

INFLUÊNCIA DO PRÉ-TRATAMENTO DAS AMOSTRAS NA QUANTIFICAÇÃO DE CLORO, BROMO, IODO E ENXOFRE EM MACROALGAS DA ANTÁRTICA

FILIPES SOARES RONDAN¹; CLÁUDIO ALVES LIMA JUNIOR²;
PRISCILA TESSMER SCAGLIONI³; ÁLISSON ALINE DA SILVA⁴;
MÁRCIA FOSTER MESKO⁵

¹Universidade Federal de Pelotas – fsrondan@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – claudioalveslimajr@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – priscilascaglioni@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – alisson.aline97@hotmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – marciamesko@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos 50 anos, diversas mudanças climáticas têm sido observadas na Antártica, tais como a elevação da temperatura atmosférica e alterações na frequência das precipitações de neve (BRACEGIRDLE, 2012). Consequentemente, as geleiras e os solos congelados, no continente antártico, vêm se deteriorando a cada década. Embora atividades antropogênicas sejam apontadas como principal causa dessas mudanças, fontes naturais, como as macroalgas marinhas, contribuem para tais mudanças, através de emissões para a atmosfera (ABBATT, 2012). Dentre os elementos emitidos por esses organismos, através de processos metabólicos, pode-se citar os halogênios (Br, Cl e I) e o enxofre (S), os quais podem ser capazes de alterar algumas características climáticas (ABBATT, 2012; WRIGHT, 2005).

Os halogênios, quando liberados para a atmosfera, tendem a reagir com moléculas de ozônio (O₃), em um ciclo contínuo, resultando na depleção desse gás, o qual é responsável pela absorção de parte da energia solar. Em contrapartida, o S liberado para a atmosfera pode sofrer reações de oxidação, formando sulfato particulado. Essa formação faz com que os compostos contendo S sejam fontes de núcleos de condensação, os quais favorecem a formação de nuvens que, por sua vez, são capazes de refletir a irradiação solar para fora do planeta, exercendo um efeito de resfriamento sobre a atmosfera. Contudo, a presença desse elemento na atmosfera favorece o aumento da acidez de chuvas, o que pode promover diversos problemas ambientais (WRIGHT, 2005).

Apesar da problemática envolvida na elevada presença e liberação desses elementos a partir de macroalgas marinhas, a maioria dos trabalhos relatados na literatura, envolvendo a determinação elementar, realizam a determinação de metais. São escassos os estudos que visam a determinação de S e, principalmente, de halogênios. Provavelmente, isso esteja atrelado à dificuldade em determinar esses elementos em amostras sólidas com composições complexas, como as macroalgas marinhas. Assim, métodos confiáveis e adequados para o preparo deste tipo de amostra devem ser desenvolvidos, a fim de poder realizar a quantificação desses elementos de forma adequada. Nesse sentido, a combustão iniciada por micro-ondas (MIC) é uma alternativa adequada para o preparo de macroalgas marinhas, visando a posterior determinação de halogênios e enxofre, uma vez que, dentre outras vantagens, este método permite a utilização de soluções alcalinas para a absorção dos elementos, as quais são adequadas para este fim (RONDAN et al., 2019).

No entanto, além da importância da etapa de preparo de amostra relacionada à obtenção de resultados confiáveis, a etapa de pré-tratamento também é fundamental para alcançar resultados que representem de forma

verdadeira a concentração elementar presente em diferentes tipos de amostra. O pré-tratamento pode ser considerando ainda mais importante quando se trata de amostras biológicas coletadas *in loco*, uma vez que se necessita que os elementos presentes nas amostras não sejam perdidos e/ou degradados até o final dos experimentos.

Nesse sentido, o presente trabalho tem como objetivo avaliar diferentes processos de pré-tratamento para verificar possíveis perdas de halogênios e/ou enxofre em macroalgas da Antártica, uma vez que os diferentes tipos de pré-tratamento utilizados podem afetar significativamente os resultados obtidos. Para possibilitar esta avaliação, foi utilizado um método previamente desenvolvido de preparo de amostras e posterior determinação de halogênios e enxofre.

