadas em um cromatógrafo de íons (IC 861, Metrohm, Suíça). Com a finalidade de analisar a estabilidade dos analitos em solução, foi determinado o pH em um medidor de pH (mPA-210, MS TECNOPON, Brasil). Para avaliar a exatidão do método proposto, um material de referência (RM) de leite em pó integral (NIST 8435) (200 mg) foi analisado sob as mesmas condições descritas anteriormente para as amostras de ovo integral desidratado e suas frações.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No que diz respeito a caracterização físico-química das amostras, estão apresentados na Tabela 1, os resultados obtidos para os teores de proteína bruta e de gordura. Desta forma, partir dos resultados obtidos, é possível inferir que os teores de proteína bruta e de gordura no ovo integral desidratado, na clara, bem como na gema, contribuem para a complexidade da matriz da amostra, visto que um percentual de 31% de gordura pode levar a dificuldades durante a etapa de decomposição da amostra.

Tabela 1. Determinação dos teores de proteína bruta e de gordura em amostras de ovo integral desidratado e suas frações (média % \pm SD, n=3).

Teor	Ovo integral	Clara de ovo	Gema de ovo
Proteína bruta	39 \pm 4	68 \pm 5	30 \pm 3
Gordura	31 \pm 3	< 1	31 \pm 4

A partir disso, foi avaliada a decomposição de amostras entre 100 e 450 mg por MIC, no qual foi verificada a possibilidade de decompor 350 mg de ovo integral desidratado e gema, se adicionado 100 μ l de NH_4NO_3 6 mol l^{-1} . Cabe destacar que, para clara foi possível decompor até 450 mg sem adição de NH_4NO_3 6 mol l^{-1} , o que demonstra que a limitação da quantidade máxima de massa de amostra a ser decomposta por MIC, neste estudo, é devido, em parte, ao elevado teor de gordura. Como apresentado na Tabela 1, as amostras estudadas apresentam um elevado conteúdo proteico (30 a 68%) e gorduroso (\leq 31%).

Após a escolha da massa de amostra adequada a ser decomposta por MIC, foram avaliadas as soluções absorvedoras mais adequadas para Cl e S. Como pode ser observado na Figura 1, foram obtidas recuperações satisfatórias para os analitos em todas as soluções avaliadas, uma vez que as recuperações de Cl e S variaram de 95 a 103% e de 93 a 104%, respectivamente. Contudo, cabe salientar que, os desvios padrões relativos (RSDs) se mostraram inferiores (< 5%) para as soluções de 25, 50 e 75 mmol l^{-1} de NH_4OH , quando comparados aos obtidos com 10 mmol l^{-1} (cerca de 6%) e H_2O (entre 7 e 8%).

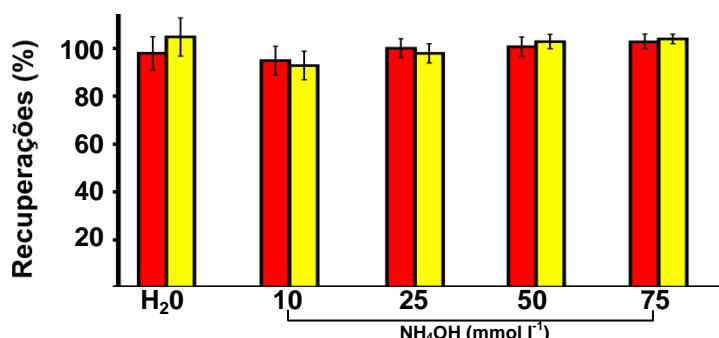


Figura 1. Recuperações para Cl e S, por IC em ovo integral desidratado decompostas por MIC, utilizando NH_4OH (10 a 75 mmol l^{-1}) e H_2O como solução absorvedora (massa 350 mg, n=3).

Embora as recuperações tenham sido satisfatórias para ambos os elementos em todas as soluções absorvedoras avaliadas, a determinação do pH das soluções é imprescindível, visto que o pH pode influenciar na estabilidade dos analitos em solução. Neste sentido, o pH das soluções avaliadas, variaram de 2,0 a 8,0, sendo os menores valores de pH referentes as soluções de H_2O (2,0) e NH_4OH 10 e 25 mmol l^{-1} (2,0 e 3,0), enquanto as demais soluções o pH variou entre 7,0 e 8,0. Desta forma, considerando que o pH baixo pode levar a instabilidade dos halogênios, devido ao meio ácido favorecer a formação de espécies voláteis (KNAPP et al., 1998), a solução de 50 mmol l^{-1} foi considerada a mais adequada para absorção dos analitos.

