

VIABILIDADE DO USO DO ELETRODO ÍON SELETIVO NA DETERMINAÇÃO DE CLORO EM RAÇÃO PARA PEQUENOS ANIMAIS

**DIOGO LA ROSA NOVO¹; MARCELO GUERREIRO CRIZEL¹; CARLA DE
 ANDRADE HARTWIG¹; ÍSIS GONÇALVES TORALLES¹; MÁRCIA FOSTER
 MESKO¹**

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

1. INTRODUÇÃO

Estudos na área de nutrição animal têm demonstrado a influência de diversos fatores no bem estar destes seres. A necessidade destes estudos vem crescendo devido à expansão do mercado de nutrientes para animais domésticos. Atualmente, segundo a Associação Nacional dos Fabricantes de Alimentos para Animais de Estimação - Anfal Pet - 2005, cerca de 65% dos lares brasileiros têm um animal de estimação, o que representa uma população de, aproximadamente, 30 milhões de cães e 12 milhões de gatos. Desse total, aproximadamente, 40% consomem alimentos industrializados. Com isso, faz-se necessário o desenvolvimento de produtos alimentícios cada vez mais específicos para as diferentes raças de animais visando, principalmente, a sua saúde e bem estar (PRIOR, 2013).

Pesquisas realizadas por CARCIOFI, et al. (2006) e BUTOLO, et al. (2002), mostram a importância da relação das concentrações de alguns elementos com a qualidade de vida dos animais.

Em uma dieta alimentar enriquecida por ânions, tem-se uma mudança no equilíbrio cátion-ânion do organismo para o estado básico, também conhecido como acidose metabólica, no qual, a concentração de hidrogênio no sangue arterial tende a aumentar (DIBARTOLA, 1992). Para que não ocorram diminuições do pH sanguíneo (animais saudáveis possuem o pH ~ 7,4), o organismo faz uso de seus sistemas tampão - os quais atuam em defesa dos sistemas intracelular, ósseo, respiratório e entre outros (KANEKO, et al. 1997). A longo prazo, o equilíbrio é mantido pela reabsorção renal de bicarbonato e subsequente eliminação de íons hidrogênio, resultando na queda do pH da urina e ocasionando a urolitíase – formação de urólitos, ou seja, cálculos urinários (CARCIOFI, 2007).

Devido à relevância dos problemas que podem vir a ser causados pelo excesso de ânions no organismo desses animais, faz-se necessário o controle das concentrações dessas espécies. Portanto, a determinação da concentração de elementos como o cloro (Cl) nas mais diferentes amostras de ração, merece atenção especial.

Entretanto, as metodologias oficiais para o preparo de amostras não oferecem grande precisão e, geralmente, necessitam de etapas nas quais podem ocorrer perdas dos analitos por volatilização, assim como, o risco de contaminação pelas etapas morosas de preparo e determinação (ANTES, et al. 2010). Algumas instituições como a *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC) recomendam métodos, considerados oficiais, para a determinação de diversos elementos, porém estes apresentam inconvenientes como os citados anteriormente (WORWITZ, et al. 2011).

Os métodos de preparo envolvendo a combustão das amostras em sistemas fechados, tem se mostrado bastante eficiente para a determinação de halogênios (MESKO, 2008). A combustão iniciada por micro-ondas (MIC) é um exemplo de método que pode ser aplicado visando a posterior determinação destes elementos. Este método baseia-se na combustão de amostras orgânicas em frascos fechados pressurizados com oxigênio, sendo a etapa de ignição promovida pelo uso de radiação micro-ondas (FLORES, et al. 2007). Na MIC, após a combustão, os analitos são absorvidos em solução apropriada e podem ser determinados posteriormente por diferentes técnicas, tais como a Cromatografia de Íons (IC) e a potenciometria com Eletrodo Íon Seletivo (ISE).

