

DETERMINAÇÃO DE Cl e S EM OVO EM PÓ POR CROMATOGRÁFIA DE ÍONS APÓS DECOMPOSIÇÃO POR COMBUSTÃO INICIADA POR MICRO-ONDAS

ISIS GONÇALVES TORALLES; GILBERTO DA SILVA COELHO JR.; MARCELO GUERREIRO CRIZEL; CARLA DE ANDRADE HARTWIG; MÁRCIA FOSTER MESKO

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

1. INTRODUÇÃO

Os ovos são considerados alimentos ricos em termos nutricionais, em virtude de fornecer todos os aminoácidos, inclusive os essenciais, em quantidades suficientes para a manutenção e crescimento do organismo humano. Além disso, os ovos constituem uma importante fonte de vitaminas, sobretudo, vitamina D, ácidos graxos insaturados (oléico e linoléico) e minerais (KOBLOITZ, 2011).

Dentre os minerais que merecem atenção especial, pode-se destacar o cloro e o enxofre que quando absorvidos na sua forma aniônica (Cl^- , SO_4^{2-}), em elevadas quantidades, afetam o balanço catiônico-aniônico com uma mudança para o estado negativo (também conhecido como acidose metabólica). Em longo prazo, o balanço catiônico-aniônico é mantido através da reabsorção renal de bicarbonato e eliminação de íons H^+ , que resultam na diminuição do pH urinário, o qual é responsável pela formação de urólitos, e conseqüentemente, pela obstrução do trato urinário do organismo (LEAL., LEITE Jr., MAFRA, 2008).

Neste contexto, diante dos problemas que podem ser desencadeados no organismo a partir de uma alimentação inadequada, faz-se necessário o desenvolvimento de um método para a determinação destes elementos.

O preparo de amostras, com vistas a determinação desses elementos, geralmente, é considerado um problema analítico, em conseqüência da elevada volatilidade dos analitos e da possibilidade de contaminação durante o preparo e a análise das amostras. Como alternativa, a combustão iniciada por micro-ondas (MIC), associada ao uso de soluções alcalinas, tem sido utilizada com sucesso para o preparo de diferentes matrizes, visando à determinação de elementos voláteis e não voláteis (KRUG., 2010).

Apesar das técnicas espectrométricas serem bem sucedidas e apresentarem características importantes, como reprodutibilidade, elevada sensibilidade e seletividade, a técnica de cromatografia de íons (IC) vem sendo empregada com sucesso para a quantificação de elementos como Cl e S. Além disso, quando comparada com as técnicas espectrométricas, a IC proporciona um custo relativamente menor, no que tange a realização das análises e a necessidade de manutenção (KENDALL et al. 1995; MELLO et al. 2013).

Desta forma, tendo em vista a grande importância de se conhecer as concentrações de Cl e S em alimentos, este trabalho teve como objetivo desenvolver um método para a determinação de Cl e S em ovo em pó.

2. METODOLOGIA

Para este estudo, foram adquiridas amostras de ovo em pó no comércio local de Pelotas/RS. Inicialmente, as amostras foram misturadas em um

multiprocessador modelo All In One 2 (Philco, Brasil) e, posteriormente, armazenadas em frascos de polietileno.

Com o intuito de obter mais informações da matriz da amostra, foi realizado um estudo de caracterização físico-química, onde foi avaliado o teor de umidade, o teor de cinzas, o teor de proteína bruta, bem como o teor de lipídeos das amostras estudadas. O teor de umidade foi obtido por meio da secagem da amostra a 105 °C até peso constante e o teor de cinzas, por calcinação em forno tipo mufla a 525 °C por 3 h (Horwitz and Latimer, 2011). Enquanto, o teor de proteína bruta, foi determinado pelo método de Kjeldahl e o teor de lipídios foi avaliado pelo método de Mojonnier (adaptado de Horwitz and Latimer, 2011).

Para a decomposição por MIC, foi utilizado um forno micro-ondas Multiwave 3000[®] (Anton Paar, Áustria), equipado com 8 frascos de quartzo (80 ml, 80 bar e 280 °C). As amostras (400 mg), previamente secas em estufa modelo 400/2ND (Nova Ética, Brasil) a 85 °C por 8 h, foram umedecidas com 100 µl de NH₄NO₃ (6 mol l⁻¹) e preparadas na forma de invólucros com filmes de polietileno (com dimensões de 8 x 8 cm, massa de aproximadamente 30 mg), os quais foram selados por aquecimento. Feito isso, os invólucros foram colocados na base de suportes de quartzo contendo discos de papel filtro, previamente umedecidos com 50 µl de NH₄NO₃ (6 mol l⁻¹). A seguir, os suportes de quartzo foram inseridos no interior de frascos de quartzo contendo 6 ml de solução absorvedora. Como solução absorvedora, foram avaliadas água ultrapura, Na₂CO₃ (13,3 mmol l⁻¹)/NaHCO₃ (4,2 mmol l⁻¹) e NH₄OH (10 ou 75 mmol l⁻¹). Posteriormente, os frascos de quartzo 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: *i*) 1400 W por 1 min; *ii*) 0 W por 1 min; *iii*) 1400 W por 5 min; *iiii*) 0 W por 20 min. Em seguida, as soluções obtidas foram avolumadas a 25 ml e analisadas em um cromatógrafo de íons modelo IC 861 (Metrohm, Suíça).

