

## **DETERMINAÇÃO DE Cl E S EM LEGUMINOSAS POR CROMATOGRAFIA DE ÍONS APÓS COMBUSTÃO INICIADA POR MICRO-ONDAS**

**FILIFE SOARES RONDAN; GILBERTO DA SILVA COELHO JUNIOR; LUAN FERREIRA PASSOS; RODRIGO MENDES PEREIRA; EDUARDA CAETANO PEIXOTO; MÁRCIA FOSTER MESKO**

*Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas –  
fsrondan@gmail.com; marciamesko@yahoo.com.br*

### **1. INTRODUÇÃO**

As leguminosas são grãos que compreendem mais de 13.000 espécies, entretanto, poucas são amplamente comercializadas, como a soja, o feijão, a ervilha, o grão-de-bico e a lentilha (ZHOU et al., 2013). Estes alimentos são conhecidos principalmente por seu elevado teor de proteínas e, desta forma, são muitas vezes consumidos juntamente com cereais a fim de fornecer os nutrientes necessários para uma dieta saudável, principalmente em países onde o consumo de carnes é difícil para pessoas de baixa renda (BROUGHTON et al., 2003).

Alguns trabalhos relatam que o consumo destes alimentos ajuda no combate e/ou prevenção de algumas doenças (SLAVIN, 2000; MONTONEN et al., 2003; SHARMA et al., 2013). Por outro lado, deve ser mencionado que durante o processo de cultivo, alguns defensivos químicos e fertilizantes são utilizados a fim de evitar perdas da produção e assim, atender a elevada demanda do consumo desses alimentos. Desta forma, a utilização desses agentes, bem como a composição do solo onde ocorre o cultivo destes alimentos podem fornecer elementos essenciais para o crescimento das plantas, e como consequência, serem repassados para os consumidores. Nesse sentido, dependendo da concentração desses elementos nos grãos, esses podem atuar de forma benéfica aos consumidores, ou de forma danosa, quando os limites máximos destas concentrações são extrapolados. Dentre os elementos que podem migrar do solo e também dos agentes químicos para os grãos, podem ser citados o cloro (Cl) e o enxofre (S) (RIBAS-FITÓ et al., 2003).

Desta forma, tendo em vista a importância deste tema, é necessário o desenvolvimento de métodos que permitam a determinação desses elementos. Nesse sentido, cabe salientar que, geralmente, é necessário que uma amostra sólida seja convertida em uma solução contendo os analitos, e que esta solução seja compatível com a técnica de determinação (KRUG; NÓBREGA, 2016). Levando em consideração que é necessário realizar uma etapa de preparo de amostra, cabe mencionar que os métodos existentes para o preparo de amostras de leguminosas visando a posterior determinação de Cl e S baseiam-se na utilização de ácidos concentrados. Entretanto, a utilização destes métodos pode acarretar na perda de halogênios e de S devido a formação de suas respectivas formas voláteis, bem como a incompatibilidade com algumas técnicas de determinação como a cromatografia de íons (IC).

Nesse sentido, a combustão iniciada por micro-ondas (MIC) pode ser uma alternativa para o preparo dessas amostras, uma vez que este método permite a eliminação total da matéria orgânica. Além disso, este método não necessita do uso de ácidos, e o procedimento é realizado em um sistema fechado. Portanto, os riscos de perdas por volatilização são minimizados e os digeridos obtidos ao final do procedimento são compatíveis com diversas técnicas de determinação, como a IC (FLORES et al., 2008). A IC trata-se de uma técnica de determinação

multielementar, que permite a determinação de Cl e S. Além disso, essa é uma técnica de baixo custo quando comparada a outras técnicas de determinação, como técnicas espectrométricas (MELLO et al., 2013).

Assim, este trabalho teve por objetivo o desenvolvimento de um método visando à determinação de Cl e S em variados tipos de leguminosas. Para isso, foi avaliada a decomposição das amostras por MIC e posterior análise dos digeridos por IC.

## 2. METODOLOGIA

As amostras de leguminosas (feijão, lentilha e soja) utilizadas neste trabalho foram produzidas no estado do Rio Grande do Sul. Para tanto, três amostras de feijão, duas amostras de lentilha e duas amostras de soja foram adquiridas. Para as avaliações iniciais, uma amostra de cada tipo de leguminosa foi selecionada aleatoriamente. Adicionalmente, para a avaliação da exatidão do método, foi utilizado um material de referência certificado (CRM) de farinha de arroz (SRM NIST 1568a). Com exceção do CRM, as demais amostras foram submetidas a um processo de moagem, o qual ocorreu em um moinho de facas. Previamente às decomposições, todas as amostras foram secas em estufa convencional a 60 °C por 4 h. Para o procedimento de decomposição por MIC, foi utilizado um forno micro-ondas (Multiwave 3000®, Anton Paar) equipado com 8 frascos de quartzo com volume de 80 mL (pressão e temperatura máximas de 80 bar e 280 °C, respectivamente).

