

## DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO PARA A DETERMINAÇÃO DE METAIS EM SUPLEMENTOS DIETÉTICOS POR ICP OES COMBINADO COM A MIC PARA O PREPARO DE AMOSTRAS

**RODRIGO MENDES PEREIRA; DIOGO LA ROSA NOVO; JANAÍNA DO  
ROSÁRIO BRUM; NATÁLIA JORGE BIELEMANN; JULIA EISENHARDT DE  
MELLO; MÁRCIA FOSTER MESKO**

*Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas*  
*rodrigo.mprs@yahoo.com.br; marciamesko@yahoo.com.br*

### 1. INTRODUÇÃO

O consumo de suplementos dietéticos visando à promoção da saúde e qualidade de vida é uma prática nutricional que vem se tornando cada vez mais comum entre indivíduos de distintas faixas etárias. O impacto de modelos publicitários sobre os valores e atitudes da população, bem como a supervalorização da imagem corporal a partir de um padrão estético considerado ideal, são os fatores que mais têm contribuído para que isso ocorra (SOUZA et al., 2014). Além disso, esses produtos são facilmente adquiridos sem qualquer restrição em farmácias, supermercados e lojas especializadas ou virtuais pela internet, o que vem gerando preocupação aos órgãos de saúde.

Algumas pesquisas têm demonstrado que a ingestão inadequada de suplementos dietéticos, bem como a presença de elementos químicos em concentrações inadequadas nesses produtos, pode trazer malefícios ao organismo humano (TRIPP, 1997). Em vista disso, é de suma importância o desenvolvimento de métodos analíticos que permitam avaliar a concentração de elementos químicos em suplementos. Vale mencionar que alguns metais, por exemplo, são essenciais para o desempenho de diversos processos vitais no organismo e, assim, podem trazer malefícios quando ingeridos em excesso, principalmente, associado a uma suplementação inadequada.

A utilização de técnicas espectrométricas como a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) e a espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS), são bastante consolidadas para a determinação de metais em baixas concentrações nos mais diversos tipos de amostras. Isso está relacionado com a adequada sensibilidade, rapidez e capacidade de determinação multielementar (HOU et al., 2006; MONTASER, 1998). Entretanto, as técnicas espectrométricas com plasma são passíveis de interferências químicas e físicas, as quais podem dificultar a determinação dos analitos. Dessa forma, usualmente, faz-se necessária a conversão da amostra sólida em uma solução compatível com a técnica de determinação (BARNES; JÚNIOR; KRUG, 2014).

Sob esse aspecto, vale ressaltar que a digestão por via úmida assistida por radiação micro-ondas (MW-AD) em sistema fechado, associada ao uso de ácidos concentrados, é um dos métodos de preparo de amostras mais empregados para suplementos dietéticos quando se almeja a determinação de metais por ICP OES ou ICP-MS (AVULA et al., 2011; MARRERO et al., 2013). No entanto, o uso de ácidos concentrados apresenta uma série de inconvenientes, como riscos ao analista e grandes quantidades de resíduos. Além disso, em alguns casos, esse método não é considerado adequado, pois não proporciona a completa digestão da amostra e/ou resulta em digeridos com elevada concentração ácida. Nesse sentido, previamente a determinação, faz-se necessária a realização de uma etapa de diluição com o intuito de minimizar

a ocorrência de interferências e danos aos equipamentos. Por sua vez, os limites de detecção do método (LDs) são drasticamente afetados, tornando inviável a determinação de elementos em nível de traços (Müller *et al.*, 2014).

Diante desses inconvenientes, a combustão iniciada por micro-ondas (MIC) pode ser uma alternativa ao preparo de suplementos dietéticos, uma vez que apresenta características que podem suprir as limitações da MW-AD (BARIN *et al.*, 2014). A possibilidade de uma decomposição eficientemente utilizando soluções diluídas associada a uma técnica de determinação sensível, como a ICP OES, torna possível a determinação de elementos em baixas concentrações. Ainda, reduz os riscos ao analista e a geração de resíduos. Em virtude disso, neste trabalho serão apresentados resultados preliminares referentes ao desenvolvimento de um método para determinação de metais, como Ba, Cu, Fe, Mn, Mo, Sr e Zn por ICP OES em suplementos dietéticos, a partir do preparo da amostra por MIC.

## 2. METODOLOGIA

Uma amostra de suplemento dietético (hipercalórico) foi selecionada aleatoriamente para a avaliação do uso da MIC para o preparo de amostras de suplementos dietéticos em forno micro-ondas (Multiwave 3000, Anton Paar), visando à posterior determinação de metais em um espectrômetro de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (Spectro Ciros CCD, Spectro Analytical Instruments). Essa amostra foi adquirida no comércio local da cidade de Pelotas-RS e, previamente ao início dos experimentos, foi homogeneizada com o auxílio de um bastão de vidro em um béquer de 500 ml por aproximadamente 3 min e seca em estufa por 3 h a  $60 \pm 5$  °C.