Ainda, cabe destacar que o pH das soluções absorvedoras, medidos em um pHmetro digital modelo pH21 (Hanna, Brasil), após a decomposição das amostras por MIC, foi outro parâmetro avaliado e considerado na escolha da solução absorvedora.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A avaliação dos constituintes majoritários presentes em amostras de ovo em pó é de suma importância para o conhecimento da matriz onde Cl e S podem estar presentes. Para as amostras de ovo em pó avaliadas os teores de umidade (2,9 ± 0,1%) e de cinzas (3,7 ± 0,1%) foram consideravelmente baixos, quando comparados com os teores de proteína bruta (39 ± 3%) e de lipídios (31 ± 6%) obtidos. Todavia, estes resultados encontram-se de acordo com as faixas de variação relatadas na literatura para estes constituintes em amostras de ovo em pó (teor de umidade: 3 a 5%; teor de cinzas: 3 a 6%; teor de proteína bruta: 41 a 49%; teor de lipídios: 33 a 46%). Possivelmente, as variações relatadas na literatura para estes parâmetros encontram-se associadas ao tipo de alimentação, criação e raça das aves (AQUINO et al. 2008; AYADI et al. 2008; KOBLITZ, 2011).

Como apresentado anteriormente, o ovo em pó apresenta um conteúdo proteico (39%) e lipídico (31%) relativamente alto, o que pode resultar em decomposições incompletas das amostras, após serem submetidas à etapa de decomposição. Assim, foram avaliadas massas de amostra entre 100 e 450 mg, entretanto, somente foram obtidas decomposições satisfatórias até 400 mg. Provavelmente, a queima de massas mais elevadas não tenha sido completa,

devido à quantidade de oxigênio utilizada não ter sido suficiente para a oxidação total da matéria orgânica. Dentro deste contexto, cabe destacar que a concentração de oxigênio no sistema de decomposição não pode ser aumentada, tendo em vista as limitações do sistema utilizado para a introdução de oxigênio, bem como do sistema de decomposição.

Deste modo, optou-se por utilizar 400 mg de amostra para a decomposição por MIC, e a pressão máxima atingida no sistema após a combustão foi inferior a 42 bar, o que representa cerca de 53% da pressão máxima de trabalho recomendada pelo fabricante (80 bar).

Como mencionado anteriormente, foi avaliada também a solução mais adequada para absorção de Cl e S, após a decomposição das amostras de ovo em pó por MIC, conforme proposto em diferentes trabalhos para outros tipos de matrizes (MÜLLER et al., 2011; HARTWIG et al., 2014). Assim, como pode ser observado na Tabela 1, não foram observadas diferenças significativas (95% de confiança, ANOVA) entre os resultados obtidos para Cl e S por IC, após decomposição por MIC utilizando as soluções absorvedoras avaliadas neste estudo.

Tabela 1. Determinação de Cl e S em ovo em pó por IC, após decomposição por MIC (resultados expressos em base seca, $\mu\text{g g}^{-1} \pm$ desvio-padrão, $n = 3$).

| Solução absorvedora | Cl | S |
|--|------------|------------|
| Água ultrapura ^a | 6502 ± 585 | 6985 ± 593 |
| Na ₂ CO ₃ (13,3 mmol l ⁻¹)/NaHCO ₃ (4,2 mmol l ⁻¹) ^b | 6274 ± 422 | 6912 ± 532 |
| NH ₄ OH (10 mmol l ⁻¹) ^c | 6276 ± 376 | 6817 ± 477 |
| NH ₄ OH (75 mmol l ⁻¹) ^d | 6374 ± 235 | 6626 ± 197 |

Determinação dos pHs das soluções absorvedoras avaliadas: (a), (b) e (c) – pHs entre 2 e 3; (d): pH 7,5

