

Desenvolvimento de método para análise direta de metais traços em amostras de xantana por HR–CS GF AAS

PAULO ROBERTO PEREIRA DE LEÃO^{1*}, EMILENE MENDES BECKER², MARIA GORETI RODRIGUES DO VALE^{2,3}, CLAIRE TONDO VENDRUSCOLO¹, ANGELITA SILVEIRA MOREIRA⁴.

¹ Universidade Federal de Pelotas – CCQFA prpleon@gmail.com

² Universidade Federal do Rio Grande do Sul - Instituto de Química

³ Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do CNPq – INCT de Energia e Ambiente; UFBA.

⁴ Universidade Federal de Pelotas – CDTec angelitadasilveiramoreira@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A xantana é produzida industrialmente por fermentação aeróbia de açúcar por *Xanthomonas campestris* pv *campestris*. Entretanto, outras *Xanthomonas* também são capazes de produzir xantana, com eficiência e qualidade variável (SUTHERLAND, 1993). *X. arboricola* pv *pruni*, estudada há vários anos no Laboratório de Biopolímeros (CDTec - UFPel), é capaz de produzir xantana, denominada xantana *pruni*, com rendimento e viscosidade equivalente ou superior às comerciais. Os estudos realizados nesse laboratório resultaram na patente WO/2006047845 (VENDRUSCOLO; VENDRUSCOLO e MOREIRA, 2006). A xantana comercial é constituída por uma cadeia principal celulósica (D-glucose em ligações β -1,4) e cadeias laterais resíduos alternados de D-manose e ácido D-glicurônico, na proporção 2:1. Possui ainda substituintes ácidos, acetil e pirúvico aos quais, principalmente, se ligam cátions como sódio, potássio e cálcio (JANSSON et al. 1975). É utilizada em diversos setores industriais, como em fármacos, tintas e, principalmente, a indústria petrolífera e de alimentos (KATZBAUER, 1998). A xantana *pruni* ainda não é produzida comercialmente, mas sua segurança já foi determinada (RODRIGUES, 2010). Faz parte do controle de qualidade de xantanas a determinação de Pb e outros metais pesados, para os quais aceita-se, respectivamente, percentuais menores que 0.0002% ou $2 \mu\text{g.g}^{-1}$ e 0.002% ou $20 \mu\text{g.g}^{-1}$ [BURDOCK, 1997; FCC, 2003].

Atualmente, a espectrometria de absorção atômica com forno de grafite aliada ao espectrômetro de alta resolução com fonte contínua (HR–CS GF AAS) preenche os requisitos de elevada sensibilidade e possibilidade da análise direta das amostras (VIRGILIO, 2012; WELZ, 2005), sendo rápida e confiável. Além disso, esta técnica também permite a minimização e resolução de interferências espectrais muito comuns na análise direta de sólidos via AAS (WELZ, 2005). O objetivo deste trabalho visa o desenvolvimento de método analítico para a determinação de metais traços em amostras de xantanas comerciais e nas produzidas no Laboratório de Biopolímeros do CDTec/UFPel por HR–CS GF AAS, usando a amostragem direta de sólidos. Para investigar a provável origem desta contaminação, foi feita a análise de alguns insumos usados no processo de fermentação das xantanas.

2. METODOLOGIA

2.1 AMOSTRAS ANALIZADOS

Utilizaram-se duas xantanas comerciais, que foram denominados como Xantana comercial A, adquirida da Farmaquímica, e Xantana comercial B, cedida pela Petrobras, e três xantanas pruni. As xantanas pruni, produzidas no Laboratório de Biopolímeros (VENDRUSCOLO; VENDRUSCOLO e MOREIRA, 2006), denominou-se Xantana fermentação A, proveniente de processo utilizando a cepa 101 de *X. arboricola* pv pruni, e as Xantanas fermentação B e C, relativas a dois diferentes lotes provenientes da cepa 106, utilizando-se marcas diferentes de açúcar cristal comercial.

