

AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE CLORO EM ALGAS MARINHAS COMESTÍVEIS POR CROMATOGRAFIA DE ÍONS APÓS DECOMPOSIÇÃO POR COMBUSTÃO INICIADA POR MICRO-ONDAS

GILBERTO DA SILVA COELHO JUNIOR; ISIS GONÇALVES TORALLES; VANIZE CALDEIRA DA COSTA; CARLA DE ANDRADE HARTWIG; MÁRCIA FOSTER MESKO.

Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas - gilbertocoelhojunior@hotmail.com; marcia.mesko@pq.cnpq.br.

1. INTRODUÇÃO

As algas marinhas apresentam grande importância no mercado alimentício, dada a sua capacidade de fornecer diversos nutrientes para o organismo humano, como proteínas, fibras, vitaminas e minerais (RAJA; VIPIN; AIYAPPAN, 2013).

Por serem organismos de habitat marinho, podendo ser encontradas pelo litoral de diversos continentes, as algas comestíveis são susceptíveis à incorporação de teores significativos de vários elementos presentes na água do mar. Um exemplo de elemento que pode ser incorporado a partir do ambiente marinho é o cloro (Cl), assim, as algas marinhas comestíveis podem se tornar fontes deste elemento para o organismo humano (CORNELIS et al., 2005).

Nesse sentido, é importante mencionar que o Cl apresenta papel fundamental para a fisiologia do organismo humano, visto que, juntamente ao sódio e/ou potássio, participa da distribuição e equilíbrio da água nos diferentes tecidos corporais. Entretanto, em concentrações elevadas no organismo, este mineral pode acarretar em diferentes implicações a saúde como, por exemplo, acidose metabólica, problemas renais, hipertensão arterial, entre outros (BORSOI, 1995).

Desta forma, o desenvolvimento de métodos que possibilite a determinação de Cl em algas marinhas comestíveis torna-se relevante. Entretanto, assim como os demais halogênios, as determinações de Cl constituem um desafio, tendo em vista a possibilidade de formação de substâncias voláteis, com consequente perda do analito, durante a etapa de preparo da amostra que antecede a determinação. Diante disto, o emprego de soluções alcalinas e sistemas fechados têm sido preconizados quando se objetiva a minimização destes inconvenientes (NÓBREGA et al., 2006).

Neste sentido, o uso da combustão iniciada por micro-ondas (MIC) tem se mostrado bastante satisfatório para a decomposição de amostras previamente à determinação de Cl a partir de matrizes diversas, visto que além da decomposição completa da amostra em sistema fechado, possibilita a escolha da solução absorvedora adequada ao analito e a técnica de determinação selecionada (PEREIRA et al., 2008).

Dentre as técnicas analíticas relatadas na literatura para a determinação de Cl em amostras variadas, a cromatografia de íons (IC) destaca-se pela elevada sensibilidade e adequabilidade à determinação de reduzidas concentrações deste elemento. Além disso, a técnica também apresenta relativa rapidez e baixo custo, quando comparada a outras técnicas de determinação (MELLO et al., 2013).

Desta forma, este trabalho teve como objetivo a determinação de Cl por cromatografia de íons em algas marinhas comestíveis após decomposição das amostras por MIC. Além disso, foi feita uma avaliação das concentrações deste elemento em algas lavadas e não lavadas com água, para avaliar se o processo de lavagem influencia na disponibilidade deste elemento neste tipo de alimento.

2. METODOLOGIA

Neste estudo, foram avaliados 5 tipos de algas marinhas comestíveis: 3 obtidas no comércio local de São Paulo/SP/Brasil (Hidaka-Kombu (*Laminaria angustata*), Hijiki (*Hizikia fusiforme*) e Wakame (*Undaria pinnatifida*)), e 2 obtidas no comércio local de Cincinnati/Ohio/EUA (Kombu (*Laminaria japonica*) e Nori (*Porphyra spp.*)) Sobre a origem das mesmas, cabe destacar que as algas dos tipos Wakame e Nori são de origem chinesa, as algas dos tipos Hidaka-Kombu e Hijiki de origem japonesa e a alga do tipo Kombu de origem coreana.

Com o intuito de verificar se o Cl está disponível ou não de forma majoritária na superfície das algas marinhas, as amostras foram avaliadas com e sem lavagem prévia em água ultrapura, sob temperatura ambiente, sendo utilizado, aproximadamente, 30 ml de água ultrapura para cada 1 g de amostra a ser lavada.

Em ambas as condições, as amostras de algas marinhas foram secas em estufa (modelo 400/2ND, Nova Ética, Basil) a 100 °C por 8 h, sendo, posteriormente, moídas em moinho analítico (modelo Q298A21, Quimis[®], Brasil). O conteúdo mineral presente na matriz das amostras foi determinado por calcinação em forno tipo mufla a 525 °C, por 3 h (Horwitz and Latimer, 2011).

