

## DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO PARA A DETERMINAÇÃO DE IODO EM SUPLEMENTOS DIETÉTICOS POR CROMATOGRAFIA DE ÍONS APÓS PREPARO DA AMOSTRA POR COMBUSTÃO INICIADA POR MICRO-ONDAS

NATÁLIA JORGE BIELEMANN; RODRIGO MENDES PEREIRA; JANAÍNA DO ROSÁRIO BRUM; VANIZE CALDEIRA DA COSTA; CARLA DE ANDRADE HARTWIG; MÁRCIA FOSTER MESKO

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

### 1. INTRODUÇÃO

O iodo (I), elemento pertencente à família dos halogênios, é essencial para os seres humanos, principalmente por ser um constituinte fundamental para a síntese dos hormônios tireoidianos (tiroxina e triiodotironina), os quais são responsáveis por regular o metabolismo e desenvolver vários órgãos do corpo humano (RESTANI *et al.*, 2008). Alguns estudos na literatura mostram que a deficiência de I pode resultar em doenças como o hipotireoidismo e o bócio, além de, em alguns casos, ocasionar atraso mental, cretinismo e aumento da mortalidade infantil. Nesse sentido, a organização mundial da saúde recomenda a ingestão de I de no mínimo  $90 \mu\text{g dia}^{-1}$  para crianças,  $150 \mu\text{g dia}^{-1}$  para adultos,  $220 \mu\text{g dia}^{-1}$  para gestantes e  $290 \mu\text{g dia}^{-1}$  para lactantes (WHO, 2007). A adição de I no sal de cozinha foi uma estratégia adotada no Brasil em meados de 1950 tendo em vista a necessidade de ingestão desse elemento e a escassez de alimentos ricos em I que fossem de fácil acesso à população (ZIMMERMANN, *et al.*, 2008).

Apesar disso, a deficiência de I ainda é um problema de saúde pública, principalmente devido aos hábitos alimentares da população. Uma alternativa que tem sido comumente utilizada para suprir a deficiência de I é o consumo de suplementos dietéticos, uma vez que estes podem ser facilmente adquiridos no comércio sem prescrição médica. Nesse sentido, é de suma importância o desenvolvimento de métodos analíticos adequados que permitam avaliar a qualidade desses produtos, bem como, se os valores nutricionais indicados nos rótulos não apresentam erros. Essas informações são extremamente relevantes, tendo em vista que podem garantir a segurança alimentar e a eficácia do produto.

Dentre as técnicas empregadas para a determinação de I, a cromatografia de íons (IC) tem se destacado por apresentar boa sensibilidade e capacidade de determinação multielementar. Além disso, apresenta baixo custo quando comparada à outras técnicas comumente utilizadas para esta finalidade (LOPEZ-RUIZ, 2000). Apesar disso, a IC, assim como a maioria das técnicas de determinação, requer a conversão da amostra sólida em uma solução compatível e livre de possíveis interferentes. Essa etapa, denominada de preparo de amostras, é considerada a mais difícil dentro da sequência analítica, principalmente quando se almeja a determinação de halogênios, como o I. Quando se visa a determinação de halogênios, o uso de soluções ácidas, que é comum na etapa de preparo de amostra, deve ser evitado pois em meio ácido estes elementos podem ser convertidos em espécies voláteis, culminando em resultados inexatos (NÓBREGA *et al.*, 2006). No entanto, o uso de técnicas de combustão em sistema fechado, como a combustão iniciada por micro-ondas (MIC), é uma alternativa para o preparo de amostra visando à determinação de halogênios. Isso se deve, principalmente, a possibilidade de escolha de uma solução absorvedora compatível com as características dos analitos e da técnica de determinação (MESKO *et al.*, 2016).

Assim, este trabalho teve por objetivo o desenvolvimento de um novo método analítico visando à determinação de I em suplementos dietéticos por IC após preparo da amostra por MIC.