A partir da escolha da solução absorvedora, foi avaliada a exatidão do método desenvolvido utilizando o RM NIST 8435, no qual foram obtidas concordâncias adequadas entre os valores encontrados e de referência para ambos os elementos (Cl: 102% e S: 97%). A partir disso, conforme apresentado na Tabela 2, as concentrações de Cl e S nas amostras de ovo integral

desidratado e suas frações apresentaram RSDs relativamente baixos (Cl: 4% e S: 3%), demonstrando que o método desenvolvido apresenta precisão nas análises.

Tabela 2. Concentração de Cl e S em amostras de ovo integral desidratado e suas frações, com NH_4OH 50 mmol l^{-1} como solução absorvedora ($n=3$).

Amostra	Cl ($\mu\text{g g}^{-1} \pm \text{SD}$)	S ($\mu\text{g g}^{-1} \pm \text{SD}$)
Ovo integral	6049 \pm 242	6767 \pm 203
Clara de ovo	14073 \pm 563	14555 \pm 437
Gema de ovo	3978 \pm 159	3898 \pm 117

Por último, cabe salientar que, foram obtidos LDs (Cl: 43 $\mu\text{g g}^{-1}$ e S: 9 $\mu\text{g g}^{-1}$) adequados para Cl e S, por IC. Com isso, foi possível observar variações significativas para as amostras de ovo integral desidratado e suas frações.

4. CONCLUSÕES

O método de preparo de amostra desenvolvido utilizando a MIC, mostrou-se adequado para posterior determinação de Cl e S em ovo em pó integral e suas frações, tendo em vista que apresentou exatidão, precisão e LDs adequados. Além disso, com a MIC foi possível o uso de soluções diluídas para a absorção dos analitos, minimizando a geração de resíduos, permitindo a obtenção de soluções adequadas após a decomposição para a determinação por IC.

Os autores agradecem a CAPES, CNPq e FAPERGS pelas bolsas de estudo e apoio financeiro na execução do projeto.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAÚJO, J.A.; DA SILVA, J.H.V.; AMÂNCIO, A.L.L.; LIMA, C.B.; DE OLIVEIRA, E.R.A. Fontes de minerais para poedeiras. **Acta Veterinaria Brasileira**, Mossoró, v.2, n.3, p.53-60, 2008.
- BORSOI, M.A. **Nutrição e dietética**. São Paulo: Senac São Paulo, 1995.
- BOYACI, E.; RODRÍGUEZ-LAFUENTE, A.; GORYNSKI, K.; MIRNAGHI, F.; SOUZA-SILVA, É.A.; HEIN, D.; PAWLISZYN, J. Sample preparation with solid phase microextraction and exhaustive extraction approaches: Comparison for challenging cases. **Analytica Chimica Acta**, Netherlands, v.873, p.14-30, 2015.
- HORWITZ, W.; LATIMER, G.W. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. Gaithersburg: AOAC International, 2011.
- KNAPP, G.; MAICHIN, B.; FECHER, P.; HASSE, S.; SCHRAMEL, P. Iodine determination in biological materials - options for sample preparation and final determination. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**, Heidelberg, v.362, p.508-513, 1998.
- MELLO, P.A.; BARIN, J.S.; DUARTE, F.A.; BIZZI, C.A.; DIEHL, L.O.; MULLER, E.I.; FLORES, E.M.M. Analytical methods for the determination of halogens in bioanalytical sciences: a review. **Analytical Bioanalytical Chemistry**, Heidelberg, v.405, n.24, p.7615-7642, 2013.
- NÓBREGA, J.A.; SANTOS, M.C.; SOUSA, R.A.; CADORE, S.; BARNES, R.M.; TATRO, M. Sample preparation in alkaline media: a review. **Spectrochimica Acta Part B**, Amsterdam, v.61, n.5, p.465-495, 2006.
- PEREIRA, J.S.F.; DIEHL, L.O.; DUARTE, F.A.; SANTOS, M.F.P.; GUIMARÃES, R.C.L.; DRESSLER, V.L.; FLORES, E.M.M. Chloride determination by ion chromatography in petroleum coke after digestion by microwave-induced combustion. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v.1213, n.2, p.249-252, 2008.