

DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO TOTAL E DA BIOACESSIBILIDADE DE Cu, Mn, Pb E Zn EM AMORA POR MIP OES

ANA CARLA SPECHT BOEIRA¹; CAMILA CORRÊA PEREIRA²; ALEXANDER OSSANES DE SOUZA²; ANDERSON SCHWINGEL RIBEIRO³

¹Universidade Federal de Pelotas, Bacharelado em Química – ana_sboeira@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas, LabMeQui/CCQFA – camila.cpereira@hotmail.com;
alexander.souza@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas, LabMeQui/CCQFA – andersonsr@pq.cnpq.br

1. INTRODUÇÃO

O Brasil apresenta uma diversidade de solos e climas, o que possibilita a produção de uma grande variedade de espécies de frutas. Dessa forma, o país se classifica como o terceiro maior produtor mundial destes alimentos (FACHINELLO *et al.*, 2008).

A elevada demanda de frutas está relacionada com sua importância nutricional visto que fornecem vitaminas, minerais e fibras essenciais para a alimentação do ser humano (PEREIRA *et al.*, 2016). Porém, muitos elementos essenciais e potencialmente tóxicos podem estar presentes no solo em elevadas concentrações devido às atividades antropogênicas como, por exemplo, o uso de fertilizantes e o descarte de resíduos industriais. Com isso, esses fatores podem contaminar o solo e, conseqüentemente, as plantas podem absorver os metais através de suas raízes, levando até o fruto, causando sua acumulação (LIMA *et al.*, 2013).

Com isso, torna-se evidente a preocupação dos pesquisadores em quantificar os metais essenciais e potencialmente tóxicos, levando em consideração as concentrações totais e a fração bioacessível, já que a quantidade ingerida difere da concentração absorvida pelo organismo. Além disso, o avanço no desenvolvimento de técnicas analíticas mais sensíveis e precisas permite uma quantificação de elementos a nível traço, fornecendo melhores resultados (MINEKUS *et al.*, 2014).

Dentre as técnicas utilizadas para a determinação de metais presentes nas frutas, a espectroscopia de emissão óptica com plasma induzido por micro-ondas (MIP OES) tem se destacado por apresentar um menor custo operacional e possuir sensibilidade adequada para as análises químicas, além de ser uma técnica multielementar (DIB, 2016).

Com o aumento do consumo mundial de frutas e de sucos naturais tem-se uma maior preocupação com a qualidade dos frutos produzidos. Sendo assim, esse trabalho tem como objetivo o desenvolvimento de uma metodologia para o preparo das amostras de amora e posterior determinação da concentração total e da fração bioacessível de Cu, Mn, Pb e Zn por MIP OES utilizando sistema *multimode* para introdução da amostra no plasma.

2. METODOLOGIA

Foram utilizadas amostras de amora fornecidas pela Embrapa Clima Temperado - RS. Para a decomposição ácida das amostras, pesou-se aproximadamente 3,3 g de amostra e foram adicionados 5,0 mL de HNO₃ concentrado diretamente nos tubos de digestão. Logo após, foi acoplado um sistema de refluxo (com recirculação de água a 15 °C) e a mistura foi colocada no bloco

digestor aquecido a 200 °C por 2 h. Após esse tempo, foi adicionado 1,0 mL de H₂O₂ e as soluções retornaram ao aquecimento por mais 1h com o aquecimento a 150 °C. Após o resfriamento das amostras à temperatura ambiente, a solução resultante foi transferida para frascos volumétricos e o volume foi completado a 20 mL com água desionizada. A exatidão do método para as concentrações totais foram verificadas utilizando a técnica de adição de analito em três níveis de concentrações.

Foi utilizado um MIP OES da Agilent Technologies, equipado com uma câmara de introdução de amostra *multimode* (MSIS), que alia a geração química de vapor e a nebulização pneumática de soluções líquida. Para a geração química de vapor, foram utilizadas soluções de NaBH₄ 0,5 % (m/v) estabilizada em meio de NaOH 0,5 % (m/v) e para as soluções resultantes da mineralização das amostras, foram acidificadas com HCl a 2 % (v/v).

