

DETERMINAÇÃO DE S E P EM SUPLEMENTO ESPORTIVO APÓS DECOMPOSIÇÃO COM ÁCIDOS DILUÍDOS ASSISTIDA POR RADIAÇÃO MICRO-ONDAS SOB PRESSÃO DE O₂

MARCELO GUERREIRO CRIZEL; FILIPE SOARES RONDAN; VANIZE CALDEIRA DA COSTA; RODRIGO MENDES PEREIRA; ISIS GONÇALVES TORALLES; MÁRCIA FOSTER MESKO

Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas,
Pelotas-RS.

necocrizel2008@hotmail.com; marcia.mesko@pq.cnpq.br

1. INTRODUÇÃO

Suplementos vitamínicos e minerais são comercializados livremente, sem a necessidade de prescrição e orientação médica. O fácil acesso a esses produtos tem preocupado as unidades de saúde, tendo em vista que pesquisas têm demonstrado que uma inadequada ingestão de suplementos pode ocasionar mais danos que benefícios ao corpo humano (TRIPP, 1997). Assim, faz-se necessário o controle da concentração de constituintes presentes nesses suplementos, especialmente dos minerais, uma vez que estes participam de diversas funções fisiológicas e, se ingeridos em excesso, podem ocasionar danos ao organismo (UNESCO, 2013). Contudo, para fazer esta avaliação é necessária a utilização de métodos eficientes para a decomposição de amostras e técnicas de determinação com sensibilidade adequada.

Neste sentido, sistemas fechados de decomposição de amostras assistidos por radiação micro-ondas (MW-AD, do inglês *Microwave-assisted Digestion*), com uso de ácidos concentrados, vêm sendo utilizados para o preparo de diferentes tipos de amostras. Entretanto, o uso de ácidos concentrados expõe o analista a riscos, além de gerar efluentes com elevada concentração ácida, e requerer a diluição dos digeridos previamente à determinação dos analitos, o que dificulta a quantificação de elementos em nível traço (BIZZI et al., 2010).

Dentro deste contexto, uma alternativa promissora trata-se da decomposição por via úmida assistida por radiação micro-ondas em sistema fechado utilizando ácidos diluídos. Todavia, para que ocorra a decomposição efetiva da matéria orgânica na presença de ácidos diluídos, faz-se necessário o uso de um auxiliar de decomposição. Na decomposição por via úmida assistida por micro-ondas sob pressão de O₂ (MW-O₂-AD do inglês *Microwave Pressure of Oxygen Assisted Digestion*) o oxigênio é utilizado como um auxiliar de decomposição, uma vez que este promove a regeneração do ácido e, com isso, aumenta a eficiência da decomposição das amostras. Esta estratégia permite uma decomposição eficiente com mínimo consumo de ácidos e outros reagentes concentrados (BIZZI et al., 2010).

Desta forma, considerando que a MW-O₂-AD não foi aplicada até o momento para amostras de suplementos alimentícios, este trabalho teve por objetivo desenvolver um método para a decomposição de suplementos esportivos, com elevado teor proteico, utilizando o sistema MW-O₂-AD para a subsequente determinação de S e P por IC.

2. METODOLOGIA

As amostras de suplementos vitamínicos, com elevado teor proteico, foram adquiridas na cidade de Pelotas e, inicialmente, secas em estufa a 65 °C por 4 h.

Para a decomposição por MW-O₂-AD foram utilizadas massas de até 0,85 g de amostra, as quais foram transferidas para os frascos de quartzo, onde foram adicionados 6 ml de HNO₃ (1, 3, 5, 7 ou 14 mol l⁻¹). Após, os frascos foram fixados no rotor, pressurizados com oxigênio (5 ou 15 bar) e levados ao forno micro-ondas Multiwave 3000 (Anton-Paar), sendo submetidos ao seguinte programa de irradiação: *i*) rampa de aquecimento de 5 min, até 1000 W; *ii*) 1000 W por 10 min, e *iii*) 0 W por 20 min (etapa de resfriamento). A escolha das concentrações das soluções de HNO₃ e das pressões de O₂ avaliadas foi realizada de acordo com trabalho recentemente proposto para amostras biológicas (BIZZI et al., 2010).