Após isso, 400-1000 mg de amostra foram envolvidas em um filme de polietileno (com dimensões de 8 x 8 cm) e, o invólucro contendo a amostra, foi colocado na base de um dispositivo de quartzo, o qual continha um disco de papel filtro umedecido com 50  $\mu$ l de uma solução de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  6 mol  $\text{l}^{-1}$ . Em seguida, o dispositivo de quartzo foi introduzido em um frasco de digestão, também constituído de quartzo, contendo 6 ml de solução absorvedora ( $\text{HNO}_3$  – 0,50; 1; 2; 4 ou 7 mol  $\text{l}^{-1}$ ). Por fim, os frascos foram cuidadosamente fechados, fixados a um rotor, pressurizados com 20 bar de  $\text{O}_2$  e submetidos a aquecimento em forno micro-ondas sob o seguinte programa de irradiação: *i*) 1400 W por 1 min (etapa de combustão); *ii*) 0 W por 3 min; *iii*) 1400 W por 5 min e *iv*) 0 W por 20 min (etapa de resfriamento). As soluções obtidas foram filtradas, transferidas para frascos volumétricos de 25 ml e o volume final foi aferido com água ultrapura.

Adicionalmente, para a comparação dos resultados a amostra foi submetida a digestão assistida por micro-ondas sob pressão de  $\text{O}_2$  (MW- $\text{O}_2$ ), conforme método proposto por Crizel (2015) para a digestão de suplementos esportivos visando a posterior determinação de minerais (CRIZEL, 2015).

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A avaliação da massa de suplemento considerada mais adequada para a digestão por MIC foi realizada, inicialmente, com base no aspecto das soluções obtidas. Com base nisso, foi possível observar que a utilização de massas superiores a 800 mg não foi eficiente para a completa digestão das amostras, uma vez que essas soluções apresentaram coloração amarelada (900 e 1000 mg). Nesse sentido, com o intuito de verificar se existiam diferenças

significativas na concentração dos analitos, os digeridos obtidos a partir da digestão de 400 ou 800 mg por MIC, usando 6 ml de  $\text{HNO}_3$  4 mol  $\text{l}^{-1}$  como solução absorvedora, foram analisados por ICP OES. Cabe mencionar que a condição de 800 mg foi selecionada para avaliação da concentração dos analitos, pois foi a massa de amostra digerida mais elevada na qual a solução resultante não apresentou coloração amarelada. A partir disso, pôde-se verificar que a concentração de todos os analitos avaliados não variou significativamente quando massas de 400 ou 800 mg de amostra foram utilizadas. Portanto, mesmo a combustão de 800 mg de amostra tendo apresentado um pouco de fuligem na solução, a concentração dos analitos nas soluções não foi influenciada. Nesse sentido, tendo em vista que o uso de massas mais elevadas de amostras proporciona a obtenção de menores limites de detecção, a massa de 800 mg de suplemento foi selecionada como a mais adequada e fixada para execução dos experimentos subsequentes. Posteriormente, foi realizada a avaliação da solução mais adequada para absorver os analitos e, os resultados obtidos, encontram-se na Tabela 1.

**Tabela 1.** Concentração de Ba, Cu, Fe, Mn, Mo, Sr e Zn em suplemento dietético obtida por ICP OES após decomposição por MIC, com diferentes concentrações de  $\text{HNO}_3$  como solução absorvedora (média  $\pm$  desvio padrão,  $\text{mg kg}^{-1}$ ,  $n = 3$ ).

Elemento	Solução absorvedora – $\text{HNO}_3$ (mol $\text{l}^{-1}$ )				
	0,5	1	2	4	7
Ba*	150 $\pm$ 21	182 $\pm$ 19	229 $\pm$ 26	243 $\pm$ 22	245 $\pm$ 18
Cu*	503 $\pm$ 67	688 $\pm$ 70	849 $\pm$ 105	805 $\pm$ 90	830 $\pm$ 71
Fe	11,52 $\pm$ 1,57	14,58 $\pm$ 1,8	22,4 $\pm$ 3,0	30,1 $\pm$ 2,7	27,3 $\pm$ 2,1
Mn	1,50 $\pm$ 0,18	2,63 $\pm$ 0,32	2,64 $\pm$ 0,24	3,34 $\pm$ 0,30	3,21 $\pm$ 0,27
Mo*	65 $\pm$ 7	125 $\pm$ 12	143 $\pm$ 13	149 $\pm$ 13	145 $\pm$ 10
Sr	2,66 $\pm$ 0,30	2,80 $\pm$ 0,38	3,43 $\pm$ 0,35	3,70 $\pm$ 0,26	3,36 $\pm$ 0,27
Zn	11,2 $\pm$ 1,5	12,3 $\pm$ 1,2	13,3 $\pm$ 1,4	14,4 $\pm$ 1,9	14,9 $\pm$ 1,3

