

DETERMINAÇÃO DE CLORO EM MEL: DESAFIO ANALÍTICO NA PREPARAÇÃO DA AMOSTRA PARA VIABILIZAR A DETECÇÃO POR ISE

ANGÉLICA S. DOS REIS¹; VANIZE C. DA COSTA¹; NATANAEL R. X. PIRES¹;
 THAIS MAZZETTI¹; MÁRCIA F. MESKO¹

¹Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas –
 ge_schiavon@hotmail.com; marciamesko@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

O mel é um produto produzido pelas abelhas melíferas a partir do néctar das flores (mel floral), de secreções originárias de partes vivas das plantas (exsudados) ou, ainda, de excreções de insetos sugadores presentes nas plantas (mel de melato) (PERALTA; KOBLITZ, 2011). Ao longo dos anos, estudos vêm afirmando que o mel, além de ser utilizado como alimento, pode apresentar ações medicamentosas, tais como, antimicrobiana, anti-inflamatória, antiviral, antioxidante (VIUDA-MARTOS et al., 2008), antimutagênica (SAXENA et al., 2012) e antitumoral (FERNANDEZ-CABEZUDO et al., 2013).

Deste modo, tendo em vista que o mel é um produto largamente consumido, é de fundamental importância a avaliação deste produto em relação a sua constituição, o que inclui elementos essenciais e não essenciais. Neste contexto, o cloro (Cl) é um dos elementos que deve ter sua concentração monitorada, uma vez que, na forma de íon cloreto (Cl⁻), é um dos responsáveis por regular o transporte de fluídos através das membranas celulares de organismos vivos, bem como pela manutenção do equilíbrio ácido-base do corpo (SERFOR-ARMAH et al., 2002). Todavia, até o momento não estão disponíveis métodos na literatura que possibilitem esta determinação neste tipo de matriz.

Dentre as técnicas disponíveis para a determinação de íons Cl⁻, pode-se destacar a potenciometria de íon seletivo, devido, principalmente, a menores contaminações da amostra, do tempo reduzido de resposta, do não comprometimento pela cor ou turbidez da matriz (HARRIS, 2005), bem como custo reduzido. Embora esta técnica demonstre uma apreciável seletividade, a mesma não se encontra livre de sofrer interferências (DIMESKI, 2010), onde a presença dos ânions iodeto, brometo, carbonato, tiosulfato e hidróxido podem ocasionar erros de medição (HANNA, 2012). Além disso, substâncias provenientes da matriz da amostra, ou adicionadas a esta, também podem provocar interferências (DIMESKI, 2010).

Dessa forma, tendo em vista a necessidade da adequabilidade da amostra à técnica de determinação, é de relevância o tratamento das amostras anteriormente à etapa de quantificação de íons Cl⁻. Com isso, de acordo com o que é relatado na literatura, a utilização de meios alcalinos, associada a técnicas que utilizam sistemas fechados, como as técnicas baseadas na extração, na dissolução e na combustão vêm sendo empregado por alguns autores na etapa de preparo de amostras, a fim de obter resultados satisfatórios (NÓBREGA et al., 2006). Entretanto, cabe ressaltar que, no caso da potenciometria de íon seletivo, meios alcalinos podem causar interferências (HANNA, 2012).

Diante do exposto e considerando a relevância de se conhecer as concentrações de Cl em mel, este trabalho teve como objetivo desenvolver um método que possibilite a utilização do eletrodo íon seletivo para a detecção deste elemento em amostras de mel. Para tanto é proposto a utilização da MIC para a decomposição das amostras.

2. METODOLOGIA

Inicialmente, foram estudadas as possíveis interferências de soluções de hidróxido de amônio (NH_4OH) na determinação do íon Cl^- por potenciometria com eletrodo íon seletivo (ISE). Para tanto, foram preparadas amostras sintéticas contendo 5 mg l^{-1} de Cl^- , em diferentes concentrações de NH_4OH (5, 10 ou 20 mmol l^{-1}), estas, posteriormente, foram analisadas em uma curva de calibração preparada em água ultrapura e, também, em uma curva contendo igual concentração de NH_4OH . As curvas empregadas neste estudo continham o ânion nas concentrações de 1 a 10 mg l^{-1} .

