

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

FILIPE SOARES RONDAN<sup>1</sup>; CLÁUDIO ALVES LIMA JUNIOR<sup>2</sup>;  
PRISCILA TESSMER SCAGLIONI<sup>3</sup>; ÁLISSON ALINE DA SILVA<sup>4</sup>;  
MÁRCIA FOSTER MESKO<sup>5</sup>

<sup>1</sup>*Universidade Federal de Pelotas – fsrondan@gmail.com*

<sup>2</sup>*Universidade Federal de Pelotas – claudioalveslimajr@hotmail.com*

<sup>3</sup>*Universidade Federal de Pelotas – priscilascaglioni@gmail.com*

<sup>4</sup>*Universidade Federal de Pelotas – alisson.aline97@hotmail.com*

<sup>5</sup>*Universidade 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 ( $O_3$ ), 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 considerado 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显著mente 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  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  6 mol L<sup>-1</sup>. Em seguida, os suportes contendo as amostras foram inseridos em frascos de quartzo, que haviam sido preenchidos com 6 mL de  $\text{NH}_4\text{OH}$  150 mmol L<sup>-1</sup>. Por fim, os frascos foram fechados, fixados ao rotor, pressurizados com O<sub>2</sub> 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 ± desvio padrão, n=3).

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