Para avaliar os resultados obtidos pelo método proposto (MW-O₂-AD), utilizou-se a decomposição por MW-AD como um método de referência. Para este procedimento, foram utilizadas 0,85 g de amostras, as quais foram transferidas para frascos de quartzo, onde foram adicionados 6 ml de HNO₃ concentrado (65% m/m). Posteriormente, os frascos foram fechados e levados à cavidade do forno micro-ondas Multiwave 3000 (Anton-Paar). O programa de irradiação utilizado seguiu as mesmas etapas do método proposto.

As soluções obtidas após a decomposição das amostras de suplementos por MW-AD e MW-O₂-AD foram analisadas em um cromatógrafo de íons modelo IC 861 (Metrohm).

A curva de calibração utilizada foi preparada após a diluição dos sais de (KH₂PO₄) e (Na₂SO₄) em água ultrapura. A faixa de concentração foi de 0,25 a 2 mg l⁻¹ para PO₄⁻³ e SO₄⁻². Como fase móvel para o IC, foi utilizada uma solução contendo carbonato de sódio (Na₂CO₃) 3,2 mmol l⁻¹ e bicarbonato de sódio (NaHCO₃) 1 mmol l⁻¹, conforme especificação do fabricante.

Após terem sido definidas as melhores condições para a decomposição por MW-O₂-AD, a exatidão do método foi avaliada por meio do material de referência certificado (CRM) BCR 060 (*Aquatic plant*) decomposto juntamente com a amostra.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a decomposição das amostras de suplemento por MW-O₂-AD utilizando HNO₃ 1 mol l⁻¹, foram obtidas, para todas as pressões de O₂ avaliadas (5 ou 15 bar), soluções com coloração marrom escuro e com a presença de resíduos sólidos suspensos. Provavelmente, esse comportamento está associado a concentração de ácido utilizada não ter sido capaz de oxidar completamente a matéria orgânica presente na amostra. Desta forma, não foi realizada a introdução dessas amostras no cromatógrafo de íons para evitar danos ao equipamento.

Contudo, quando utilizado HNO₃ 3, 5, 7 ou 14 mol l⁻¹ na presença de todas as pressões de O₂ avaliadas, verificou-se uma boa decomposição da matéria orgânica, e as soluções resultantes apresentaram aspecto límpido para a maioria das concentrações, sem a presença de material particulado. Na Tabela 1 são apresentados os resultados obtidos após a decomposição por MW-O₂-AD utilizando HNO₃ 3, 5, 7 ou 14 mol l⁻¹ sob as pressões de O₂ avaliadas (5 ou 15 bar).

Tabela 1. Determinação de P e S em suplemento vitamínico por IC após decomposição por MW-AD e por MW-O₂-AD com HNO₃ 3, 5, 7 ou 14 mol l⁻¹ sob pressão de O₂ (5 ou 15 bar) e após MW-AD (µg g⁻¹, n=3).

Conc. HNO ₃	Condição	Concentração (µg g ⁻¹)	
		P	S
14 mol l ⁻¹	MW-AD	477 ± 26	312 ± 40
14 mol l ⁻¹	MW-O ₂ -AD/ 15bar	556 ± 57	252 ± 40
7 mol l ⁻¹	MW-O ₂ -AD/ 15bar	545 ± 27	338 ± 20
5 mol l ⁻¹	MW-O ₂ -AD/ 15bar	492 ± 14	453 ± 51
3 mol l ⁻¹	MW-O ₂ -AD/ 15bar	823 ± 76	730 ± 15
14 mol l ⁻¹	MW-O ₂ -AD/ 5bar	441 ± 31	173 ± 19
7 mol l ⁻¹	MW-O ₂ -AD/ 5bar	506 ± 26	229 ± 7
5 mol l ⁻¹	MW-O ₂ -AD/ 5bar	503 ± 42	328 ± 33
3 mol l ⁻¹	MW-O ₂ -AD/ 5bar	404 ± 24	455 ± 12

De acordo com a Tabela 1, pode-se observar que as concentrações obtidas para P e S após a decomposição da amostra por MW-O₂-AD utilizando HNO₃ 3 mol l⁻¹ sob pressão de O₂ de 15 bar diferiram significativamente dos demais resultados obtidos para a MW-O₂-AD. Os resultados obtidos para as condições, onde foi utilizado HNO₃ 5, 7 ou 14 mol l⁻¹, assim como os obtidos quando utilizado HNO₃ 3 mol l⁻¹ sob pressão de O₂ de 5 bar, apresentaram concordâncias menores que 63 e 67% para P e S, respectivamente, com os valores obtidos quando utilizado HNO₃ 3 mol l⁻¹ e 15 bar de O₂.