2.2 METODOLOGIA

Utilizou-se espectrômetro de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua em forno de grafite, modelo ContrAA 700 (Analytik Jena). Avaliou-se o sinal utilizando-se 3 pixels ($CP_{\pm 1}$) na linha analítica de 283,306 nm. Utilizou-se tubos de grafite pirolíticos com aquecimento transversal para amostragem sólida. Pesou-se em torno de 0,80 mg das amostras diretamente na plataforma de grafite com micro balança (Sartorius), precisão de 0,001 mg. As plataformas contendo as amostras foram inseridas no atomizador usando acessório para amostragem sólida. Utilizou-se argônio, com grau de pureza de 99,996% (White Martins), na vazão de 2,0 L min^{-1} , durante todas as etapas, excetuando a de atomização, onde o fluxo de gás foi interrompido. As condições de medida para a determinação de Pb por HR-CS GF AAS por amostragem direta de sólidos foram avaliadas usando amostra da xantana pruni Fermentação A. Para eliminar a interferência parcialmente sobreposta ao sinal analítico do Pb no $CP_{\pm 1}$, foram investigados os modificadores químicos em solução Pd 0,1% (m/v) + Mg 0,06% (m/v), na presença de H_2O_2 e HNO_3 , e $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 1% (m/v) em Triton X-100 0,05% (v/v). Realizou-se a quantificação de Pb nas amostras e insumos com curva analítica usando branco e sete soluções aquosas. A exatidão do método foi avaliada usando-se material de referência certificado, polietileno de baixa densidade ERM EC680K.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos com o modificador Pd/Mg mostraram a presença de uma interferência parcialmente sobreposta com o sinal analítico do Pb. O modificador que permitiu uma eliminação adequada da absorção do fundo no $CP_{\pm 1}$ foi $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ (0,2 mg) na temperatura de atomização de 1800°C, que estabiliza o sinal analítico de Pb tanto das amostras como do padrões aquosos.

Fez-se então o estudo da temperatura de pirólise ótima, encontrando-se 900°C como temperatura que proporciona o maior sinal analítico com menor interferência, sendo esta a condição utilizada para as demais determinações. Os resultados demonstraram que massas até 0,85 mg não possuem interferência. As demais amostras investigadas não demonstraram interferências no $CP_{\pm 1}$. Linearidade adequada ($r^2 > 0,99$) foi obtida para soluções numa faixa de concentração entre 4,0 e 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ (0,04–1,0 ng de Pb). Os parâmetros de mérito avaliados, massa característica (m_0), limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ), são demonstrados na Tabela 1.

Tabela 1: Parâmetros de mérito para determinação de Pb em xantana usando HR–CS GF AAS com calibração com padrões aquosos

Modificador	Equação de regressão linear	R ²	LD*/ µg g ⁻¹	LQ / µg g ⁻¹	m ₀ / pg
NH ₄ H ₂ PO ₄	A _{int} = 0,0079 + 0,4471 m _{Pb}	0,9979	0,007	0,023	9

*LD para massa máxima de amostra inserida no tubo de grafite (1,9 mg).

Os resultados encontrados ($13,2 \pm 0,9 \mu\text{g g}^{-1}$) foram concordantes com o valor certificado para o material referência ($13,6 \pm 0,9 \mu\text{g g}^{-1}$) à um nível de confiança de 95% (teste T de *student*). A precisão, avaliada pelo coeficiente de variação (CV) da determinação de Pb na amostra fermentação B (n=10), foi 12%. Para as demais amostras o CV variou de 7 a 24% (n=5).

Porém, na determinação de As, não foi encontrado resultados por HR–CS GF AAS. Os resultados analíticos da determinação de Pb e As nas amostras de xantana e insumos utilizados na produção das xantanas pruni são mostrados na Tabela 2.

Tabela 2: Determinação de Pb e As em amostras de xantana comerciais, xantanas pruni e insumos usando HR–CS GF AAS com amostragem direta de sólidos.