Para estudos de bioacessibilidade, o procedimento foi adaptado de Minekus *et al.* (2014). O método consiste na simulação do sistema digestivo humano, considerando três etapas: boca, estômago e intestino, para as quais são utilizados fluidos sintéticos. Primeiramente pesou-se aproximadamente 5,0 g de amora. Na primeira etapa foram adicionados 4,0 mL de saliva e 1,0 mL de CaCl₂ 7,5 mmol L⁻¹ às amostras, o pH foi ajustado a 7,0 com adição de NaOH 1,0 mol L⁻¹, as quais foram posteriormente encaminhadas ao banho *Dubnoff* com agitação e aquecimento, a 37 °C, por 10 min.

Já na segunda etapa foram adicionados 9,1 mL de suco gástrico, 700 µL de CaCl₂ 2 mmol L⁻¹ e o pH final da solução foi ajustado para 3, com adição de HCl 1 mol L⁻¹, sendo novamente encaminhadas ao banho com agitação e aquecimento a 37 °C, por 2 h. Na terceira etapa adicionou-se 18,5 mL de suco intestinal, 1,35 mL de CaCl₂ 9 mmol L⁻¹ e o pH foi ajustado para 7,0 com adição de NaOH 1,0 mol L⁻¹, as quais foram encaminhados ao banho com agitação e aquecimento a 37 °C, por 2 h. Ao final, as amostras foram colocadas em banho de gelo por 20 min e logo após foram centrifugadas a 10.000 rpm durante 20 min para separação da parte sólida (fração não bioacessível) e retirada do sobrenadante (fração bioacessível), que foi utilizado para a determinação dos analitos por MIP OES.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os parâmetros de mérito obtidos para a determinação da concentração total dos analitos em amostras de amora estão apresentados na Tabela 1. Já os parâmetros de mérito para determinação da concentração dos analitos para a fração bioacessível estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 1. Parâmetros de mérito para a concentração total obtido por MIP OES.

Analito	Faixa Linear	a	R ²	LD _(m) (mg kg ⁻¹)	LQ _(m) (mg kg ⁻¹)
Cu	25 - 200 µg L ⁻¹	250 (L µg ⁻¹)	0,999	0,0043	0,0144
Mn	0,1 – 5 mg L ⁻¹	73.500 (L mg ⁻¹)	0,999	0,0024	0,0081
Pb	25 - 200 µg L ⁻¹	9,24 (L µg ⁻¹)	0,999	0,0316	0,1054
Zn	0,1 - 5 mg L ⁻¹	23.438 (L mg ⁻¹)	0,999	0,0538	0,1794

LD_(m): Limite de detecção do método; LQ_(m): Limite de quantificação do método.

Tabela 2. Parâmetros de mérito para a concentração da fração bioacessível obtidos por MIP OES.

Analito	Faixa Linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)	a ($\text{L } \mu\text{g}^{-1}$)	R^2	$\text{LD}_{(m)}$ (mg kg^{-1})	$\text{LQ}_{(m)}$ (mg kg^{-1})
Cu	25 - 200	237	0,998	0,0194	0,0647
Mn	25 - 200	64	0,999	0,0092	0,0306
Pb	25 - 200	7,61	0,999	0,0471	0,1571
Zn	25 - 200	21,95	0,994	0,0505	0,1683

$\text{LD}_{(m)}$: Limite de detecção do método; $\text{LQ}_{(m)}$: Limite de quantificação do método.

Avaliando-se os dados obtidos, pode-se observar que as curvas de calibração apresentaram boa linearidade, com coeficientes de correlação linear satisfatórios ($R^2 \geq 0,99$). A metodologia foi validada utilizando a técnica de adição de analitos e os resultados obtidos estão expressos na Tabela 3. Observa-se através dos resultados que se obteve uma boa recuperação dos analitos adicionados na faixa de 87 a 131%. Além disso, foi possível verificar uma boa reprodutibilidade dos resultados, já que em média os valores de desvio padrão relativos (RSD) obtidos para todos analitos estudados foram inferiores a 5,0 %, garantindo assim, a confiabilidade dos resultados.