Além disso, quando avaliada a concentração de HNO₃ 3 mol l⁻¹, pode-se verificar que a medida que a pressão de O₂ foi sendo aumentada ocorreu um incremento nas concentrações de P e S obtidas. Possivelmente, o perfil observado está associado à contribuição do auxiliar na eficiência da decomposição. Assim, com o aumento da pressão de O₂ utilizada, provavelmente, a decomposição da amostra foi mais eficiente e, com isso, a concentração dos analitos em solução foi sofrendo um incremento.

Quando avaliadas concentrações de HNO₃ superiores a 3 mol l⁻¹ na MW-O₂-AD, pode-se observar, durante a determinação por IC, a sobreposição do sinal obtido para NO₃⁻ e para PO₄³⁻. Essa sobreposição está associada à elevada concentração de NO₃⁻ nas soluções obtidas após a decomposição dos suplementos com ácidos mais concentrados e, inviabiliza o uso destes quando objetiva-se determinar PO₄³⁻ em baixas concentrações por IC, dada a necessidade de sucessivas diluições, previamente a etapa de determinação.

Desta forma, a fim de avaliar a exatidão do método proposto (MW-O₂-AD), foi decomposto o material de referência certificado BCR 060 (*Aquatic plant*), nas condições 3, 5 ou 7 mol l⁻¹ sob 15 bar de O₂.

Os resultados obtidos para P e S por IC após decomposição do CRM utilizando HNO₃ 3 mol l⁻¹ e 15 bar de O₂ foram 4963 ± 260 µg g⁻¹ e 5183 ± 150 µg g⁻¹, respectivamente. Assim, tendo em vista os valores informados para P (5149 µg g⁻¹) e S (5200 µg g⁻¹), foram obtidas concordâncias satisfatórias de 96% para P e 99%

para S, o que evidencia a boa exatidão apresentada para o método nessas condições.

Para as demais condições cuja exatidão foi avaliada foram obtidas concordâncias entre 73 e 82% para P, e 97 e 102% para S. Esses resultados vêm ao encontro do que foi mencionado anteriormente a respeito das interferências ocasionadas pela elevada concentração de NO_3^- nas soluções obtidas após a decomposição por MW- O_2 -AD utilizando HNO_3 5 ou 7 mol l^{-1} .

Dentro deste contexto, ainda cabe salientar que embora tanto para amostra como para o CRM ocorra a sobreposição de sinal entre o NO_3^- e o PO_4^{3-} quando utilizadas concentrações de HNO_3 superiores a 3 mol l^{-1} , foram obtidas concordâncias mais elevadas para P quando analisado o CRM (cerca de 80%) do que as obtidas para a amostra (cerca de 63%). Provavelmente, este comportamento se deve ao CRM apresentar uma elevada concentração deste analito, permitindo que sejam realizadas maiores diluições.

Cabe destacar que, os LODs (3σ , $n=10$) do método proposto foram 70 e 46 $\mu\text{g g}^{-1}$ para P e S, respectivamente. Assim, o mesmo mostrou-se adequado para a determinação destes elementos nas amostras de suplemento analisadas.

4. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos neste trabalho foi possível concluir que a decomposição por MW- O_2 -AD (3 mol l^{-1} /15 bar de O_2), em sistema fechado, foi eficiente para a decomposição do suplemento esportivo, com elevado teor proteico, para posterior determinação de P e S por IC. Além disso, o método proposto é uma alternativa promissora para a decomposição de suplementos utilizando ácidos diluídos, o que reduz significativamente os resíduos gerados e permite a obtenção de soluções a partir das amostras, compatíveis com grande parte das técnicas de determinação. Por fim, é importante enfatizar que o método desenvolvido pode ser utilizado para a decomposição de diferentes suplementos para posterior determinação de macro e microminerais.

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

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BIZZI, C. A.; FLORES, E. M. M.; PICOLOTO, R. S.; BARIN, J. S.; NÓBREGA, J. A. Microwave-assisted digestion in closed vessels: effect of pressurization with oxygen on digestion process with diluted nitric acid. **Analytical Methods**, v.2, p.734–738, 2010.

Nutrição no esporte. – Brasília: Fundação Vale, UNESCO, 44 p., 2013.

TRIPP, F. The use of dietary supplements in the elderly: current issues and recommendations. **Journal of American Dietetic Association**, v.10, p. 181-183, 1997.