As amostras de leguminosas foram envolvidas em filmes de polietileno e esses foram selados por aquecimento, obtendo-se invólucros. Os invólucros contendo as amostras foram dispostos em suportes de quartzo, contendo um disco de papel filtro umedecido com 50 µL de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  (6 mol L<sup>-1</sup>). Os suportes foram introduzidos em frascos de quartzo contendo 6 mL de solução absorvedora. Após, os frascos foram fechados, fixados em um rotor e pressurizados com oxigênio (20 bar). O programa de irradiação utilizado foi: i) 1400 W/5 min (etapa de combustão e refluxo); ii) 0 W/20 min (etapa de resfriamento). Posteriormente, os digeridos foram coletados e avolumados a 25 mL.

A determinação de Cl e S foi realizada em um cromatógrafo de íons (861 Advanced Compact IC, Metrohm) com detecção por condutividade. Para a separação dos analitos no sistema cromatográfico, utilizou-se uma coluna de troca aniônica composta de álcool polivinílico com grupos de amônio quaternário, com comprimento e diâmetro de 250 x 4 mm e diâmetro de partícula de 5 µm (Metrosep A Supp 5, Metrohm) e uma pré-coluna com comprimento e diâmetro de 5 x 4 mm, composta do mesmo material de preenchimento da coluna (Metrosep A Supp 5, Metrohm).

Alguns parâmetros relacionados ao procedimento de decomposição por MIC, como a massa máxima de amostra possível de ser decomposta no sistema, foram avaliados. Para tanto, massas entre 100 e 700 mg foram decompostas. Além disso, foram também avaliadas como soluções absorvedoras a  $\text{H}_2\text{O}$  e  $\text{NH}_4\text{OH}$  (25, 50 ou 100 mmol L<sup>-1</sup>) a fim de selecionar a mais adequada para a absorção de Cl e S durante a etapa de preparo de amostras.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O primeiro estudo realizado para a avaliação dos parâmetros do método proposto foi a verificação da massa de amostra máxima que poderia ser decomposta no sistema. Foi possível observar que as amostras apresentaram

comportamentos semelhantes, sendo que para as amostras de feijão e de lentilha foi possível decompor até 600 mg, enquanto que para a amostra de soja apenas 500 mg foram decompostas satisfatoriamente. Entretanto, quando avaliadas massas superiores às anteriormente citadas, foram obtidas, ao final do procedimento, soluções com aspecto amarelado, que é típico de decomposições incompletas. Assim, a massa de 500 mg foi selecionada como condição do método, uma vez que utilizando essa massa foi possível decompor eficientemente os três tipos de amostras avaliadas.

Após o estabelecimento da massa de amostra, foram avaliadas as soluções absorvedoras. Para esta avaliação, 500 mg de cada amostra foram decompostas por MIC, na presença das diferentes soluções avaliadas. A partir dos resultados, não foram observadas diferenças significativas entre as concentrações de ambos analitos, para todas as amostras avaliadas, utilizando as diferentes soluções. Assim, água ultrapura foi selecionada como condição do método. Posteriormente, foi realizada a avaliação da exatidão do método a partir de ensaios de recuperação, e recuperações de 97 a 105% foram obtidas para Cl e de 98 a 103% para S. Além disso, quando realizada a análise do SRM NIST 1568a, concordâncias de  $90 \pm 2\%$  para Cl e de  $100 \pm 4\%$  para S foram obtidas. Ainda, cabe mencionar que os limites de detecção (LODs) obtidos foram de 9,2 e 8,3 mg kg<sup>-1</sup> para Cl e S, respectivamente.

Após avaliar a exatidão, o método proposto foi aplicado a diferentes amostras. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 1.

**Tabela 1.** Concentrações de Cl e S em leguminosas, após decomposição por MIC e determinação por IC (média  $\pm$  desvio padrão, n=3).