Dentre essas técnicas de determinação, a ISE possui como grande vantagem à acessibilidade em diversos laboratórios devido ao custo de aquisição e manutenção quando comparado com IC, constituindo dessa forma uma alternativa a detecção de Cl. Essa técnica de determinação quantifica o íon através de uma diferença de potencial em sua membrana. Cabe destacar também que para todas as técnicas de detecção de Cl é necessário um procedimento adequado de preparo de amostras, que leve em consideração as possibilidades de perdas e contaminação, e que resulte em amostras compatíveis com a técnica de determinação a ser utilizada.

Assim, tendo em vista a relevância da determinação de Cl em ração para animais e a carência de métodos oficiais que apresentem elevada frequência analítica e boa exatidão nas análises, viabilizando a aplicação em laboratórios de controle de qualidade, este trabalho teve por objetivo desenvolver um método de preparo para as amostras de ração e avaliar a viabilidade de combiná-lo com a técnica de determinação de Cl por ISE.

2. METODOLOGIA

A amostra foi adquirida no comércio local (Pelotas/RS), sendo posteriormente homogeneizada e cominuída em processador doméstico (MDR 301®, Cadence) e, seca em estufa por 12 h, a 50 °C.

Para a decomposição da amostra por MIC, fez-se necessário a confecção de comprimidos da amostra de ração (~ 500 mg), os quais foram posteriormente decompostos por MIC em forno de micro-ondas Multiwave 3000® (Microwave Sample Preparation System, Anton Paar, Graz, Áustria), contendo 8 frascos de quartzo (80 ml, 80 bar e 280 °C). Como iniciador de combustão foi utilizado NH_4NO_3 (50 μl , 6 mol l^{-1}) e para absorver Cl foi avaliada uma solução de $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ nas concentrações de 10, 20, 100, 200 ou 500 mmol l^{-1} . O programa de aquecimento foi de 1400 W/10 min, seguido de 0W/20 min; sendo pressurizado com 20 bar de O_2 .

Após decomposição por MIC, o analito em solução foi determinado por IC (850 professional Metrohm), pelo método oficial da AOAC 943.01 e por ISE (modelo HI 3221, Hanna Instruments, Brasil).

Para a realização do método da AOAC 943.01, utilizou-se aproximadamente 3 g de amostra, na qual foram adicionados 50 ml de $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, sob agitação constante para evitar a aglomeração da amostra e facilitar a solubilização do Cl. Após, foi adicionado 100 ml de NH_4OH (0,05 mol l^{-1}) sob agitação, seguido de uma etapa de repouso de 10 min. Esta mistura foi filtrada, em papel-filtro previamente descontaminado com HNO_3 10% (v/v), e o filtrado transferido para um balão volumétrico de 150 ml.

A partir das soluções obtidas, foram retiradas alíquotas de 10 ml para a titulação. As alíquotas foram adicionadas de 10 ml de HNO_3 (6 mol l^{-1}), 10 ml de

indicador $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, 20 ml de H_2O ultra-pura e 500 μl de KSCN ($0,1 \text{ mol l}^{-1}$). A titulação foi realizada com solução padronizada de AgNO_3 ($0,1 \text{ mol l}^{-1}$) como titulante até o desaparecimento da cor avermelhada. Em seguida, a completa precipitação do Cl foi promovida por aquecimento em chapa elétrica ($90 \text{ }^\circ\text{C}/ 5 \text{ min}$). A solução foi resfriada e titulada com KSCN , até o aparecimento de uma coloração avermelhada persistente por 15 segundos.

Para avaliar a exatidão do método MIC/IC foi utilizado o material de referência certificado (CRM) NIST 8414 (*Bovine Muscle*) e para o método oficial AOAC foi utilizado o CRM BCR 060 (*Aquatic Plant*).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com relação aos resultados obtidos para as determinações de Cl por IC e ISE em ração após a decomposição por MIC, foi possível observar que o uso da solução de $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ na concentração de 10 mmol l^{-1} , possibilitou recuperações quantitativas para o analito, sendo possível determinar Cl por ambas as técnicas avaliadas.

Os resultados obtidos para Cl após a avaliação de diferentes métodos estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Concentração de Cl em ração após diferentes métodos ($\mu\text{g g}^{-1}$, $n=3$).

