

VIABILIDADE DO USO DA RADIAÇÃO MICRO-ONDAS COMBINADA COM A RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA PARA A DECOMPOSIÇÃO DE CHOCOLATE VISANDO A POSTERIOR DETERMINAÇÃO DE Cd E Ni POR ICP-MS

CARLA DE ANDRADE HARTWIG¹; DIRCE TAINÁ TEIXEIRA DE OLIVEIRA¹; FILIPE SOARES RONDAN¹; RODRIGO MENDES PEREIRA¹; SANDRA MEINEN DA CRUZ²; MÁRCIA FOSTER MESKO¹

¹Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas – carlahartwig@yahoo.com.br; marciamesko@yahoo.com.br

²Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Maria.

1. INTRODUÇÃO

O chocolate é um alimento mundialmente consumido, sendo ingerido principalmente na forma de barras ou como ingrediente de outros produtos alimentares (VILLA; PEIXOTO; CADORE, 2014). Embora apresente composição química rica em açúcares e gorduras, o consumo de chocolate tem sido associado a efeitos benéficos à saúde, relacionados principalmente à ingestão de proteínas, carboidratos, minerais, flavonóides, polifenóis, entre outros. Entretanto, alguns estudos têm mostrado que elementos tóxicos podem também ser encontrados em chocolates, sendo atribuídos a processos de produção, embalagens, ou matéria-prima utilizados (JALBANI *et al.*, 2009; VILLA; PEIXOTO; CADORE, 2014; YANUS *et al.*, 2014). Cádmio e níquel são exemplos de elementos a serem investigados em chocolate devido à toxicidade que apresentam ao organismo humano. A absorção de Cd pelo organismo pode causar danos a órgãos como fígado e rins, enquanto que o Ni é potencialmente cancerígeno, além de ser um conhecido alérgeno (WHO, 1996).

Considerando que estes elementos geralmente estão presentes em concentrações traço em chocolates, a avaliação de sua presença exige o uso de técnica analítica de determinação com elevada sensibilidade. Neste sentido, a espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS do inglês *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometer*) merece destaque, tendo em vista que promove determinações simultâneas dos analitos, com rapidez e sensibilidade adequadas. Entretanto, o uso dessa técnica geralmente requer uma etapa de preparo de amostras previamente a análise, a qual deve converter as amostras em uma solução com baixo teor de carbono dissolvido, visando minimizar a ocorrência de interferências na determinação de alguns analitos (BECKER, 2007; GRINDLAY *et al.*, 2013).

Neste sentido, a digestão assistida por radiação micro-ondas e ultravioleta (MW-UV, do inglês *Microwave-assisted UV digestion*), merece destaque por sua elevada eficiência na decomposição de amostras com elevado teor de gordura, permitindo o uso de ácidos diluídos como solução digestora, sem comprometer a eficiência de decomposição (FLORIAN; KNAPP, 2001; PEREIRA; WILTSCHE; KNAPP, 2014). Desta forma, a MW-UV constitui uma alternativa para o preparo de amostras de chocolate previamente as determinações elementares por ICP-MS.

Assim, este trabalho teve como objetivo a determinação de Cd e Ni por ICP-MS em chocolates (branco e ao leite) após decomposição por MW-UV. Para tanto, foram avaliadas concentrações variadas de solução digestora (HNO_3), bem

como o teor de C dissolvido nos digeridos. A determinação de umidade, cinzas e gordura também foi conduzida, com o intuito de caracterizar as amostras.

2. METODOLOGIA

2.1 Obtenção e caracterização físico-química das amostras

As amostras de chocolate branco e ao leite utilizadas neste trabalho foram adquiridas no comércio da cidade de Pelotas/RS. Inicialmente, foram caracterizadas quanto aos teores de umidade, cinzas e gorduras totais, mediante a aplicação dos métodos 931.04, 972.15, e 963.15, respectivamente, recomendados pela *Association of Official Analytical Chemists* (WORWITZ, LATIMER, 2011). Estes procedimentos fazem referência a métodos clássicos, baseados em determinações gravimétricas ou extração pelo método de Soxhlet.