Amostra	Concentrações (mg kg <sup>-1</sup> )	
	Cl	S
Feijão Branco	70 $\pm$ 2	1961 $\pm$ 79
Feijão Carioca	152 $\pm$ 6	2086 $\pm$ 49
Feijão Preto	194 $\pm$ 2	1875 $\pm$ 29
Lentilha 1	909 $\pm$ 22	1855 $\pm$ 114
Lentilha 2	648 $\pm$ 24	1997 $\pm$ 73
Soja 1	33 $\pm$ 2	2806 $\pm$ 160
Soja 2	49 $\pm$ 4	2944 $\pm$ 130

Com base nos resultados, pode-se verificar que foi possível a quantificação de ambos analitos nas diferentes amostras avaliadas com desvios padrões relativos (RSDs) sempre inferiores a 9%. Isso foi possível devido aos baixos LODs obtidos. Além disso, é possível verificar que para todas as amostras avaliadas as concentrações de S foram sempre superiores às de Cl. Esses resultados podem estar associados ao elevado teor de proteínas presentes em leguminosas, as quais podem conter S em sua composição. Com relação as concentrações de Cl, pode-se observar que estas variaram em uma ampla faixa para as diferentes amostras, sendo que as maiores concentrações foram observadas nas amostras de lentilha, seguidas pelas amostras de feijão. Da mesma forma, as concentrações de S variaram em uma ampla faixa, sendo que as amostras de soja apresentaram as maiores concentrações deste elemento dentre as amostras avaliadas, possivelmente devido aos maiores teores de proteínas contidos neste tipo de grão.

#### 4. CONCLUSÕES

A partir dos resultados apresentados, pode-se concluir que o uso da MIC para o preparo de amostras de leguminosas associada a determinação de Cl e S por IC foi adequada. Além disso, o método apresenta importantes características para a aplicação em análises de rotina como, por exemplo, a segurança e a elevada frequência de análise. Ademais, cabe salientar que o método pode ser considerado ambientalmente amigável, uma vez que apenas água ultrapura é utilizada para a absorção dos analitos e, conseqüentemente, ocorre uma menor geração de resíduos. Ainda, cabe mencionar que este método permitiu a obtenção de importantes informações acerca dos valores nutricionais com relação às concentrações de Cl e S em diferentes tipos de leguminosas. Assim, com base nesses valores, é possível a manutenção da dieta saudável no que diz respeito às recomendações de ingestão diária desses elementos.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BROUGHTON, W. J.; HERNÁNDEZ, G.; BLAIR, M.; BEEBE, S.; GEPTS, P.; VANDDERLEYDEN, J. Beans (*Phaseolus* spp.) – model food legumes. **Plant and Soil**, v.252, p.55-128, 2003.

FLORES, E. M. M.; MESKO, M. F.; MORAES, D. P.; PEREIRA, J. S. F.; MELLO, P. A.; BARIN, J. S.; KNAPP, G. Determination of halogens in coal after digestion using microwave-induced combustion technique. **Analytical Chemistry**, v.80, p.1865-1870, 2008.

KRUG, F. J.; NÓBREGA, J. A. A sequência analítica. In: KRUG, F. J.; ROCHA, F. R. P. **Métodos de preparo de amostras para análise elementar**. São Paulo: EditSBQ, 2016. Cap. 1, p. 17-32.

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 and Bioanalytical Chemistry**, v.405, p.7615-7642, 2013.

MONTONEN, J.; KNEKT, P.; JÄRVINEN, R.; AROMAA, A.; REUNANEN, A. Whole-grain and fiber intake and the incidence of type 2 diabetes. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.77, p.622-629, 2003.

RIBAS-FITÓ, N.; CARDO, E.; SALA, M.; MUGA, E.; MAZÓN, C.; VERDÚ, A.; KOGEVINAS, M.; GRIMALT, J. O.; SUNYER, J. Breastfeeding, exposure to organochlorine compounds, and neurodevelopment in infants. **Pediatrics**, v.111, p.e580-e585, 2003.

SHARMA, S.; SHEEHY, T.; KOLONEL, L. N. Ethnic differences in grains consumption and their contribution to intake of B-vitamins: results of the multiethnic cohort study. **Nutrition Journal**, v.12, p.1-9, 2013.

SLAVIN, J. Mechanisms for the impact of whole grain foods on cancer risk. **Journal of the American College Nutrition**, v.19, p.300S-307S, 2000.

ZHOU, K.; SLAVIN, M.; LUTTERODT, H.; WHENT, M.; ESKIN, N. A. M.; YU, L. Cereals and legumes. In: ESKIN, N. A. M.; SHAHIDI, F. **Biochemistry of foods**. London: Academic Press, 2013. Cap. 1, p. 3 – 48.