Tabela 3. Concentração total para a amostra de amora. Resultados expressos em mg kg^{-1} . (n=3)

Analitos	Adição	Amora	Recuperação (%)
Cu	0	$0,994 \pm 0,028$	-
	0,6	$1,69 \pm 0,06$	116
	1,2	$2,04 \pm 0,02$	87
	1,8	$3,09 \pm 0,04$	116
Mn	0	$18,9 \pm 0,08$	-
	9	$29,6 \pm 0,86$	119
	18	$40,0 \pm 0,5$	117
	27	$51,2 \pm 2,4$	120
Pb	0	$0,257 \pm 0,007$	-
	0,6	$0,855 \pm 0,009$	100
	1,2	$1,65 \pm 0,05$	118
	1,8	$2,61 \pm 0,01$	131
Zn	0	$1,88 \pm 0,09$	-
	9	$11,7 \pm 0,5$	109
	18	$21,6 \pm 0,2$	109
	27	$33,4 \pm 1,4$	117

*média \pm desvio padrão

Em relação aos resultados referentes à bioacessibilidade, apenas o Cu e Mn apresentaram valores de porcentagem bioacessível (26 e 24 %, respectivamente), que é em relação à concentração total, assim é possível observar quanto desses analitos estão sendo liberados da amostra para ser absorvido pelo organismo. Já para o Zn e para o Pb as concentrações bioacessíveis ficaram inferiores ao $\text{LD}_{(m)}$, demonstrando que estes analitos não apresentam riscos de contaminação para o ser humano.

Considerando o limite recomendado de ingestão diária para Cu, Zn e Mn, as concentrações são: 0,86, 9 e 2 mg, respectivamente (PEREIRA *et al.*, 2016).

Relacionando as concentrações determinadas com o consumo recomendado pela OECD (2015), que é de 100 g de frutas e legumes, as concentrações ficaram abaixo do limite de ingestão recomendado.

4. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos, o método de decomposição ácida com sistema de refluxo para determinação de Cu, Mn, Pb e Zn mostrou-se adequado para quantificação da concentração total desses analitos em amostras de amora por MIP OES. Em relação à concentração bioacessível, os valores ficaram abaixo dos limites de ingestão diária recomendada para os analitos essenciais. Contudo, Pb não apresentou concentrações bioacessíveis, demonstrando assim, que não haveria risco ao ser humano. Com esse trabalho, é possível observar que a amora é importante para uma dieta saudável, uma vez que, ela contribui para ingestão de alguns elementos essenciais.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

DIB, S.R. Determinação de metais por técnicas espectroanalíticas em amostras de carne e sangue de bovinos submetidos à dieta com adição de erva-mate (*Ilex paraguariensis*, St. Hilaire). 2016. Dissertação (Mestrado em Química) - Curso de pós-graduação em Química, Universidade Federal de São Carlos.

FACHINELLO, J.C; NACHTIGAL, J.C.; KERSTEN, E. **Fruticultura Fundamentos e práticas**. Pelotas: UFPEL, 2008.

LIMA, F.S.; NASCIMENTO, C.W.A.; ACCIOLY, A.M.A.; SOUZA, C.S.; FILHO, F.F.C. Bioconcentração de chumbo e micronutrientes em hortaliças cultivadas em solo contaminado. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v.44, n.2, p.234-241, 2013.

MINEKUS, M. et al. A standardised static in vitro digestion method suitable for food - an international consensus. **Food & Function**, v.5, p.1113-1124, 2014.

OECD/FAO (Organisation for Economic Co-operation and Development/Food and Agriculture Organization of the United Nations). **OECD-FAO Agricultural Outlook 2015**. OECD Publishing, Paris, France, 2015.

PEREIRA, C.C.; DO NASCIMENTO DA SILVA, E.; SOUZA, A.O.; VIEIRA, M.A.; RIBEIRO, A.S. & CADORE, S. Evaluation of the bioaccessibility of minerals from blackberries, raspberries, blueberries and strawberries. **Journal of Food Composition and Analysis**, Article in Press, 2016.