Para a subsequente determinação de Cl nos diferentes tipos de algas marinhas comestíveis, lavadas e não lavadas com água, as amostras foram previamente decompostas por MIC em um forno micro-ondas Multiwave 3000[®] (Anton Paar, Áustria) equipado com 8 frascos de quartzo (80 ml, 80 bar e 280 °C).

As amostras de alga (550 mg) foram, inicialmente, preparadas na forma de invólucros com filmes de polietileno (com dimensões de 8 x 8 cm e massa de aproximadamente 30 mg), os quais foram fechados com o auxílio de uma pinça e selados por aquecimento. Posteriormente, os invólucros foram posicionados na base de suportes de quartzo contendo um disco de papel filtro umedecido com 50 µl de NH_4NO_3 6 mol l⁻¹. Na sequência, os suportes contendo as amostras foram inseridos no interior de frascos de quartzo contendo 6 ml de solução absorvedora de $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ 150 mmol l⁻¹. A seguir, os frascos foram fechados e pressurizados com 20 bar de O₂, durante 50 s. O programa de irradiação utilizado para a decomposição das amostras por MIC foi de 1400 W por 5 min (etapa de combustão + refluxo), seguido de 0 W por 20 min (etapa de resfriamento) (MESKO et al., 2014). Em seguida, as soluções obtidas foram analisadas em um cromatógrafo de íons modelo IC 861 (Metrohm, Suíça). Para avaliar a exatidão do método proposto, foi realizada a decomposição de 400 mg do material de referência certificado (CRM) de planta aquática (BCR 060), seguindo o mesmo procedimento das amostras.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com base nos relatos da literatura a respeito da constituição majoritária das algas marinhas comestíveis como, por exemplo, o elevado conteúdo proteico (até 31%) e elevado conteúdo de minerais (até 26%), pode-se verificar que se tratam de matrizes de relativa complexidade (SANCHÉZ-MACHADO et al., 2004). Neste sentido, especial atenção deve ser dada a etapa de decomposição das amostras e, para tanto, o método de combustão iniciada por micro-ondas mostrou-se adequado para este tipo de matriz, conforme reportado por MESKO et al., 2014. Desta forma, considerando que os autores utilizaram massas de amostras de até 500 mg, quando objetivaram a determinação de Br e I em algas comestíveis, e que o uso de massas mais elevadas favorecem uma melhor representatividade e melhores limites de detecção, neste trabalho foram avaliadas decomposições de massas entre 500 e 600 mg. Contudo, decomposições satisfatórias foram obtidas para massas de até 550 mg e, provavelmente, a queima de uma massa mais elevada não foi possível devido a

necessidade de uma maior quantidade de oxigênio, o que provavelmente não seria suportado pelo sistema de introdução de O₂, assim como, pelo sistema de decomposição.

Assim, utilizando-se uma a massa de 550 mg, foi possível obter um limite de detecção (LDs = 3s, n=10) adequado (500 µg g⁻¹) e uma pressão máxima no sistema inferior a 32 bar, o que representa cerca de 40% da pressão máxima de trabalho recomendada pelo fabricante (80 bar). Portanto, o programa de combustão utilizado foi considerado como adequado e seguro para os estudos subsequentes.

A exatidão do método empregado para a determinação de Cl nas amostras foi avaliada a partir da decomposição do CRM BCR 060, sendo obtida concordância superior a 91% com o valor informado para Cl (valor encontrado: 9114 ± 106 µg g⁻¹, valor informado: 10000 µg g⁻¹).

Assim, após definida as melhores condições e avaliada a exatidão do método proposto, este foi aplicado para a decomposição de algas marinhas comestíveis para posterior determinação de Cl. Na Tabela 1, estão apresentados os resultados obtidos para as determinações de Cl, e cinzas nos diferentes tipos de algas marinhas comestíveis lavadas e não lavadas com água.

Tabela 1. Concentrações de Cl determinadas por IC em 5 tipos de algas marinhas comestíveis após decomposição por MIC, e respectivos teores de cinzas, determinados por análise gravimétrica (n=3).

Alga	Cloro (µg g ⁻¹)		Cinzas (%)	
	Alga não lavada	Alga lavada	Alga não lavada	Alga Lavada
Hidaka-Kombu ^a	24833 ± 1711	6251 ± 552	26,8 ± 1,6	16,2 ± 0,8
Kombu ^c	16059 ± 972	8505 ± 479	19,5 ± 1,1	16,3 ± 0,8
Wakame ^b	41525 ± 3097	16167 ± 1131	23,6 ± 1,2	18,7 ± 0,9
Hijiki ^a	2522 ± 153	1105 ± 62	14,8 ± 0,7	14,2 ± 0,7
Nori ^b	7809 ± 404	3116 ± 239	14,5 ± 0,7	8,3 ± 0,4

Origem das algas marinhas: (a) Japonesa, (b) Chinesa e (c) Coreana.

