

DETERMINAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE CLORO E FLÚOR EM BALAS DE ALGA MARINHA

FILIFE SOARES RONDAN; MARCELO GUERREIRO CRIZEL; DIOGO LA ROSA NOVO; RODRIGO MENDES PEREIRA; VANIZE CALDEIRA DA COSTA; MÁRCIA FOSTER MESKO

*Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas
fsrondan@gmail.com; marcia.mesko@pq.cnpq.br*

1. INTRODUÇÃO

Atualmente o consumo de alimentos a base de algas marinhas comestíveis, tem se expandido mundialmente, passando a fazer parte também da dieta ocidental (MCHUGH, 2003). Desta forma, é de suma importância a realização de um controle efetivo nestes alimentos no que se refere à possível presença de elementos capazes de causar implicações à saúde quando ingeridos em concentrações inadequadas. Cloro e flúor são exemplos de elementos a serem investigados em algas marinhas, devido a capacidade destes organismos incorporarem halogênios a partir do ambiente marinho (ROMARÍS–HORTAS et al., 2011), e dos malefícios à saúde promovidos pela ingestão de níveis elevados destes elementos (MESKO et al., 2014).

Apesar da relevância do tema, os poucos trabalhos existentes na literatura sobre determinação de halogênios em algas marinhas comestíveis e estes, geralmente, não abrangem a totalidade dos produtos alimentares à base de algas. Provavelmente, isto se deve ao fato da determinação de halogênios ser considerada uma difícil tarefa, principalmente pela elevada volatilidade destes analitos, o que pode ocasionar perdas dos mesmos durante o preparo das amostras. Estas perdas podem ser potencializadas através do uso de soluções ácidas durante a decomposição da amostra, tendo em vista a possível formação de substâncias voláteis destes elementos (NÓBREGA et al., 2006).

Como forma de minimizar estas perdas, tem sido proposto na literatura o uso de sistemas fechados e soluções alcalinas para o preparo de amostras, bem como o emprego de técnicas de combustão (KNAPP et al., 1998; NÓBREGA et al., 2006). Neste sentido, a combustão iniciada por micro-ondas (MIC) tem se destacado na decomposição de amostras variadas para a posterior determinação de halogênios com resultados satisfatórios (MESKO et al., 2010; BARBOSA et al., 2013). Neste sistema a decomposição da amostra ocorre em frasco fechado, pressurizado com oxigênio, o que reduz a ocorrência de perdas por volatilização e contaminações pelo ambiente. Além disso, há a possibilidade da escolha da solução absorvedora adequada à absorção dos analitos (FLORES et al., 2004).

No que se refere à determinação de halogênios, a cromatografia de íons (IC) tem se destacado por apresentar elevada sensibilidade e capacidade de determinação multielementar. Além disso, esta técnica tem sido empregada para determinações em soluções decompostas por MIC com sucesso (MESKO et al., 2014). A partir disto, este trabalho teve como objetivo a determinação de Cl e F em balas à base de algas marinhas comestíveis decompostas por MIC, utilizando a IC como técnica de determinação.

2. METODOLOGIA

As amostras de balas de algas marinhas comestíveis, adquiridas no comércio local de Pelotas-RS, foram separadas de acordo com a coloração e os estudos iniciais de desenvolvimento do método foram feitos com as balas de coloração amarela. Inicialmente, as balas foram cortadas em pedaços de aproximadamente 100 mg e desidratadas em dessecador preenchido com sílica. Posteriormente, massas de 0,8 g de amostra desidratada foram misturadas com 0,4 g de celulose microcristalina e prensadas na forma de comprimidos.

A decomposição das amostras foi conduzida por MIC, em um forno micro-ondas (Multiwave 3000[®], Anton Paar) equipado com frascos de quartzo, sob temperatura e pressão máximas de 280 °C e 80 bar, respectivamente. Os comprimidos de amostra foram dispostos sobre suportes de quartzo contendo um papel filtro umedecido com 50 µl de NH_4NO_3 6 mol l⁻¹. Em seguida os suportes foram transferidos para os frascos de decomposição contendo 6 ml de solução absorvedora ($(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ 25, 50, 75, ou 100 mmol l⁻¹), sendo posteriormente pressurizados com 20 bar de O_2 . O programa de aquecimento utilizado envolveu as seguintes etapas: *i*) 1400 W por 40 s; *ii*) 0 W por 2 min e 30 s; *iii*) 1400 W por 5 min (etapa de refluxo) e *iv*) 0 W por 20 min (etapa de resfriamento).