Dentre as soluções absorvedoras avaliadas, somente o NH₄OH 75 mmol l⁻¹ manteve o pH levemente alcalino após decomposição por MIC (pH: 7,5), conforme é recomendado na literatura para halogênio, tendo em vista que meios alcalinos favorecem a formação de compostos não voláteis com os halogênios (KNAPP et al. 1998; AL-AMMAR, REITZNEROVÁ, BARNES, 2001). Assim, para amostras de ovo em pó que apresentem concentrações de Cl muito superiores as quantificadas neste trabalho, possivelmente, as demais soluções estudadas não sejam consideradas adequadas. Todavia, é imprescindível que sejam realizados estudos adicionais que permitam avaliar a exatidão dos métodos utilizando essas soluções, bem como a aplicabilidade das mesmas para concentrações de Cl e S superiores as determinadas neste estudo.

Sendo assim, diante do que foi avaliado até o momento, acredita-se que para a determinação simultânea de Cl e S, o uso da solução de NH₄OH 75 mmol l⁻¹ seja a escolha mais adequada, levando em consideração que esta solução poderá contribuir de um modo mais efetivo com a manutenção do pH em uma faixa mais adequada. Ademais, cabe destacar que, com esta solução, foi possível obter os menores RSDs (< 4%), o que demonstra que o uso de NH₄OH 75 mmol l⁻¹ possibilitou resultados com boa precisão.

4. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos, pode-se concluir que o método desenvolvido utilizando MIC e IC mostrou-se adequado para a determinação de Cl e S em ovo em pó. Além disso, cabe destacar que o método desenvolvido apresenta vantagens, como eficiência de decomposição, permite o uso de soluções adequadas aos analitos e a técnica de determinação, bem como de soluções diluídas no preparo das amostras.

Por fim, é importante salientar que estudos adicionais ainda serão realizados, com vistas na avaliação da exatidão e da aplicabilidade do método para outras amostras.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AL-AMMAR, A.; REITZNEROVÁ, E.; BARNES, R. M.; Thorium and iodine memory effects in inductively-coupled plasma mass spectrometry. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**, Áustria, v.370, p.479-482, 2001.
- AQUINO, J. S.; DA SILVA, J. A.; CALDAS, M. C. S.; MASCARENHAS, R. J. Avaliação centesimal e sensorial do macarrão massa fresca tipo espaguete elaborado com ovo desidratado de avestruz. **Revista Ceres**, Brasil, v.55, n.3, p.173-178, 2008.
- AYADI, M. A.; KHEMAKHEM, M.; BELGITH, H.; ATTIA, H. Effect of Moderate Spray Drying Conditions on Functionality of Dried Egg White and Whole Egg. **Journal Of Food Science**, EUA, v.73, n.6, p.281-287, 2008.
- HARTWIG, C. A.; TORALLES, I. G.; CRIZEL, M. G.; MULLER, A. L. H.; PICOLOTO, R. S.; FLORES, É. M. M.; MESKO, M. F. Determination of Bromine and Iodine in Shrimp and its Parts by ICP-MS after Decomposition using Microwave-Induced Combustion. **Analytical Methods**, Irlanda, 2014 (*in press*).
- KENDALL, D. S.; SCHOENWALD, S. D.; SIAO, M.; HENDRICKS, S. The Determination of Sulfur and Chlorine in Used Oil by X-Ray Fluorescence, ICP and Ion Chromatography. **Hazardous Waste & Hazardous Materials**, Colorado, v.12, n.4, p.373-380, 1995.
- KNAPP, G.; MAICHIN, B.; FECHER, P.; HASSE, S.; SCHRAMEL, P. Iodine determination in biological materials - options for sample preparation and final determination. **Fresenius J. Analytical Chemistry**, Áustria, v.362, n.6, p.508-513, 1998.
- KOBLITZ, M. G. B. Matérias-primas Alimentícias: Composição e Controle de Qualidade. **Guanabara Koogan**, Rio de Janeiro, 2011.
- LEAL, V. O.; LEITE JÚNIOR, M.; MAFRA, D. Acidose metabólica na doença renal crônica: abordagem nutricional. **Revista de Nutrição**, Brasil, v.21, n.1, p.93-103, 2008.
- 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**, v.405, p.7615-7642, 2013.
- MÜLLER, A. L. H.; BIZZI, C. A.; PEREIRA, J. S. F.; MESKO, M. F.; MORAES, D. P.; FLORES, E. M. M.; MULLER, E. I. Bromine and Chlorine Determination in Cigarette Tobacco using Microwave-Induced Combustion and Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, Brasil, v.22, n.9, p.1649-1655, 2011.
- WORWITZ, W. LATIMER, G. W. Official Methods of Analysis of AOAC International. **AOAC International**, Gaithersburg, 2011.