2.2 Preparo das amostras por MW-UV

Massas de 0,5 g de chocolate, manualmente cominuído, foram levadas à decomposição em forno micro-ondas (Multiwave 3000, Anton Paar), em presença de lâmpada de emissão de radiação UV, e 10 ml de solução digestora (HNO_3 2, 4, 7 ou 14,4 mol l^{-1}), sob o seguinte programa de irradiação: *i*) 550 W/10 min (rampa de 20 min); *ii*) 900 W/20 min (rampa de 10 min); *iii*) 0 W/15 min. As soluções resultantes foram avolumadas a 25 ml com água ultrapura, e conduzidas à avaliação da eficiência de digestão conforme descrito no item 2.3. Após a escolha da melhor condição de decomposição, investigou-se a possibilidade do emprego de massas mais elevadas de amostra (0,6 e 0,7 g).

Cabe enfatizar que a avaliação das condições de decomposição foi realizada com uma amostra de chocolate ao leite, selecionada aleatoriamente.

2.3 Avaliação da eficiência de decomposição

A eficiência de decomposição alcançada com as diferentes concentrações ácidas foi avaliada mediante determinação do teor de C dissolvido nos digeridos, a qual foi conduzida em um espectrômetro de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES, do inglês *Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*, Spectro Ciros CCD, Spectro Analytical Instruments). Previamente à determinação, os digeridos foram purgados com argônio por 2 min com o intuito de eliminar o CO_2 dissolvido. A curva de calibração para C (10 a 250 mg l^{-1}) foi preparada em HNO_3 5% v/v, a partir de solução concentrada de ácido cítrico e em presença de ítrio como padrão interno.

2.4 Determinação das concentrações de Cd e Ni em chocolates

Após as condições de decomposição terem sido estabelecidas, os digeridos de chocolate branco e ao leite, obtidos por MW-UV, tiveram as concentrações de Cd e Ni determinadas por ICP-MS (Elan DRC II, PerkinElmer SCIEX). Neste procedimento foi monitorada a presença dos isótopos ^{111}Cd e ^{58}Ni , a partir de calibração do instrumento com curva (0,025 a 10 $\mu\text{g l}^{-1}$) preparada em HNO_3 5% v/v, a partir de solução padrão multielementar (SCP 33MS, SPEX Certiprep).

2.5 Avaliação da exatidão do método proposto

A exatidão do método de preparo de amostra de chocolate por MW-UV, com subsequente determinação de Cd e Ni por ICP-MS, foi avaliada pela decomposição do material de referência certificado (CRM) BCR 414 (*Plankton*) na condição de decomposição selecionada. Ainda, tendo em vista que o CRM utilizado não possui matriz semelhante à amostra, foi realizado um estudo

adicional pela decomposição de CRM (0,15 g) acrescido à amostra de chocolate (0,35 g), na forma de um ensaio de recuperação.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inicialmente as amostras de chocolate branco e ao leite foram caracterizadas físico-quimicamente, sendo observados teores de gordura da ordem de 34% para ambos os tipos de chocolate, o que comprovou o considerável conteúdo de gordura destas amostras. Por sua vez, os teores de umidade e cinzas apresentaram valores médios inferiores a 22 e a 2%, respectivamente, para os dois tipos de chocolate avaliados.

Com relação ao preparo de amostras por MW-UV, foi realizada inicialmente a avaliação da solução digestora para a decomposição de 0,5 g de chocolate, sendo que foram obtidos digeridos com aspecto límpido e incolor em todas as condições avaliadas. Entretanto, a determinação de C dissolvido nestes digeridos demonstrou uma acentuada diminuição na eficiência de decomposição quando se utilizou HNO_3 na concentração de 2 mol l^{-1} (47 mg C/100 mg de amostra decomposta), se comparada às demais concentrações ácidas avaliadas (cerca de 0,4 mg C/100 mg de amostra decomposta).

Desta forma, a solução de HNO_3 com concentração de 4 mol l^{-1} foi selecionada para a continuidade dos estudos, tendo em vista que foi a solução ácida mais diluída dentre as concentrações avaliadas em que se obteve decomposição eficiente da amostra. Posteriormente, foi avaliada a eficiência da decomposição para massas de 0,6 e 0,7 g de amostra, através da determinação de C dissolvido nos digeridos resultantes. Os teores de C dissolvido obtidos nestas condições (0,4 e 1 mg C/100 mg de amostra decomposta, respectivamente), demonstraram ser possível a decomposição de até 0,6 g de amostra, sem redução na eficiência de digestão.

