

## DETERMINAÇÃO DE ENXOFRE E FÓSFORO EM RAÇÕES DESTINADAS À ALIMENTAÇÃO DE ANIMAIS DE PRODUÇÃO

GILBERTO DA SILVA COELHO JUNIOR; FILIPE SOARES RONDAN; DIOGO LA ROSA NOVO; RODRIGO MENDES PEREIRA; CARLA DE ANDRADE HARTWIG; MÁRCIA FOSTER MESKO

Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas  
gilbertocoelhojunior@hotmail.com; marciamesko@yahoo.com.br

### 1. INTRODUÇÃO

A saúde dos animais, assim como a dos seres humanos, está diretamente associada à qualidade dos alimentos, principalmente, no que diz respeito às quantidades de micro e macronutrientes ingeridos. Dentre os macronutrientes, presentes em rações para animais, cabe destacar o enxofre (S) e o fósforo (P), tendo em vista que estes elementos estão entre os minerais mais adicionados nesse tipo de alimento. Isto se deve ao fato de que S e P exercerem diversas funções essenciais no metabolismo dos animais como, por exemplo, na reprodução, no crescimento, na produção de energia e no equilíbrio osmótico e iônico (MCDOWELL, 1992). Contudo, a ingestão de elevadas concentrações desses elementos pode ocasionar uma série de complicações para o organismo dos animais como, por exemplo, alterações no equilíbrio iônico do organismo, levando a formação de precipitados de alguns sais capazes de se aglomerarem e obstruírem o trato urinário (KANEKO et al., 1997).

Dessa forma, é de extrema importância o controle das concentrações de S e P em rações destinadas a animais. Entretanto, para que isso seja possível, faz-se necessário o desenvolvimento de métodos analíticos que forneçam resultados adequados e que sejam aplicáveis a análise de rotina. Nesse sentido, algumas instituições como a *Association of Analytical Communities* (AOAC) recomendam métodos oficiais para a determinação de alguns macronutrientes em ração animal (WORWITZ; LATIMER, 2011). Contudo, os métodos oficiais apresentam algumas desvantagens, como a necessidade de utilização de elevadas quantidades de reagentes concentrados e o fato de envolverem diversas etapas (WORWITZ; LATIMER, 2011). Ademais, cabe ressaltar que embora se saiba da importância da determinação de S em ração animal, os métodos oficiais recomendados pela AOAC abrangem apenas a determinação de P, sendo inexistente métodos oficiais para a determinação de S em ração animal.

Diante disso, o método baseado na decomposição por via úmida em sistema fechado assistido por radiação micro-ondas e ultravioleta (MW-UV) pode ser uma alternativa para a decomposição de amostras de ração, especialmente, devido à sua eficiência em decompor amostras com considerável teor de gordura (HARTWIG et al., 2016). Além disso, com o uso da MW-UV, há um sinergismo entre as duas radiações utilizadas durante a decomposição da amostra, o que possibilita a utilização de ácidos diluídos sem perder eficiência de digestão. Ainda, é importante mencionar que esses fatores possibilitam a obtenção de soluções digeridas compatíveis com diferentes técnicas de determinação sensíveis para a determinação de S e P.

No que se refere às técnicas analíticas disponíveis para a determinação de S e P, a cromatografia iônica (IC) apresenta uma série de vantagens como, por exemplo, sua capacidade multielementar, elevada sensibilidade, curto tempo de análise, pequenos volumes de solução e, principalmente, menores custos quando

comparada a técnicas espectrométricas. Estes diversos fatores, quando associado a um preparo de amostra adequado, tornam a IC uma técnica de determinação bastante promissora para a análise de rotina de ração animal.

Diante do exposto, neste trabalho foi realizada a aplicação da MW-UV associada à IC para a determinação de S e P em rações destinadas à alimentação de animais de produção. A concentração de P foi também determinada utilizando um método oficial recomendado pela AOAC, visando a comparação dos resultados obtidos.

## 2. METODOLOGIA

As amostras de rações utilizadas neste trabalho destinadas a alimentação de bovinos (adultos e jovens desmamados), codornas, coelhos, equinos (adultos e jovens desmamados), galinhas, ovelhas, peixes e porcos foram produzidas na cidade de Pelotas – RS e São Leopoldo – RS. Inicialmente, as amostras foram moídas em moinho de facas (226/5, Lucadema Científica), secas em estufa (400/2ND, DeLeo) a 65 °C por 12 h e armazenadas em recipientes plásticos previamente descontaminados.