## 2. METODOLOGIA

Um suplemento dietético (mineral) indicado para suplementação de I e produzido na cidade de Palhoça/SC foi selecionado para o desenvolvimento do método. Esse produto, comercializado na forma sólida, teve seu conteúdo retirado das cápsulas, homogeneizado, seco em estufa a 60 °C por 4 h e, posteriormente, armazenado em frascos de polipropileno previamente descontaminados.

Para o preparo da amostra por MIC, utilizou-se um forno micro-ondas (Multiwave 3000®, Anton Paar) equipado com 8 frascos de quartzo. Além disso, para a introdução da amostra no sistema de decomposição, esta foi envolvida em filmes de polietileno (com dimensões de 8 x 8 cm<sup>2</sup>), os quais foram selados por aquecimento. Após, os invólucros contendo a amostra foram dispostos na base de um suporte de quartzo, o qual continha um disco de papel filtro umedecido com 50 µL de uma solução de NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> 6 mol L<sup>-1</sup>. Os suportes foram inseridos em frascos de quartzo, contendo 6 mL de solução absorvedora (H<sub>2</sub>O ou soluções de (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> ou NH<sub>4</sub>OH nas concentrações de 25, 50, 100 ou 200 mmol L<sup>-1</sup>). Em seguida, os frascos foram fechados, fixados a um rotor, pressurizados com 20 bar de O<sub>2</sub> por 50 s e submetidos ao seguinte programa de irradiação com micro-ondas: *i*) 1400 W por 50 s; *ii*) 0 W por 1 min; *iii*) 1400 W por 5 min e *iv*) 0 W por 20 min.

As soluções resultantes foram transferidas para balões volumétricos de 25 mL, os quais foram aferidos com água ultrapura e, por fim, as soluções foram armazenadas em frascos de polipropileno. A determinação de I foi realizada em um cromatógrafo (IC 861 Advanced Compact, Metrohm) equipado com um sistema de supressão química e detecção por condutividade, coluna aniônica (Metrosep A Supp5, Metrohm) com 250 mm de comprimento e 4 mm de diâmetro interno e alça de amostragem de 20 µL. Soluções constituídas de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 3 mmol L<sup>-1</sup> e NaHCO<sub>3</sub> 1 mmol L<sup>-1</sup>, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 6 mmol L<sup>-1</sup> e NaHCO<sub>3</sub> 2 mmol L<sup>-1</sup> ou Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 9 mmol L<sup>-1</sup> e NaHCO<sub>3</sub> 3 mmol L<sup>-1</sup> foram avaliadas como eluente. Além disso, o uso de um modificador químico no eluente também foi avaliado. Esses estudos foram realizadas a partir da injeção de uma solução padrão de I preparado em meio aquoso na concentração de 1 mg L<sup>-1</sup>.