2. METODOLOGIA

Nesse trabalho, foi utilizada uma amostra de macroalga da espécie *Desmarestia anceps* proveniente do continente antártico. A amostra foi coletada em Demay, na Ilha do Rei George, situada na coordenada 62° 23' S 58° 27' O, à 120 km da Península Antártica. As amostras foram coletadas durante a XXXVII Operação Antártica (OPERANTAR, 2018) organizada pelo Programa Antártico Brasileiro (PROANTAR). Para a coleta das amostras, as quais se encontram submersas na água do mar, foi utilizada uma espátula, que facilita a remoção das macroalgas das pedras onde elas se encontram fixadas. Após a coleta das amostras, foi realizada a limpeza, para a remoção de parte da água salgada e de alguns animais invertebrados. Para tanto, foi utilizada uma pinça e a lavagem foi realizada com água doce proveniente do laboratório situado no Navio Polar Almirante Maximiano. Posteriormente, as macroalgas foram armazenadas em sacos de polietileno e congeladas em ultra freezer (-80 °C).

Para o início do pré-tratamento, as macroalgas foram colocadas em banho-maria (30 °C) até o total descongelamento. Foi realizada uma nova lavagem, a fim de remover o restante da água salgada presente nas amostras. Desta forma, as macroalgas foram lavadas três vezes consecutivas, com água ultrapura, através do processo de imersão. Foram avaliadas duas proporções durante a lavagem (5 mL de água para cada 1 g de amostra e 15 mL de água para cada 1 g de amostra). Posteriormente aos processos de lavagem, as macroalgas foram levadas para o processo de secagem. Assim, as amostras foram divididas em dois grupos, sendo um grupo seco em estufa convencional com circulação de ar a 60 °C por 24 h, e o outro grupo seco em um liofilizador por aproximadamente 72 h. Após os processos de secagem, as algas foram cominuídas em moinho de facas e armazenadas em frascos de polipropileno para posterior preparo de amostra e análise.

Para o preparo das amostras, foi utilizado o método de combustão iniciada por micro-ondas. Para isso, utilizou-se um forno micro-ondas (Multiwave 3000, Anton Paar, Áustria) equipado com 8 frascos de quartzo (volume interno de 80 mL). Assim, as amostras (500 mg) foram envolvidas em filmes de polietileno de baixa densidade, na forma de invólucros, e dispostas sobre um suporte de quartzo, o qual continha, previamente, um disco de papel filtro umedecido com uma solução de NH_4NO_3 6 mol L^{-1} . Em seguida, os suportes contendo as amostras foram inseridos em frascos de quartzo, que haviam sido preenchidos com 6 mL de NH_4OH 150 mmol L^{-1} . Por fim, os frascos foram fechados, fixados ao rotor, pressurizados com O_2 e submetidos ao seguinte programa de irradiação: i) 1400 W por 5 min (etapa de combustão e refluxo); ii) 0 W por 20 min (etapa de

resfriamento). Cabe destacar que os parâmetros utilizados, como a massa de amostra e solução absorvedora, foram previamente otimizados.

Após o término do programa de irradiação, os digeridos foram transferidos para frascos volumétricos e avolumados a 25 mL com água ultrapura, e armazenados em frascos de polipropileno. Posteriormente, as soluções obtidas foram analisadas por cromatografia de íons acoplada à espectrometria de massas (IC-MS), utilizando um cromatógrafo de íons (ICS-5000, Dionex/Thermo Fisher Scientific, USA) e um espectrômetro de massa (MSQ Plus Single Quadrupole Mass Spectrometer, Thermo Fisher Scientific). As condições operacionais utilizadas foram de acordo com Mesko et al. (2019).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As amostras foram identificadas de acordo com os procedimentos de pré-tratamento recebido. Assim, as amostras que foram secas em estufa receberam a denominação “E” e aquelas secas em liofilizador receberam a denominação “L”. Da mesma forma, as amostras lavadas com a proporção de água e amostra 5:1, foram denominadas “5” e aquelas lavadas com a proporção 15:1, “15”.

Para a obtenção das concentrações de Cl, S, Br e I nas amostras, foi aplicado um método previamente desenvolvido, o qual emprega a MIC como método de preparo de amostra e a IC-MS para a quantificação dos analitos. Os resultados obtidos para cada condição de pré-tratamento avaliada estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Concentração de Cl, S, Br e I em macroalga da espécie *Desmarestia anceps*, proveniente da Antártica, após diferentes processos de pré-tratamento (média \pm desvio padrão, n=3).

