



DETERMINAÇÃO DE HALOGÊNIOS E ENXOFRE POR CROMATOGRAFIA DE ÍONS COM ESPECTROMETRIA DE MASSAS EM OVO EM PÓ E SUAS FRAÇÕES APÓS COMBUSTÃO INICIADA POR MICRO-ONDAS

CLEITON JESUS ANDRADE PEREIRA; PRISCILA TESSMER SCAGLIONI,
DIOGO LA ROSA NOVO, FILIPE SOARES RONDAN; MÁRCIA FOSTER MESKO

*Universidade Federal de Pelotas – andradec556@gmail.com; priscilascaglioni@gmail.com;
diogo.la.rosa@hotmail.com; fsrondan@gmail.com; marciamesko@yahoo.com.br*

1. INTRODUÇÃO

O ovo é um alimento de baixo custo, fácil obtenção e consumido mundialmente, representando uma rica fonte de proteínas e compostos lipossolúveis, o que o torna interessante para pessoas de todas as idades (MIRANDA, 2015). Com a dinâmica da vida contemporânea, alternativas têm sido utilizadas para a inclusão de ovos na dieta, como os ovos pasteurizados e/ou desidratados, tendo em vista a viabilidade de armazenamento e manipulação quando comparados com os ovos *in natura* (MIRANDA, 2015).

Apesar da composição majoritária do ovo ser conhecida, estudos que avaliam a composição elementar desta matriz alimentícia ainda são escassos na literatura. Dentre os elementos, os halogênios e o enxofre exercem atividades importantes e distintas no metabolismo humano. O flúor, presente na saliva e no plasma sanguíneo, apresenta papel importante na produção de tecidos duros, como ossos e tecidos dentários (GARCÍA-BELLÉS et al., 2016). O cloro auxilia no equilíbrio ácido-básico do sangue, no transporte de glicose em nível celular e regulação da pressão osmótica (ARAÚJO et al., 2008). O enxofre está presente na composição da maioria das enzimas e tem papel fundamental na síntese de lipídios, carboidratos, proteínas e certas vitaminas (ARAÚJO et al. 2008). O iodo é responsável pela síntese dos hormônios da glândula tireoide (T_3 e T_4) e age como regulador do metabolismo celular e basal, da temperatura corporal e é crucial para um bom desenvolvimento dos órgãos (ZIMMERMANN, 2009). O bromo, por sua vez, tem funções no sistema imune e na produção de colágeno (KOHLMEIER, 2003). Vale salientar que concentrações inadequadas de halogênios e de enxofre, no organismo, podem levar a diversos problemas fisiológicos (ARAÚJO et al., 2008, ZIMMERMANN, 2009, KOHLMEIER, 2003).

A determinação de halogênios e de enxofre em ovo integral em pó e suas frações se mostra de alta relevância em diversas áreas. Entretanto, a determinação destes elementos representa um desafio analítico, pois eles podem ser perdidos na forma de espécies voláteis durante a etapa de preparo de amostras. A utilização de soluções alcalinas diluídas e sistemas fechados tem se mostrado de grande utilidade para essa finalidade (NÓBREGA et al., 2006). A combustão iniciada por micro-ondas (MIC) surge dentre as alternativas como uma opção satisfatória, tendo em vista a possibilidade da escolha da solução absorvedora adequada aos analitos, minimizando perdas de analitos por volatilização e possibilitando uma eficiente decomposição da amostra em sistema fechado e a compatibilidade da solução final com diferentes técnicas de determinação (MESKO, et al., 2019). Dentre as ferramentas analíticas, a cromatografia de íons (IC) é uma alternativa consolidada para determinação de ânions em uma grande variedade de amostras, por sua capacidade de determinação multielementar, boa sensibilidade e seletividade



(MELLO et al., 2013). Além disso, o acoplamento da espectrometria de massas com a cromatografia de íons (IC-MS) surge como uma possibilidade para melhorar a capacidade de detecção da técnica para alguns elementos (MESKO et al., 2019).

Assim, esse trabalho teve como objetivo otimizar alguns parâmetros da MIC para a posterior determinação de halogênios e enxofre em ovo integral em pó, bem como clara e gema em pó, por IC-MS.

2. METODOLOGIA

Neste estudo, foram utilizadas amostras pasteurizadas e desidratadas de ovo galináceo e suas frações (clara e gema), e estas foram adquiridas no comércio local da cidade de Pelotas/RS. O pré-tratamento das amostras no laboratório consistiu em secagem em estufa a 50 °C por 15 horas e, posterior armazenamento em tubos de polipropileno previamente descontaminados.