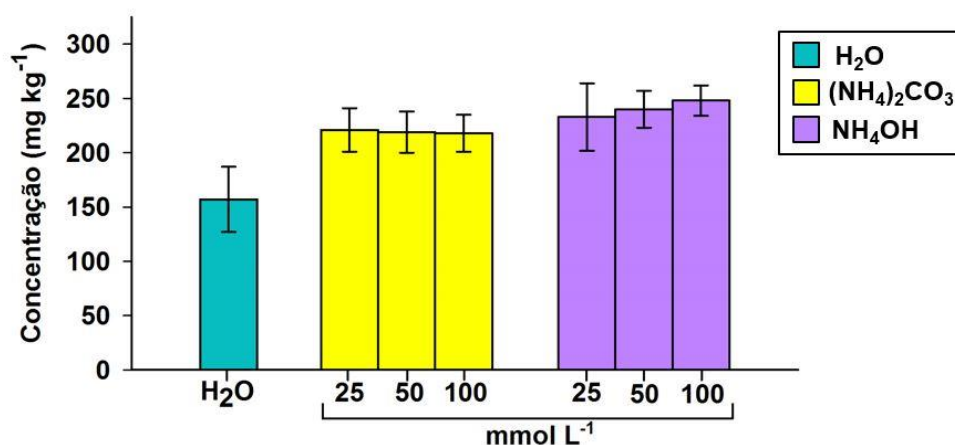
Por fim, a exatidão do método proposto foi avaliada através de ensaios de recuperação em dois níveis de concentração (50 e 75% da concentração de I presente na amostra), os quais foram realizados pela adição de uma solução padrão de I na amostra, previamente a MIC.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inicialmente, visando a redução do tempo de análise por IC, soluções contendo Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> e NaHCO<sub>3</sub> foram avaliadas como eluente. É importante destacar que a solução contendo Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (3 mmol L<sup>-1</sup>) e NaHCO<sub>3</sub> (1 mmol L<sup>-1</sup>) é recomendada pelo fabricante para a determinação de halogênios. No entanto, o uso dessa solução resultou em um elevado tempo para a determinação de I (~45 min). Por outro lado, quando a solução contendo Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (9 mmol L<sup>-1</sup>) e NaHCO<sub>3</sub> (3 mmol L<sup>-1</sup>) foi utilizada, o tempo de retenção do I foi consideravelmente inferior (~25 min). Apesar disso, o uso desse eluente resultou em uma linha base instável, sendo considerada inadequada para análise. Por sua vez, quando o eluente composto por Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (6 mmol L<sup>-1</sup>) e NaHCO<sub>3</sub> (2 mmol L<sup>-1</sup>) foi utilizado, o tempo de retenção para I foi de aproximadamente 30 min. Além disso, utilizando este eluente também foi possível

observar uma linha base estável ao longo da análise, bem como uma boa resolução do pico cromatográfico. Assim, este foi selecionado para os estudos subsequentes, os quais foram realizados visando reduzir ainda mais o tempo de retenção para I, e envolveram o preparo do eluente em meio de acetonitrila 10% (v/v). Esse solvente orgânico foi utilizado como um modificador químico, pois, de acordo com a literatura, poderia facilitar a eluição de analitos que apresentam uma forte interação com os sítios de troca iônica da coluna cromatográfica (FRANCO, 2015). A partir do uso de acetonitrila como modificador químico, o tempo de retenção para I foi de 24 min, o que representa uma redução de aproximadamente 50% no tempo de análise quando comparado ao uso do eluente recomendado pelo fabricante para a determinação de halogênios. Dessa forma, uma solução contendo  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (6 mmol  $\text{L}^{-1}$ ) e  $\text{NaHCO}_3$  (2 mmol  $\text{L}^{-1}$ ) em meio de acetonitrila 10% (v/v) foi selecionada como eluente para a determinação de I por IC.

Posteriormente, a MIC foi avaliada para o preparo de suplementos dietéticos visando à posterior determinação de I por IC. Em um primeiro momento, a massa de amostra a ser decomposta por MIC foi avaliada. Assim, observou-se, com base no aspecto da solução resultante, que até 800 mg de amostra podem ser decompostas satisfatoriamente, resultando em soluções incolores e sem a presença de resíduos. Assim, a massa de 800 mg foi selecionada para as avaliações posteriores. Após o estabelecimento da massa de amostra, realizou-se a avaliação da solução mais adequada para absorção do analito e, os resultados obtidos estão apresentados na Figura 1.



**Figura 1.** Concentrações de I obtidas por IC após a decomposição de 800 mg de suplemento dietético por MIC utilizando água ou soluções de  $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$  ou  $\text{NH}_4\text{OH}$  nas concentrações de 25, 50 e 100 mmol  $\text{L}^{-1}$  (n= 3).