\* concentrações expressas em  $\text{µg kg}^{-1}$

É válido destacar que as concentrações de todos os analitos, quando  $\text{HNO}_3$  0,5 mol  $\text{l}^{-1}$  foi utilizado como solução absorvedora, apresentaram diferenças significativas dos resultados obtidos quando  $\text{HNO}_3$  2, 4 ou 7 mol  $\text{l}^{-1}$  foram utilizados. Por outro lado, quando se utilizou  $\text{HNO}_3$  1 mol  $\text{l}^{-1}$ , os resultados para Cu, Mo e Zn, não diferiram significativamente dos valores obtidos nessas condições. No entanto, foi somente a partir do uso da solução de  $\text{HNO}_3$  2 mol  $\text{l}^{-1}$  que a concentração de todos os analitos não diferiram estatisticamente das condições em que ácidos menos diluídos foram utilizados ( $\text{HNO}_3$  4 ou 7 mol  $\text{l}^{-1}$ ). Contudo, vale mencionar ressaltar que os desvios padrão relativos (RSDs) dos analitos, em praticamente todas as condições avaliadas inicialmente, mostraram-se relativamente elevados (9 a 14%). Isso provavelmente está relacionado, como mencionado anteriormente, a massa de suplemento utilizada nesses experimentos (800 mg) ser a massa máxima de suplemento a ser decomposta por MIC, fator evidenciado pela presença de fuligem na solução. Além disso, não se descarta a possibilidade de erros aleatórios relacionados ao uso dos reagentes ( $\text{HNO}_3$  e ou  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ) e/ou de materiais.

Apesar disso, não foram observadas diferenças significativas para todos os analitos, quando esses resultados foram comparados com os obtidos a partir da execução do método proposto por Crizel (2015). Portanto, pretende-se,

posteriormente, avaliar outros parâmetros visando a redução dos RSDs, assim como, a avaliação da exatidão do método.

#### 4. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos até o momento, foi possível verificar que a MIC é uma promissora alternativa para o preparo de amostras de suplementos dietéticos e posterior determinação de metais por ICP OES. Isso ocorre, tendo em vista que a MIC possibilita o uso de soluções diluídas, o que agrupa vantagens importantes ao método, como a possibilidade de determinar elementos em baixas concentrações, a redução de riscos ao analista, bem como a geração de resíduos. Por fim, deve-se salientar que esses resultados fazem parte de um estudo inicial e que outros parâmetros como tempo de refluxo, forma de introdução da amostra no sistema, uso de auxiliares visando aumentar a massa de amostra a ser decomposta, dentre outros, ainda serão avaliados.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AVULA, B. *et al.* Inorganic elemental compositions of commercial multivitamin/mineral dietary supplements: Application of collision/reaction cell inductively coupled-mass spectroscopy. **Food Chemistry**, v. 127, n. 1, p. 54-62, 2011.
- BARIN, J. S. *et al.* Chapter 5 - Microwave-Induced Combustion. In: (Ed.). **Microwave-Assisted Sample Preparation for Trace Element Analysis**. Amsterdam: Elsevier, 2014. p.143-177.
- BARNES, R. M.; JÚNIOR, D. S.; KRUG, F. J. Chapter 1 - Introduction to Sample Preparation for Trace Element Determination A2 - Flores, Érico Marlon de Moraes. In: (Ed.). **Microwave-Assisted Sample Preparation for Trace Element Analysis**. Amsterdam: Elsevier, 2014. p.1-58.
- CRIZEL, M. G. **Desenvolvimento de método de decomposição de suplemento esportivo por via úmida sob pressão de O<sub>2</sub> assistido por radiação micro-ondas para a determinação de metais e não metais por técnicas espectrométricas e por cromatografia de íons**. 2015. 112 (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Pelotas.
- HOU, X. *et al.* Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry. In: (Ed.). **Encyclopedia of Analytical Chemistry**: John Wiley & Sons, Ltd, 2006.
- MARRERO, J. *et al.* Inductively coupled plasma optical emission spectrometric determination of fifteen elements in dietary supplements: Are the concentrations declared in the labels accurate? **Microchemical Journal**, v. 108, p. 81-86, 2013.
- MONTASER, A. **Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry**. New York, USA: Wiley-VHC, 1998.
- SOUZA, A. R. *et al.* **Corpos em evidência: olhares sobre a estética masculina nas academias de ginástica**. Revista digital educación física y deportes. Buenos Aires. 19: 1 p. 2014.
- TRIPP, F. The Use of Dietary Supplements in the Elderly: Current Issues and Recommendations. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 97, n. 10, Supplement, p. S181-S183, 10, 1997.