Em relação às determinações de Cl nas amostras de algas marinhas comestíveis, verificou-se uma ampla faixa de variação para a concentração de Cl obtida nos diferentes tipos de algas marinhas comestíveis investigadas, sendo que a alga do tipo Wakame foi a que apresentou uma concentração consideravelmente maior. Amplas faixas de variação de concentração de Cl em algas marinhas são também relatadas por outros autores (HOU; YAN, 1998), os quais associam este comportamento à idade da alga, condição climática e localização geográfica (LEE; LEWIS; BUSS, 1994). Além disso, cabe destacar que as diferentes concentrações de Cl obtidas por outros autores em amostras de algas marinhas podem estar relacionadas, em parte, com os métodos analíticos utilizados, tendo em vista que em muitos trabalhos não são apresentadas informações que garantam a precisão e exatidão dos mesmos. Por último, deve-se levar em consideração que, possivelmente, os tipos de algas comestíveis estudados não são preparados da mesma forma, previamente à comercialização, o que pode acarretar em uma lixiviação de Cl diferente para cada processo utilizado.

Cabe também ressaltar, que foi possível verificar uma redução considerável na concentração de Cl nos diferentes tipos de algas marinhas que sofreram processo de lavagem previamente às análises. Comportamento semelhante foi observado para os teores de cinzas, de forma que é possível estimar que acima de 47% do Cl contido nas algas é proveniente do sal do mar distribuído na superfície das mesmas.

4. CONCLUSÕES

O método utilizando MIC e IC mostrou-se adequado para a determinação de Cl em algas marinhas comestíveis, tendo em vista que apresentou uma exatidão satisfatória, e permitiu a determinação de Cl em uma ampla faixa de concentração, viabilizando, assim, a obtenção de importantes informações com relação às concentrações de Cl nestes alimentos. Além disso, o uso da MIC possibilita o uso de soluções diluídas para a absorção dos analitos, minimizando a geração de resíduos, o que está de acordo com o preconizado pela química verde, além de permitir a obtenção de soluções adequadas a grande parte das técnicas de determinação disponíveis.

Por último, cabe mencionar também que, embora tenham sido observadas elevadas concentrações de Cl nos diferentes tipos de algas marinhas comestíveis estudadas, grande parte das concentrações obtidas são referentes à presença de sal na superfície das algas.

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

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BORSOI, M. A. **Nutrição e dietética**. São Paulo: Senac São Paulo, 1995.
- HOU, X.; YAN, X. Study on the concentration and seasonal variation of inorganic elements in 35 species of marine algae. **The Science of Total Environment**, Netherlands, n.222, p.141-156, 1998.
- LEE, S.; LEWIS, J.; BUSS, D. H. Iodine in British foods and diets. **British Journal of Nutrition**, Inglaterra, v.72, p.435-446, 1994.
- MELLO, P. A.; BARIN, J. S.; DUARTE, F. A.; BIZZI, C. A.; DIEHL, L. O.; MULLER, E. I.; FLORES, E. M. M. Analytical methods for the determination of halogens in bioanalytical sciences: a review. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, n.405, p.7615-7642, 2013.
- MESKO, M. F.; TORALLES, I. G.; CRIZEL, M. G.; COSTA, V. C.; PIRES, N. R. X.; DE PEREIRA, C. M. P.; PICOLATO, R. S.; MELLO, P. A. **Q. Nova, in press**, 2014.
- NÓBREGA, J. A.; SANTOS, M. C.; SOUSA, R. A.; CADORE, S.; BARNES, R. M.; TATRO, M. Review: Sample preparation in alkaline media. **Spectrochimica Acta Part B**. Tramoyses, v.61, p.465-495, 2006.
- PEREIRA, J. S. F.; DIEHL, L. O.; DUARTE, F. A.; SANTOS, M. F. P.; GUIMARÃES, R. C. L.; DRESSLER, V. L.; FLORES, E. M. M. Chloride determination by ion chromatography in petroleum coke after digestion by microwave-induced combustion. **Journal of Chromatography A**, Netherlands, v.1213, n.2, p.249-252, 2008.
- RAJA A.; VIPIN C.; AIYAPPAN A. Biological importance of Marine Algae- An overview. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, India, v.2, n.5, p.222-227, 2013.
- SANCHÉZ-MACHADO, D. I.; CERVANTES, J. L.; HERNÁNDEZ, J. L.; LOSADA, P. P. **Food Chemistry**, n.85, p.439-452, 2004.
- WORWITZ, W. LATIMER, G. W. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. Gaithersburg: AOAC International, 2011.
- WUILLOUD, R.; ALTAMIRANO, J. In: CORNELIS, R. CARUSO, J.; CREWS, H.; HEUMANN, K. Handbook of elemental speciation II - Species in the environment, food, medicine and occupational health. **John Wiley & Sons**, Ltd: England, cap. 2.24 2005.