A etapa de preparo de amostras foi baseada no método proposto por TORALLES et al. (2016). Para isso, 300 mg de amostra foram envolvidos em filmes de polietileno, no formato de invólucros e então, selados por aquecimento. Os invólucros, previamente selados, foram colocados em suportes de quartzo contendo um disco de papel filtro previamente umedecido com 50 µL de uma solução ignitora de nitrato de amônio (NH_4NO_3 , 6 mol L⁻¹). Os suportes foram inseridos nos frascos de quartzo, que continham 6 mL de uma solução utilizada para absorver os analitos. Neste estudo, foram avaliadas as soluções de hidróxido de amônio (NH_4OH) nas concentrações de 25, 50, 100 e 150 mmol L⁻¹. A solução absorvedora foi avaliada através de ensaios de recuperação - adição de 50% para Br e I na amostra escolhida para otimização do método, 25% para Cl e S e 2 vezes o limite de quantificação (LOQ) para F. Os frascos foram fechados, fixados em um rotor, pressurizados com 20 bar de O₂ e levados ao forno micro-ondas com o seguinte programa de irradiação: i) 1400 W por 5 min (etapa de combustão e refluxo) e ii) 0 W por 20 min (etapa de resfriamento). As soluções obtidas foram aferidas à 25 mL com água ultrapura e armazenadas em frascos de polipropileno para posterior análise. O forno de micro-ondas utilizado foi o Multiwave 3000® (Anton Paar, Áustria), com capacidade para 8 frascos de quartzo com volume de 80 mL, pressão máxima de 80 bar e temperatura máxima de 280 °C.

A determinação de Cl, F e S foi realizada em um cromatógrafo de íons (ICS-5000, Dionex/Thermo Fisher Scientific, USA) equipado com supressora de ânions eletroliticamente regenerada (Dionex ERS 500) e detecção por condutividade. A detecção de Br e I foi realizada através do acoplamento do cromatógrafo com um espectrômetro de massa com ionização por *electrospray* (MSQ Plus Single Quadrupole Mass Spectrometer, Thermo Fisher Scientific). Os analitos foram determinados em única corrida cromatográfica pela integração da área dos picos correspondentes. Os resultados foram obtidos através do software Chromeleon 7.0 (Thermo Fisher Scientific). O gradiente de eluição e as condições do detector de massas foram utilizadas conforme MESKO et al. (2019).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com o intuito de escolher a solução absorvedora mais adequada para halogênios e enxofre, foram realizados os ensaios de recuperação conforme descrito no item anterior. Os resultados estão dispostos na Figura 1.

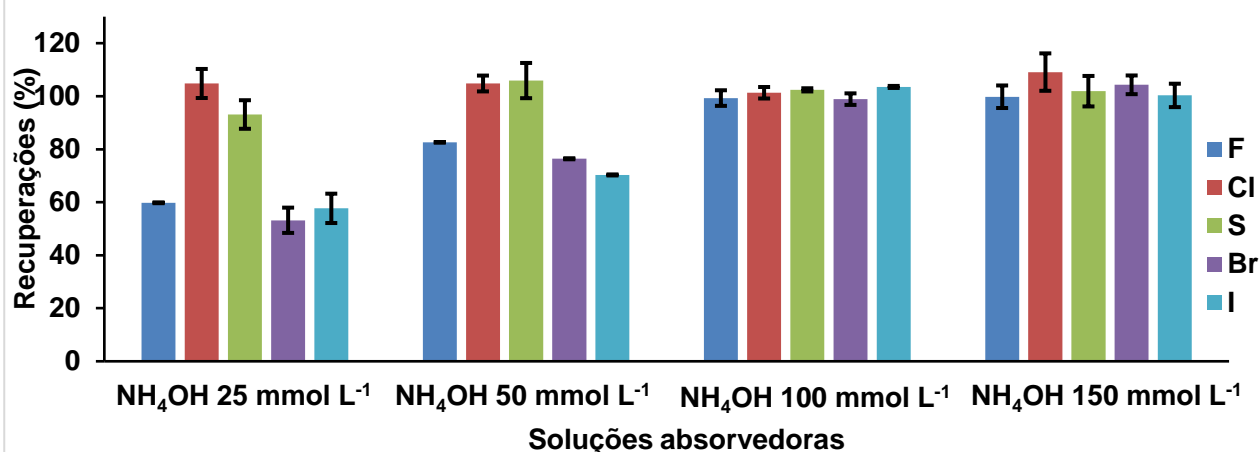


Figura 1. Recuperações (%) dos analitos determinados por IC-MS após MIC utilizando diferentes concentrações de NH₄OH como solução absorvedora (n=3).