Todas as soluções de calibração e amostras foram preparadas adicionando-se 0,8 ml de solução de acetato de amônio ($\text{NH}_4\text{CH}_2\text{COOH}$) e avolumadas a 40 ml com água ultrapura (Megapurity, Billerica). Ademais, para as soluções preparadas em meio alcalino, o pH foi monitorado utilizando-se um pHmetro digital (Micronal, B474).

As soluções estudadas foram utilizadas no preparo das amostras de mel para posterior determinação do íon Cl^- com ISE. Após aquisição, as mesmas foram homogeneizadas manualmente e posteriormente armazenadas. Previamente as pesagens, as amostras foram novamente homogeneizadas em banho-maria (30 min/ $60 \text{ }^\circ\text{C}$) numa chapa de aquecimento (IKA, RH Basic 2), conforme recomenda a *Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 2011)*, visto que foram verificadas a formação de cristais durante o armazenamento.

Para a decomposição das amostras por MIC, foi utilizado um sistema pressurizado com aquecimento por irradiação micro-ondas (Anton Paar, Multiwave 3000[®]), equipado com 8 frascos de quartzo (80 ml, 80 bar e $280 \text{ }^\circ\text{C}$). Para tanto, empregou-se um filme de polietileno (com dimensões de $8 \times 8 \text{ cm}$, massa em torno de 50 mg), sobre o qual foi pesada a amostra e uma pequena quantidade de celulose.

Posteriormente, estes invólucros foram dispostos na base de suportes de quartzo contendo um disco de papel filtro umedecido com $50 \mu\text{l}$ de NH_4NO_3 6 mol l^{-1} . Em seguida, os mesmos foram colocados dentro de frascos de quartzo contendo 6 ml de diferentes soluções absorvedoras (50 mmol l^{-1} ou 100 mmol l^{-1} NH_4OH , e água ultrapura). Por fim, os frascos foram fechados, fixados no rotor, pressurizados com 20 bar de O_2 por 1 min e submetidos ao programa de irradiação com micro-ondas: *i)* 1400 W por 50 s, *ii)* 0 W por 3 min, *iii)* 1400 W por 4 min e *iv)* 0 W por 20 min (resfriamento). Após o término do programa de irradiação as amostras foram aferidas a 30 ml e as determinações de Cl^- foram conduzidas com ISE (HANNA, HI 4107).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em relação à avaliação da interferência (efeito de matriz) da solução de NH_4OH na leitura do íon Cl^- com ISE, pode-se verificar que quando avaliada a curva preparada em água ultrapura, obteve-se recuperação satisfatória (105%) somente para a amostra sintética preparada em NH_4OH a 5 mmol l^{-1} , mostrando deste modo, que, possivelmente esta concentração não interfira na leitura de outros tipos de amostras. No entanto, visando possibilitar a determinação do íon Cl^- com ISE, em outras concentrações de NH_4OH , optou-se por avaliar as amostras sintéticas não recuperadas em curvas preparadas com NH_4OH na concentração correspondente a cada amostra sintética (10 e 20 mmol l^{-1}). Nesta avaliação, obteve-se boa recuperação apenas em 10 mmol l^{-1} (96%). Sendo

assim, tendo em vista que o pH das amostras de concentração de 20 mmol l⁻¹ encontravam-se acima da faixa do trabalho do ISE (5,0 a 6,0), fez-se o ajuste da curva e da amostra sintética com a solução de NH₄CH₂COOH, onde foi obtido pH 5,0 e uma recuperação satisfatória (acima de 93%).

A partir disto, foi quantificado o íon Cl⁻ presente nas diferentes soluções absorvedoras, obtidas a partir das decomposições por MIC das amostras de mel, conforme é apresentado na Tab. 1.