As determinações dos analitos foram conduzidas em um IC (IC 861, Metrohm) equipado com um sistema de supressão modelo 853 (Metrohm), uma coluna modelo Metrosep A Supp5 (Metrohm) com 250 mm de comprimento e 4 mm de diâmetro interno e uma pré-coluna modelo A Supp 4/5 Guard (Metrohm). A alça de amostragem utilizada foi de 20 µl e a taxa de vazão da fase móvel aplicada foi de 0,7 ml min⁻¹. Para comparação dos resultados, os analitos foram também determinados por potenciometria com eletrodo íon seletivo (ISE) (HI3221, Hanna).

A exatidão dos resultados para Cl foi avaliada pela decomposição do material de referência certificado (CRM) BCR 060 (*Aquatic Plant*) decomposto por MIC, utilizando $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ 50 mmol l⁻¹ como solução absorvedora. As demais condições de decomposição, bem como os resultados para F, foram avaliados mediante a realização de ensaios de recuperação dos analitos, e por comparação entre resultados.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inicialmente foram avaliadas as formas de introdução da amostra no sistema de decomposição, tendo em vista que as características físicas das balas utilizadas dificultam a prensagem das mesmas. Assim, após a avaliação da utilização da amostra disposta diretamente no papel filtro com a solução de ignição, envolvida em filmes de polietileno, envolvidas em papel filtro ou prensadas com celulose, foi possível obter a combustão completa da amostra quando as balas foram prensadas misturadas à celulose microcristalina. Após esta etapa foi feito um estudo da proporção de amostra e auxiliar, para possibilitar a queima de uma maior massa de amostra e também foi necessário um estudo do programa de irradiação de micro-ondas. A massa máxima de amostra que pode ser decomposta completamente foi de 800 mg e foi necessária a utilização de 400 mg de celulose microcristalina, como auxiliar de combustão. Desta forma, foi necessário estabelecer um intervalo de 2 min no programa de irradiação de micro-ondas após a etapa de ignição, para que

ocorresse a queima da amostra e, posteriormente, a solução absorvedora entrasse em ebulição para a aplicação da etapa de refluxo.

Após a otimização de todos os parâmetros para a completa decomposição das amostras por MIC, foi feita a avaliação da solução mais adequada para a absorção de Cl e F e posterior determinação por IC. Para tanto, soluções de carbonato de amônio foram avaliadas e os resultados obtidos para os analitos estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Concentrações de Cl e F determinadas por IC em balas de algas marinhas decompostas por MIC, utilizando concentrações variadas de $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ como solução absorvedora (n=3).

$(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ mmol l ⁻¹	Concentração ($\mu\text{g g}^{-1}$)	
	Cl	F
25	862 ± 81	2,31 ± 0,14
50	772 ± 67	2,43 ± 0,12
75	753 ± 75	2,38 ± 0,16
100	845 ± 83	2,56 ± 0,18

Com base nos resultados apresentados na Tabela 1, não foram verificadas diferenças significativas (teste de tukey, 95% de confiança) entre os resultados obtidos para ambos os analitos nas diferentes concentrações de solução absorvedora avaliadas. Além disso, foi possível verificar que a concentração de F na amostra avaliada é bastante inferior à concentração de Cl, independente da concentração de solução absorvedora utilizada.

A avaliação da exatidão mediante emprego de CRM com concentração informada de Cl, utilizando $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ 50 mmol l⁻¹ como solução absorvedora no procedimento por MIC, apresentou concordância satisfatória (> 97%) entre os valores obtido ($9728 \pm 168 \mu\text{g g}^{-1}$) e informado ($10000 \mu\text{g g}^{-1}$) para este elemento. Isto garante a confiabilidade dos resultados obtidos com o uso desta condição, bem como das demais condições cujos resultados não diferem significativamente.