Com base nos resultados apresentados na Figura 1, pode ser observado que a concentração de I foi menor (cerca de 37%) quando água foi utilizada como solução absorvedora. Isso está de acordo com outros estudos relatados na literatura que também verificaram que a água é, geralmente, ineficiente para a absorção de I (MESKO *et al.*, 2016). Além disso, os resultados obtidos utilizando essa condição apresentaram um desvio padrão relativo (RSD) elevado (19,1%). Por outro lado, não foram observadas diferenças significativas na concentração de I quando soluções de  $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$  ou  $\text{NH}_4\text{OH}$  nas concentrações de 25, 50 e 100 mmol  $\text{L}^{-1}$  foram utilizadas. No entanto, a solução de  $\text{NH}_4\text{OH}$  100 mmol  $\text{L}^{-1}$  foi escolhida como solução absorvedora mais adequada uma vez que apresentou o menor RSD (5,6%), bem como em função da possível variação nas concentrações de I neste tipo de amostra. Contudo, durante a avaliação da exatidão do método, as recuperações para I nesta

condição foram sempre inferiores a 70%. Isso provavelmente ocorreu pelo fato da solução absorvedora escolhida não ser adequada para absorção do I proveniente da amostra e da solução adicionada. Assim, foi avaliado o uso de uma solução com maior concentração ( $\text{NH}_4\text{OH}$  200 mmol  $\text{L}^{-1}$ ), sendo que para esta condição, a concentração de I obtida ( $244 \pm 20 \text{ mg kg}^{-1}$ ) não apresentou diferenças significativas das observadas para as outras soluções alcalinas avaliadas. Ademais, recuperações adequadas foram obtidas nessa condição, as quais variaram de 94 a 106%. Ainda, vale ressaltar que os RSDs foram sempre inferiores a 8% e os limites de detecção e quantificação foram de 2,2  $\text{mg kg}^{-1}$  e 5,2  $\text{mg kg}^{-1}$ , respectivamente.

#### 4. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste estudo demonstram que o método apresentou boa precisão e exatidão. Apesar disso, a análise de um CRM com matriz similar também será realizada posteriormente para comprovar a exatidão do método bem como a determinação por outra técnica. É importante destacar que o método requer o uso de apenas 6 mL de uma solução diluída de  $\text{NH}_4\text{OH}$  para a absorção de I, contribuindo consideravelmente para a redução do uso de reagentes concentrados bem como da geração de resíduos. Além disso, a MIC associada a IC apresenta grande potencial como ferramenta analítica no controle de qualidade de suplementos dietéticos. Por fim, pretende-se aplicar o método para diferentes suplementos dietéticos contendo I com o intuito de verificar o seu potencial de aplicação e evidenciar a importância do método proposto neste trabalho.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

FRANCO, M. S. **Utilização de técnicas compatíveis com o conceito de química verde na determinação de micropoluentes orgânicos em matrizes ambientais**. 2015. Tese (Doutorado em Química) – Curso de Pós-Graduação em Química, Universidade de São Paulo.

LOPEZ-RUIZ, B. Review Advances in the determination of inorganic anions by ion chromatography. **Journal of Chromatography A**, v.881, p.607–627, 2000.

MESKO, M. F.; COSTA, V. C., PICOLATO, R. S., BIZZI, C. A., MELLO, P. A. Halogen determination in food and biological materials using plasma-based techniques: challenges and trends of sample preparation. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 31, n. 6, p. 1243-1261, 2016.

NÓBREGA, J. A.; SANTOS, M. C.; SOUSA, R. A.; CADORE, S.; BARNES, R. M.; TATRO, M. Sample preparation in alkaline media. **Spectrochimica Acta Part B**, v.61, p.465-495, 2006.

RESTANI, P.; PERSICO, A.; BALLABIO, C.; MORO, E.; FUGGETTA, D.; COLOMBO, M. L. Analysis of food supplements containing iodine: a survey of Italian market. **Clinical Toxicology**, v. 46, n. 4, p. 282 – 286, 2008.

WHO. Assessment of iodine deficiency disorders and monitoring their elimination. Acessado em 19 set. 2017. Online. Disponível em: [http://www.who.int/nutrition/publications/micronutrients/iodine\\_deficiency/9789241595827/en/](http://www.who.int/nutrition/publications/micronutrients/iodine_deficiency/9789241595827/en/)

ZIMMERMANN, M. B.; JOOSTE, P. L.; PANDAV, C. S. Iodine-deficiency disorders. **The Lancet**, v.372, n.9645, p. 1251-1262, 2008.