AMOSTRA	MIC/IC	AOAC	MIC/ISE
RAÇÃO	6755 ± 94	5843 ± 752	6644 ± 320
NIST 8414	1709 ± 120	-	-
BCR 060	-	7214 ± 1000	-

Valores certificados: BCR 060 (Cl : $10000 \mu\text{g g}^{-1}$), NIST 8414 (Cl : $1880 \pm 150 \mu\text{g g}^{-1}$)
 Valor indicado pelo fabricante $6200 \mu\text{g g}^{-1}$

Como pode ser observado na Tabela 1, é possível afirmar que não existem diferenças significativas (teste t de *Student* com 95% de confiança) entre os resultados obtidos para Cl . Entretanto, o método por MIC/ISE (5%) apresenta RSD inferior ao método oficial recomendado pela AOAC (13%), comprovando maior precisão do método proposto. Além disso, o método proposto usando a determinação do analito por ISE concordou em 107% com o valor indicado pelo fabricante.

A concentração de Cl no CRM NIST 8414 por IC foi concordante em 93% com o valor certificado. Já o CRM BCR 060 determinado pelo método AOAC apresentou concordância de 72% com o valor informado para Cl , indicando que maiores estudos devem ser feitos. Em posteriores análises, também será determinada a concentração de Cl nos CRMs NIST 8414 e BCR 060 por MIC/ISE para confirmar a exatidão do método.

4. CONCLUSÕES

Com base nos estudos apresentados, a determinação de Cl em ração animal por MIC/ISE apresentou boa exatidão e precisão nas análises e pode ser uma alternativa viável para o controle da concentração deste elemento em ração. A determinação de Cl por ISE apresentou concordâncias adequadas se comparada com as técnicas de determinação clássicas e instrumentais de maior complexidade. Além disso, o método proposto apresenta instrumentação de baixo custo e acessível

a laboratórios de análises de rotina. Ademais, o método proposto (MIC/ISE) possibilita o uso de pequenos volumes de reagentes, atendendo ao preconizado nos princípios da química verde no que diz respeito à baixa geração de resíduos.

Com relação ao preparo das amostras por MIC, pode-se concluir ainda que essa técnica foi efetiva na decomposição de ração para pequenos animais, apresentando maior frequência analítica quando comparado com o método recomendado pela AOAC, o que é de extrema importância tratando-se de uma análise que possa vir a ser utilizada para o controle de Cl em indústrias.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANTES, F.G.; Duarte, F.A.; Flores, E.L.M.; PANIZ, J.N.G.; Flores, E.M.M.; DRESSLER, V.L. Preparo de amostras de combustíveis fósseis por pirolíse para a determinação de flúor e cloro, **Química Nova**, v.33, n.5, p.1130, 2010.

BUTOLO, J.E. **Qualidade de ingredientes na alimentação animal**. Campinas: Agro Comunicação, 2002. 430p.

CARCIOFI, A.C. Composição nutricional e avaliação de rótulo de rações secas para cães comercializadas em Jaboticabal-SP. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.58, n.3, p.421-426, 2006.

CARCIOFI, A.C. Métodos para estudo das respostas metabólicas de cães e gatos a diferentes alimentos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, p.235-249, 2007.

DIBARTOLA, S.P.; **Fluid therapy in small animal practice**. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1992. p.719.

KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 5. ed. London: Academic Press, 1997. 932p.

FLORES, E.M.M.; Barin, S.B.; MESKO, M.F.; KNAPP, G. Sample preparation techniques based on combustion reactions in closed vessels - a brief overview and recent applications. **Spectrochimica Acta Part B**, v.62, p.1051-1064, 2007.

MESKO, M. F. **Determinação de halogênios em carvão, coque petroquímico e alimentos após combustão iniciada por microondas**. 2008. 156f. Tese (Doutorado em Química) – Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de Santa Maria.

PRIOR, J. Situação atual e perspectivas do mercado nacional de alimentos pet. In: **SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE ANIMAIS DE ESTIMAÇÃO**, 3., Campinas. Anais..., Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 2003. p.1-4.

WORWITZ, W.; LATIMER, G. W. **Official Methods of Analysis of AOAC International** Gaithersburg: AOAC International, 2011.