A solução escolhida foi a de NH₄OH 100 mmol L⁻¹, tendo em vista que seu uso resultou em recuperações que variaram de 99 a 103% e desvios padrão relativos (RSD) inferiores a 6%. Este resultado está de acordo com os estudos de TORALLES et al. (2016), que utilizou a MIC como preparo de amostras de ovo em pó para a determinação apenas de Br e I por espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS). Por outro lado, no presente trabalho, a utilização da IC-MS possibilitou a determinação de F, Cl, Br, I e S em uma única análise. Os LOQs utilizando o método proposto foram de 10 mg kg⁻¹ para F; 29 mg kg⁻¹ para Cl; 7 mg kg⁻¹ para S; 4 mg kg⁻¹ para Br e 0,15 mg kg⁻¹ para I. Após as otimizações do método, foi realizada a sua aplicação para a análise de diferentes frações do ovo. Os resultados obtidos estão expressos na Tabela 1.

Tabela 1. Concentrações de F, Cl, S, Br e I determinadas por IC-MS em ovo em pó e suas frações (clara e gema) após decomposição por MIC utilizando NH₄OH 100 mmol L⁻¹ como solução absorvedora (n=3)

Amostra	Concentração ± desvio padrão (mg kg ⁻¹)				
	Flúor	Cloro	Enxofre	Bromo	Iodo
Ovo	30±3	7136±20	6954±90,2	<LOQ	1,05±0,1
Clara	<LOQ	15140±432	14763±370	17±2	0,27±0,04
Gema	<LOQ	3903±283	3731±203	<LOQ	0,94±0,02

Como pode ser observado na Tabela 1, a concentração de F foi determinada na amostra de ovo integral, fato que enfatiza a capacidade multielementar do método proposto, tendo em vista a dificuldade de determinação deste elemento. As concentrações de Cl e S variaram amplamente entre as diferentes frações do ovo e esses minerais estão predominantemente concentrados na clara em relação à gema. A concentração de Br foi determinada com êxito na amostra de clara desidratada enquanto que a concentração de I foi determinada em todas as amostras. Assim como Cl e S, é visível que Br está preponderantemente



concentrado na clara em relação à gema, o que não é observado para a concentração de I. Essa relação está de acordo como que foi reportado por TORALLES et al. (2016). Vale mencionar que é provável que a constituição de cada fração exerça um papel significativo sobre essas distribuições.

4. CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos, pode-se concluir que a MIC foi adequada como método de preparo de amostras para a posterior determinação de halogênios e enxofre por IC-MS. A solução absorvedora selecionada possibilitou a obtenção de recuperações para todos os analitos próximas de 100%, com RSDs inferiores a 6%, o que indica poucas perdas durante o processo, precisão e exatidão adequadas. A possibilidade do uso de um baixo volume de uma solução diluída (6 mL de NH_4OH 100 mmol L^{-1}) com resultados quantitativos gera um volume baixo de resíduos e um descarte ambientalmente amigável. A utilização do método proposto (MIC e IC-MS) possibilitou a determinação de halogênios e enxofre em ovo e em suas frações utilizando uma única análise.

Os autores agradecem a CAPES, FAPERGS e ao CNPq pelas bolsas de estudo e apoio financeiro na execução do projeto.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAÚJO, J.A.; DA SILVA, J. H. V.; AMÂNCIO, A. L. L.; LIMA, C. B.; DE OLIVEIRA, E. R. A. Fontes de minerais para poedeiras. **Acta Veterinaria Brasilica**, Mossoró, v.2, n.2, p.157-160, 1987.
- GARCÍA-BELLÉS, Á.R. Effect of fluorine and nitrogen content on the properties of Ca-Mg-Si-Al-O-(N)-(F) glasses. **Ceramics International**, v.43, n.2017, p.4197-4204, 2016.
- KOHLMEIER, M. Nutrient Metabolism. **Academic Press**, Amsterdam, p.753-756, 2003.
- 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 Bioanalytical Chemistry**. Heidelberg, v.405, n.24, p. 7615-7642, 2013
- MESKO, M. F.; PEREIRA, R. M.; SCAGLIONI, P. T.; NOVO, D. L. R. Single analysis of human hair for determining halogens and sulfur after sample preparation based on combustion reaction. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**. v.411, n.2019, p.4873-4881, 2019.
- MIRANDA, J. M. Egg and Egg-derived Foods: Effects on Human Health and Use as Functional Foods. **Nutrients**, v.7, n.1, p.706-729, 2015.
- NÓBREGA, J. A.; SANTOS, M. C.; SOUSA, R. A.; CADORE, S.; BARNES, R. M.; TATRO, M. Sample Preparation in alkaline media: a review. **Spectrochimica Acta Part B**, Amsterdam, v.61, n.5, p.465-495, 2006.
- TORALLES, I. G.; COELHO JR., G. S.; COSTA, V. C.; CRUZ, S. M.; FLORES, E. M. M.; MESKO, M. F. A fast and feasible method for Br and I determination in whole egg powder and its fractions by ICP-MS. **Food Chemistry**, v.221, n.2017, p.877-883, 2016.
- ZIMMERMANN, M. B. Iodine deficiency. **Endocr Rev**, v.30, n.4, p.376-408, 2009.