Amostra	Pb µg g ⁻¹ ± sd	As µg g ⁻¹ ± sd
Xantana Fermentação A	0,909 ± 0,184	Nd
Xantana Fermentação B	0,068 ± 0,008	Nd
Xantana Fermentação C	0,440 ± 0,050	Nd
Xantana Comercial A	0,153 ± 0,010	Nd
Xantana Comercial B	0,021 ± 0,005	Nd
Glicose	< LQ	---
Dihidrogeno fosfato de amônio	< LQ	---
Hidrogeno fosfato de potássio	< LQ	---
Extrato de levedura	< LQ	---
Álcool	< LQ	---
Açúcar comercial	< LQ	---
Peptona	0,041 ± 0,010	---

*sd = desvio padrão de 5 medidas replicatas **Nd= não encontrado.

Todas as amostras analisadas tiveram teores de Pb inferiores ao permitindo. A investigação da provável origem da contaminação das amostras de xantanas pruni foi realizada avaliando-se os insumos utilizados no processo de fermentação. Apenas a amostra de peptona mostrou contaminação acima do Limite de Quantificação ($0,041 \pm 0,010 \mu\text{g g}^{-1}$).

4. CONCLUSÕES

As interferências espectrais não puderam ser elucidadas para sua eliminação usando correção de fundo por mínimos quadrados (LSBC), mas foram adequadamente eliminadas usando NH₄H₂PO₄ como modificador químico. A HR–CS GF AAS aliada à amostragem direta de sólidos mostrou ser uma alternativa

promissora quando se requer o uso de pequena quantidade de amostra com o mínimo de preparo, como no desenvolvimento de novos produtos. Os teores de Pb nas amostras avaliadas ficaram abaixo do estabelecido pela legislação vigente para xantana como aditivo alimentar. Porém, o As não foi encontrado nas amostras de xantanas.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- VIRGILIO, A.; NÓBREGA, J. A.; RÊGO, J. F.; NETO, J. A. G. *Evaluation of solid sampling high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry for direct determination of chromium in medicinal plant* **Spectrochim. Acta B**, v.78, p. 58-61, 2012.
- WELZ, B.; BECKER-ROSS, H.; FLOREK, S.; HEITMANN, U. **High-Resolution Continuum Source Atomic Absorption Spectrometry**. New York, Wiley-VCH Weinheim, 2005.
- COTTRELL, I. W.; KANG, K. S. *Xanthan gum, a unique bacterial polysaccharide for food applications*. **Developments in Industrial Microbiology**, v.19, p.117-131, 1978.
- GARCÍA-OCHOA, F.; SANTOS, V.E.; CASAS, J. A.; GÓMEZ, E. *Xanthan gum: production, recovery and properties*. **Biotechnology Advances**, v.18, n. 7, p. 549-579, 2000.
- JANSSON, P. E.; KENNE, L.; LINDBERG, B. *Structure of the exocellular polysaccharide from Xanthomonas campestris*. **Carbohydrate Research**, v.45, n.1, p. 275-285, 1975.
- J. A. CASAS; V. E. SANTOS; F. GARCÍA-OCHOA. *Xanthan gum: production, recovery, and properties*. **Biotechnology Advances**, v. 26, n. 7, p. 282–291, 2000
- JANSSON, P. E.; KENNE, L.; LINDBERG, B. *Structure of the exocellular polysaccharide from Xanthomonas campestris*. **Carbohydrate Research**, v. 45, n.1, p.275-285, 1975.
- KATZBAUER, B. *Properties and applications of xanthan gum*. **Polymer Degradation and Stability**, v. 59, p. 81-84, 1998.
- RODRIGUES, A. Á. **Avaliação da genotoxicidade e caracterização de xantana produzida por Xanthomonas arboricola pv pruni**. 2010. 64p. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia. Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas.
- SUTHERLAND, I. W. Xanthan In: SWINGS, J. G.; CIVEROLO, E. L. **Xanthomonas**. London: Chapman and Hall, 1993. p.363-388.
- VENDRUSCOLO, C. T.; VENDRUSCOLO, J. L. S.; MOREIRA, A. da S. **WO/2006047845**. Universidade Federal de Pelotas, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. 2006.
- BURDOCK, G. A. *Encyclopedia of food and colors additives*. v.3, **Boca Raton**, CDC Press, 1997.
- FCC (2003) Xanthan gum. In *Food Chemicals Codex. 5th Edition*. **National Academy Press**, Washington, DC. p. 504-505.