Para o preparo por MW-UV, as amostras foram pesadas (0,5 g), transferidas para frascos de quartzo e digeridas em um forno de micro-ondas (Multiwave 3000®, Anton Paar), na presença de lâmpadas de emissão de ultravioleta e 10 mL de HNO<sub>3</sub> 2 mol L<sup>-1</sup>. O programa de aquecimento com radiação micro-ondas utilizado foi: i) 600 W/6 min; ii) 800 W/10 min e iii) 0 W/20 min. Os parâmetros do método foram utilizados de acordo com o trabalho desenvolvido por NOVO et al. (2015). Após o procedimento de digestão, as soluções obtidas foram avolumadas a 25 mL para a posterior determinação de S e P (na forma de sulfato e fosfato, respectivamente) utilizando um cromatógrafo de íons (861 Advanced Compact IC, Metrohm).

Após a aplicação do método proposto, a ração destinada a peixes foi selecionada aleatoriamente para a avaliação do método oficial (*Method 965.17*) recomendado pela AOAC para a determinação de P em ração animal. Para isso, 2,0 g de ração foram submetidos a calcinação em forno mufla (2000-B, Zezimaq) a 600 °C por 4h. Em seguida, as cinzas foram solubilizadas em 40 mL de HCl 4 mol L<sup>-1</sup>. Concomitantemente, uma solução de molibdovanadato de amônio - preparada a partir da mistura de uma solução de molibdato de amônio, metavanadato de amônio e ácido perclórico concentrado – foi utilizada para a complexação do P proveniente da solubilização das cinzas. Por fim, um equipamento de espectrometria de absorção molecular (UV 1100, Pró-análise), foi utilizado para a determinação de P (400 nm) de acordo com o recomendado pelo método oficial (WORWITZ; LATIMER, 2011).

A exatidão dos resultados foi avaliada por meio de ensaios de recuperação de analitos, bem como pela decomposição de um material de referência certificado (CRM NIST 8414 – *bovine muscle*), sob as mesmas condições de decomposição das amostras.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com NOVO et al. (2015), os teores de carbono dissolvidos nos digeridos após MW-UV foram baixos (< 313 mg L<sup>-1</sup>) para todas as concentrações de HNO<sub>3</sub> avaliadas (2 a 10 mol L<sup>-1</sup>), não sendo verificado um decréscimo da eficiência de digestão mesmo quando soluções ácidas mais diluídas foram avaliadas. Nesse sentido, a utilização de HNO<sub>3</sub> 2 mol L<sup>-1</sup> foi selecionada como a

mais adequada para a digestão de ração visando a posterior determinação de S e P por IC.

Embora o método já tenha sido proposto, foi realizada a avaliação da exatidão dos resultados obtidos. Primeiramente, foram realizados ensaios de recuperação e valores em torno de 98% foram obtidos para ambos analitos. Além disso, quando realizada a análise do CRM, concordâncias superiores a 94% para ambos os analitos foram obtidas. Após avaliar a exatidão do método, foi realizada a sua aplicação a diferentes rações. Assim, na Tabela 1 são apresentadas as concentrações de S e P obtidas por IC em rações destinadas a variados animais de produção, após digestão por MW-UV utilizando  $\text{HNO}_3$  2 mol  $\text{L}^{-1}$  como solução digestora.

**Tabela 1.** Concentrações de S e P em rações para animais de produção após digestão por MW-UV e posterior determinação por IC (média  $\pm$  desvio padrão, n=3).

Ração animal	S (mg $\text{kg}^{-1}$ )	P (mg $\text{kg}^{-1}$ )
Bovinos (adultos)	2730 $\pm$ 100	28357 $\pm$ 720
Bovinos (jovens desmamados)	3334 $\pm$ 101	25243 $\pm$ 869
Codornas	3563 $\pm$ 91	7217 $\pm$ 921
Coelhos	2494 $\pm$ 162	10026 $\pm$ 576
Equinos (adultos)	2259 $\pm$ 101	28240 $\pm$ 772
Equinos (jovens desmamados)	3163 $\pm$ 74	22489 $\pm$ 137
Galinhas	2978 $\pm$ 229	11284 $\pm$ 568
Ovelhas	3559 $\pm$ 260	5873 $\pm$ 145
Peixes	4601 $\pm$ 357	11548 $\pm$ 300
Porcos	3798 $\pm$ 139	9739 $\pm$ 368

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 1, é possível inferir que as concentrações de S e P nas rações variam de acordo com a espécie do animal a que se destina a ração. Essas variações podem ser explicadas pela necessidade de suplementação de cada animal, levando em consideração as diferenças fisiológicas existentes. Além disso, as elevadas concentrações de S e P nas rações podem estar associadas às adições destes elementos na forma de minerais, considerando que uma dieta inadequada pode comprometer o desenvolvimento dos animais e, em alguns casos, a produção de seus derivados (MCDOWELL, 1992). Ademais, cabe mencionar que as concentrações de S e P nas rações também variam de acordo com a sua faixa etária, como pode ser visto para as concentrações de ambos os elementos em rações para bovinos e equinos.