Amostra	Concentrações (mg kg ⁻¹)			
	Cl	S	Br	I
E5	4620 \pm 196	34200 \pm 550	280 \pm 25	520 \pm 40
L5	4520 \pm 300	33850 \pm 350	290 \pm 10	530 \pm 20
E15	3200 \pm 300	23500 \pm 350	275 \pm 20	515 \pm 25
L15	3880 \pm 120	25700 \pm 570	290 \pm 20	535 \pm 40

E5: proporção de lavagem de 5:1 e secagem em estufa; L5: proporção de lavagem de 15:1 e secagem em liofilizador; E15: proporção de lavagem de 15:1 e secagem em estufa; L15: proporção de lavagem de 15:1 e secagem em liofilizador.

Como pode ser observado nos resultados, quando avaliada as condições E5 e L5, não houve diferença entre os resultados obtidos, para todos os analitos avaliados. Enquanto que quando avaliada as condições E15 e L15, houve diferença entre os resultados obtidos para Cl e S, tanto quando comparados com os resultados obtidos para as condições E5 e E15, quanto quando comparados os resultados entre os dois processos de secagem.

Com base nesses resultados, pode-se observar que a proporção de água utilizada para a lavagem das algas está diretamente relacionada com a diferença nas concentrações de Cl e S, enquanto que para Br e I as concentrações não diferiram. Além disso, pode-se perceber que quando utilizada a proporção de lavagem de 15:1, e utilizando os diferentes processos de secagem, as amostras secas em estufa apresentaram concentrações de Cl e S menores quando comparadas às macroalgas secas através do processo de liofilização. Isso leva a inferir que pequenas perdas, tanto de Cl quanto de S, podem ocorrer quando

utilizada a estufa para secagem das amostras. Todavia, estudos mais detalhados estão sendo conduzidos para investigar estas diferenças.

4. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos durante o desenvolvimento do trabalho, até o momento, pode-se observar que os diferentes processos de pré-tratamento estão diretamente relacionados com a exatidão dos resultados obtidos para Cl e S na análise das macroalgas. Desta forma, fica evidente a importância da avaliação desta etapa para garantir a confiabilidade nos resultados obtidos em uma análise, que muitas vezes pode apresentar erros pela negligência durante o desenvolvimento de um método.

Ainda, é válido mencionar que o método que emprega a MIC e a IC-MS foi adequado, viabilizando a determinação de Cl, S, Br e I nas macroalgas. Além da obtenção dos resultados até o momento, cabe destacar que outras avaliações devem ser realizadas neste trabalho, a fim de avaliar outros parâmetros, como diferentes proporções de água durante a lavagem, diferentes temperaturas durante a secagem em estufa, entre outras.

A partir dos resultados obtidos até o momento, somados aos obtidos com a continuidade deste estudo, poderão ser realizadas maiores afirmações quanto a influência dos diferentes processos de pré-tratamento e suas vantagens e desvantagens, visando a posterior determinação de halogênios. Por fim, cabe mencionar que estudos estão sendo realizados a fim de viabilizar a quantificação e a avaliação das possíveis perdas de flúor (F) nas amostras.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBATT, J. P. D.; THOMAS, J. L.; ABRAHAMSSON, K.; BOXE, C.; GRANFORS, A.; JONES, A. E.; KING, M. D.; SAIZ-LOPEZ, A.; SHEPSON, P. B.; SODEAU, J.; TOOHEY, D. W.; TOUBIN, C.; VON GLASOW, R.; WREN, S. N.; YANG, X. Halogen activation via interactions with environmental ice and snow in the polar lower troposphere and other regions. **Atmospheric Chemistry and Physics**, v. 12, p. 6237- 6271, 2012.

BRACEGIRDLE, T. J. Detection and attribution of Antarctic climate change. **Anales del Instituto de la Patagonia**, v. 40, p. 51-56, 2012.

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.

RONDAN, F. S.; COELHO JUNIOR, G. S.; PEREIRA, R. M.; HENN, A. S.; MULLER, E. I.; MESKO, M. F. A versatile green analytical method for determining chlorine and sulfur in cereals and legumes. **Food Chemistry**, v. 285, p. 334-339, 2019.

WRIGHT, D. S. Philosophical Transactions of the Royal Society A. **Halocarbon and dimethyl sulphide studies around the Mascarene Plateau**, v. 363, p. 169-185, 2005.