Desta forma, aplicou-se as condições selecionadas (0,6 g de amostra, e HNO_3 4 mol l^{-1}) para a decomposição das amostras de chocolate branco (CB) e ao leite (CL) por MW-UV, previamente à determinação de Cd e Ni por ICP-MS. Os resultados encontram-se apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Concentrações de Cd e Ni determinadas em chocolate por ICP-MS, após digestão por MW-UV utilizando HNO_3 4 mol l^{-1} ($n = 4$).

Amostra	Concentração ($\mu\text{g kg}^{-1}$)		Amostra	Concentração ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	
	Cd	Ni		Cd	Ni
CB1	< 1.17*	104,8 \pm 5,3	CL1	13,66 \pm 0,70	537,6 \pm 29,0
CB2	< 1.17*	108,1 \pm 5,7	CL2	16,14 \pm 0,76	380,9 \pm 23,2
CB3	< 1.17*	97,29 \pm 6,61	CL3	18,21 \pm 1,04	652,3 \pm 41,1

*limite de detecção para Cd utilizando o método proposto.

Como pode ser observado, as concentrações de Ni foram sempre superiores às concentrações de Cd, em ambos os chocolates avaliados. Além disso, a concentração dos dois elementos investigados foi mais elevada no chocolate ao leite, o que pode estar associado à presença de cacau neste produto.

Além disso, com o método proposto foram obtidos resultados com desvio padrão relativos sempre inferiores a 7% para ambos os analitos, e limites de detecção (LDs) de 1,17 e 55,45 $\mu\text{g kg}^{-1}$, para Cd e Ni, respectivamente. A exatidão do método foi confirmada pela boa concordância (> 95%) entre os valores obtidos e os valores certificados para ambos os elementos no CRM avaliado. Mesmo comportamento foi observado quando o CRM foi utilizado na forma de um ensaio de recuperação, quando recuperações em torno de 98% foram obtidas para ambos os analitos.

4. CONCLUSÕES

O método utilizando MW-UV e ICP-MS foi adequado para a determinação de Cd e Ni em amostras de chocolate, demonstrando a presença de maiores concentrações destes elementos em chocolates ao leite, se comparados a chocolates brancos. Além disso, foi possível a decomposição das amostras utilizando apenas solução diluída de HNO_3 como solução digestora, com LDs adequados para ambos os analitos. Cabe destacar que este estudo encontra-se em processo, de forma que o método ainda deve ser aplicado a outras amostras de chocolate, e para a determinação de outros elementos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BECKER, J. S. **Inorganic Mass Spectrometry: Principles and Applications**, England: John Wiley & Sons Ltd, 2007.
- FLORIAN, D.; KNAPP, G. High-temperature, microwave-assisted UV-digestion: a promising sample preparation technique for trace element analysis. **Analytical Chemistry**, v.73, p.1515-1520, 2001.
- GRINDLAY, G.; MORA, J.; LOOS-VOLLEBREGT, M.; WANHAECKE, F. A systematic study on the influence of carbon on the behavior of hard-to-ionize elements in inductively coupled plasma-mass spectrometry. **Spectrochimica Acta, Part B**, v. 86, p. 42-49, 2013.
- JALBANI, N.; KAZI, T. G.; AFRIDI, H. I.; ARAIN, M. B. Determination of toxic metals in different brand of chocolates and candies, marketed in Pakistan. **Pakistan Journal of Analytical & Environmental Chemistry**, v. 10, p. 48-52, 2009.
- PEREIRA, J. S. F.; WILTSCHE, E; KNAPP, G. Microwave-assisted UV digestion. In: FLORES, E. M. M. **Microwave-Assisted Sample Preparation for Trace Element Determination**. Oxford: Elsevier, 2014, Cap. 7, p. 205-229.
- VILLA, J. E. L.; PEIXOTO, R. R. A.; CADORE, S. Cadmium and Lead in Chocolates Commercialized in Brazil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, p. 8759-8763, 2014.
- WHO: WORLD HEALTH ORGANIZATION, **Trace elements in human nutrition and health**. Geneva, 1996.
- WORWITZ, W.; LATIMER, G. W. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. Gaithesburg: AOAC International, 2011.
- YANUS, R. L.; SELA, H.; BOROJOVICH, E. J. C.; ZAKON, Y.; SAPHIER, M.; NIKOLSKI, A.; GUTFLAIS, E.; LORBER, A.; KARPAS, Z. Trace elements in cocoa solids and chocolate: An ICP-MS study. **Talanta**, v. 119, p. 1-4, 2014.