Com relação à concentração de P determinada na amostra de peixes utilizando o método oficial (9568  $\pm$  1322 mg  $\text{kg}^{-1}$ ), não foi observada diferença significativa (test t-Student, 95% de confiança) quando comparado com a concentração de P obtida utilizando o método proposto (11548  $\pm$  300 mg  $\text{kg}^{-1}$ ). Entretanto, no que se refere aos LODs para P obtidos em ambas as determinações, pode-se observar valores bastante superiores pelo uso do método oficial (654 mg  $\text{kg}^{-1}$ ), quando comparado ao uso de MW-UV associado a IC (3,14 mg  $\text{kg}^{-1}$ ). Isto pode estar relacionado aos elevados valores de branco, uma vez que o método oficial envolve o preparo da amostra em sistema aberto e a utilização de reagentes concentrados. Além disso, cabe salientar que, assim como para P, o LOD obtido para S utilizando o método proposto foi bastante baixo (1,04 mg  $\text{kg}^{-1}$ ) e adequado à determinação do elemento nas amostras avaliadas.

Diante do que foi mencionado, ficam evidenciadas as vantagens da utilização do método proposto, o qual configura-se como um procedimento

confiável e adequado para analisar amostras de ração animal com diferentes composições. Dessa forma, é válido enfatizar que o método pode ser uma alternativa aos métodos convencionais, os quais geralmente são morosos e utilizam elevadas quantidades de reagentes na forma concentrada.

Além disso, deve-se levar em consideração a diferença de geração de resíduos que os dois métodos avaliados apresentam, visto que enquanto o método oficial usa diversos reagentes concentrados e perigosos para o preparo e análise das amostras, o método proposto utiliza apenas ácido diluído ( $\text{HNO}_3$  2 mol  $\text{L}^{-1}$ ) para o preparo da amostra, além das soluções também diluídas que perfazem a fase móvel da cromatografia.

#### 4. CONCLUSÕES

De acordo com os diversos tipos de ração animal analisadas pelo método de MW-UV associado à IC para a determinação de S e P, pôde-se observar a adequabilidade do método para o preparo dessas amostras. Ainda, quando comparado com o método oficial, o método proposto mostrou-se como uma alternativa frente as diversas desvantagens associadas ao método oficial. Os resultados obtidos nos ensaios de avaliação da exatidão comprovaram a confiabilidade das concentrações determinadas usando o método proposto. Ademais, é importante ressaltar que a utilização desse método para a análise de rotina é relevante, principalmente, devido a elevada frequência de análise e menor geração de resíduos.

No que se refere às concentrações obtidas para S e P nas amostras avaliadas, foi possível observar uma elevada variação nas concentrações, o que, provavelmente, está associado ao fato destas rações se destinarem a animais de espécies e faixas etárias distintas e que, portanto, necessitam de um controle de quantidades efetivo.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

HARTWIG, C.A.; PEREIRA, R.M.; RONDAN, F.S.; CRUZ, S.M.; DUARTE, F.A.; FLORES, E.M.M.; MESKO, M.F. The synergic effect of microwave and ultraviolet radiation for chocolate digestion and further determination of As, Cd, Ni and Pb by ICP-MS. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, England, v.31, p.523-530, 2016.

KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. London: Academic Press, 1997.

MCDOWELL, L.R. **Minerals in Animal and Human Nutrition**. San Diego: Academic Press, 1992.

NOVO, D.L.R.; CRIZEL, M.G.; PEREIRA, R.M.; COELHO JUNIOR, G.S.; COSTA, V.C.; MESKO, M.F. Ultraviolet combined with microwave radiation for digestion of commercial animal feed and further P and S determination by IC. In: **38ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**, 38., Águas de Lindóia, 2015.

WORWITZ, W.; LATIMER, G.W. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. Gaithersburg: AOAC International, 2011.