Tabela 1. Determinação de Cl⁻ em mel com ISE (n=3)

Solução absorvedora	Cl⁻ (µg g⁻¹)
Água ultrapura	231,5 ± 44,6
NH ₄ OH 50 mmol l ⁻¹	245,0 ± 7,67
NH ₄ OH 100 mmol l ⁻¹	194,0 ± 20,0

Com base na Tab. 1, pode-se verificar que não houve diferença significativa entre as diferentes soluções absorvedoras avaliadas (ANOVA, nível de confiança de 95%). Com relação aos desvios padrão relativos (RSDs), verificou-se que os mesmos apresentaram percentuais maiores para a solução em água ultrapura (19,3%) e em NH₄OH 100 mmol l⁻¹ (10,3%). Deste modo, embora tenham sido realizados estudos prévios em relação ao efeito de matriz, visando minimizá-los, ainda serão realizadas curvas de adição de analito, para avaliar se este efeito pode ter influenciado nos valores das medidas. Além disso, para avaliar a exatidão do método proposto, serão realizados ensaios de recuperação, bem como, a utilização de um material de referência certificado (CRM).

Cabe destacar que, as determinações por potenciometria com ISE foram realizadas nas mesmas condições das amostras e pode-se observar que foram obtidos bons resultados para as análises.

4. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados apresentados pode-se constatar que investigações a respeito de interferências na potenciometria com ISE podem ser uma forma de ampliar a sua utilização para a determinação do íon Cl⁻ em matrizes complexas, como a do mel, visto que além de ser uma técnica de baixo custo, o mesmo possibilitou a determinação deste analito em diferentes soluções, o que oportuniza o emprego de diferentes métodos de preparo das amostras.

Em relação ao preparo das amostras de mel, pode-se mencionar que a MIC possibilitou a utilização de soluções diluídas, conforme os preceitos da química verde, bem como uma elevada frequência analítica, visto que foi possível realizar 8 decomposições de amostras em menos de 30 min.

Futuros estudos serão realizados visando avaliar a exatidão do método proposto, bem como utiliza-lo para a determinação de Cl em mel de diferentes origens.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- DIMESKI, G.; BADRICK, T.; JOHN, A.S. Ion Selective Electrodes (ISEs) and interferences – A review. **Clinica Chimica Acta**, Amsterdam, v.411, p.309-317, 2010.
- FERNANDEZ-CABEZUDO, M. J.; EL-KHARRAG, R.; TORAB, F.; BASHIR, G.; GEORGE, J. A.; EL-TAJI, H.; AL-RAMADI, B. K. Tumor Growth and Improves Host Survival When Used in Combination with Chemotherapy in a Melanoma

- Mouse Model Intravenous Administration of Manuka Honey Inhibits. **Plos One**, San Francisco, v.8, n.2, p.1-14, 2013.
- HANNA INSTRUMENTS. Manual HI 4007, HI 4107. Hanna Brazil. Acessado em 30 jul. 2012. Online. Disponível em: <http://www.hannabrasil.com/produtos/ionsseletivos/eletrodo-de-ions-especificos-e-cloreto-combinado>.
- HARRIS, D.C. Eletrodos e Potenciometria. In: HARRIS, D.C. **Análise Química Quantitativa**. Rio de Janeiro: LTC, 2005. Cap. 15, p.303-336.
- 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**, Oxford, v.61, p.465-495, 2006.
- PERALTA, E. D.; KOBLITZ, M. G. B. Mel. In: KOBLITZ, M. G. B. **Matérias-primas alimentícias: composição e controle de qualidade**. 1ª Ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011.
- SAXENA, S.; GAUTAM, S.; MARU, G.; KAWLE, D.; SHARMA, A. Suppression of error prone pathway is responsible for antimutagenic activity of honey. **Food and Chemical Toxicology**, v.50, p.625-633, 2012.
- SERFOR-ARMAH, Y.; NYARKO, B.J.B.; AKAHO, E.H.K.; KYERE, A.W.K.; OSAE, S.; OPPONG-BOACHIE, K. Multielemental analysis of some traditional plant medicines used in Ghana. **Journal of Trace and Microprobe Techniques**, New York, v.20, n.3, p. 419-427, 2002.
- VIUDA-MARTOS, M.; RUIZ-NAVAJAS, Y.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.; PÉREZ-ÁLVAREZ, J. A. Functional properties of honey, propolis, and royal jelly. **Journal of Food Science**, Nova Jérsei, v.73, n.9, p.117-124, 2008.
- WORWITZ, W.; LATIMER, G. W. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. Gaithesburg: AOAC International, 2011.