Ainda, cabe ressaltar que as concentrações obtidas para Cl por IC foram concordantes com os resultados obtidos para este mesmo elemento quando determinado por ISE, o que promove maior confiança aos resultados alcançados.

Com relação à exatidão dos resultados determinados para F, esta pôde ser comprovada através das recuperações satisfatórias (> 95%) obtidas a partir dos ensaios de recuperação realizados em todas as concentrações de solução absorvedora avaliadas.

A partir disto, selecionou-se a solução de $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ 50 mmol l⁻¹ como a mais adequada à absorção dos analitos, tendo em vista sua concordância com o valor certificado e melhores recuperações por adição de concentrações conhecidas de ambos os analitos.

Os limites de detecção obtidos pelos métodos utilizados foram de $127 \mu\text{g g}^{-1}$ para Cl, e $0,63 \mu\text{g g}^{-1}$ para F.

A partir dos resultados obtidos até o momento, este trabalho terá continuidade com a aplicação do método para avaliação da concentração de Cl e F em balas de

algas marinhas com colorações diversas para verificar se isto influencia na concentração dos analitos.

4. CONCLUSÕES

Diante dos resultados apresentados, pode-se concluir que o uso da MIC associado à determinação por IC foi adequado para a determinação de Cl e F em balas de algas marinhas com boa precisão e exatidão. Desta forma, este trabalho deve ser continuado, com a determinação destes mesmos analitos em balas de algas marinhas com outras colorações, com o intuito de verificar a contribuição dos corantes nas concentrações dos analitos.

Além disso, o preparo das amostras por MIC possibilita o uso de pequenos volumes de reagentes, atendendo um dos princípios da química verde, no que diz respeito à baixa geração de resíduos.

Os autores agradecem a CAPES, CNPq e FAPERGS pelas bolsas de estudo e apoio financeiro na execução do projeto.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARBOSA, J. T. P.; SANTOS, C. M. M.; BISPO, L. S.; LYRA, F. H.; DAVID, J. M.; KORN, M. G. A.; FLORES, E. M. M. **Food Analytical Methods**, v. 6, p. 1065, 2013.

FLORES, E. M. M.; BARIN, J. S.; PANIZ, J. N. G.; MEDEIROS, J. A.; KNAPP, G. Microwave-assisted sample combustion: a technique for sample preparation in trace element determination. **Analytical Chemistry**, v.76, n.13, p.3526-3529, 2004.

KNAPP, G.; MAICHIN, B.; FECHER, P.; HASSE, S.; SCHRAMMEL, P. Iodine determination in biological materials - options for sample preparation and final determination. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**, v.362, p.508-513, 1998.

MCHUGH, D. J. **A guide to the seaweed industry**, FAO: Roma, 2003.

MESKO, M. F.; TORALLES, I. G.; CRIZEL, M. G.; COSTA, V. C.; PIRES, N. R. X.; PEREIRA, C. M. P.; PICOLOTO, R. S.; MELLO, P. A. Determinação de bromo e iodo em alga marinha comestível por icp-ms após decomposição por combustão iniciada por micro-ondas. **Química Nova**, Vol. 37, No. 6, p. 964-968, 2014.

MESKO, M. F.; MELLO, P. A.; BIZZI, C. A.; DRESSLER, V. L.; KNAPP, G.; FLORES, E. M. M. Iodine determination in food by inductively coupled plasma mass spectrometry after digestion by microwave-induced combustion. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v.398, p.1125-1131, 2010.

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**, v.61, p.465-495, 2006.

ROMARÍS-HORTAS, V.; GARCÍA-SARTAL, C.; BARCIELA-ALONSO, M. C.; DOMÍNGUEZ-GONZÁLEZ, R.; MOREDA-PIÑEIRO, A.; BERMEJO-BARRERA, P. Bioavailability study using an in-vitro method of iodine and bromine in edible seaweed. **Food Chemistry**, v.124, p.1747-1752, 2011.