

COMPARAÇÃO ENTRE DIFERENTES PROCEDIMENTOS DE PREPARO DE AMOSTRAS PARA A DETERMINAÇÃO DE Cd e Pb EM CARNES POR GF AAS

OLIVEIRA, Richard Macedo de^{*}; ORESTE, Eliézer Quadro; VIEIRA, Mariana Antunes; RIBEIRO, Anderson Schwingel.

Laboratório de Metrologia Química, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, RS, Brasil.

^{}ricoliveiraqi@gmail.com*

1 INTRODUÇÃO

Por ações antropogênicas ou naturais alguns metais pesados, podem entrar facilmente na cadeia alimentar dos seres humanos, podendo ser prejudiciais ao organismo devido a suas propriedades de bioacumulação e toxicidade. Visando este problema ambiental, a carne ingerida, seja ela “*in natura*”, processada ou enlatada, pode estar contaminada com elementos tóxicos, pelo fato de que indústrias, principalmente de baterias, liberam uma grande quantidade destes elementos no meio ambiente, tais como o Cd e Pb. Esses elementos podem estar adsorvidos na superfície de plantas, as quais podem acabar sendo ingeridas pelos animais. Além disso, o lodo proveniente do tratamento de águas residuais e/ou industriais e a utilização de fertilizantes em lavouras também podem contribuir com a contaminação ambiental e consequentemente proporcionar malefícios a saúde humana.¹⁻³

A quantificação destes elementos é de extrema importância, pois assim é possível avaliar se os níveis dos mesmos estão de acordo com as legislações estabelecidas para os alimentos, visando assim uma maior segurança alimentar, bem como possibilidade de exportação de produtos cárneos. Para isso é necessário o desenvolvimento de procedimentos analíticos sensíveis para tal finalidade. Dentro do procedimento, uma atenção deve ser dada para a etapa de preparo das amostras, uma vez que esta pode tornar-se crítica, devido a grande probabilidade de levar a erros nas análises, por motivo de contaminação ou perda de analitos, seja por volatilização ou adsorção. Dentre os procedimentos mais utilizados, a literatura reporta o uso de mineralização ácida para amostras biológicas, a qual pode ser realizada tanto em sistemas abertos como em sistemas fechados. Contudo, quando se trata de sistema aberto, tem-se o risco de perdas de elementos e/ou ácidos por volatilização. Já em sistema fechado esse risco é minimizado, porém pode tornar-se um procedimento caro, devido ao alto custo de alguns aparelhos mais sofisticados, principalmente os fornos de micro ondas, os quais não são disponíveis em qualquer laboratório de pesquisa ou de rotina.⁴

Visando estes problemas, o desenvolvimento de sistemas alternativos para a mineralização ácida se torna atrativa. Com isso, nosso grupo de pesquisa desenvolveu um novo design de sistema para mineralização de amostras, o qual utiliza dedo frio para condensação dos vapores gerados, evitando assim possíveis perdas de analitos, bem como de ácidos, podendo ser adaptado em tubos convencionais de bloco digestores. Além destas vantagens, trata-se de um sistema barato, de fácil manuseio e com respostas reprodutíveis. Estudos utilizando tal

sistema se torna atrativo para fins comparativos com procedimentos listados na literatura, tais como solubilização alcalina e ácida.⁴

Sendo assim, o objetivo do presente trabalho é um estudo comparativo entre três procedimentos de preparo de amostras: solubilização alcalina com hidróxido de tetrametilamônio (TMAH), solubilização ácida com ácido fórmico (HCOOH) e o uso de mineralização ácida utilizando o sistema de dedo frio desenvolvido, para a determinação de Cd e Pb em amostras de carnes. Devido à baixa concentração desses elementos em carnes, as determinações precisam ser realizadas por meio de uma técnica sensível, como a espectrometria de absorção atômica com forno de grafite (GF AAS), a qual se torna viável para tais determinações, pois além de alcançar determinações a nível traço (concentrações de $\mu\text{g/L}$), necessita-se de uma pequena quantidade de amostra para as análises (com cerca de 20 a 50 μL).⁵

2 METODOLOGIA (MATERIAL E MÉTODOS)

Pesou-se aproximadamente 500 mg de amostras de carnes processadas e enlatadas de carne bovina fatiada, salsicha e almôndega, bem como uma amostra de carne bovina “*in natura*”. Todas as amostras foram adquiridas em comércio local e para validação da metodologia proposta, materiais de referência certificado (CRM's) foram utilizados.

Para o procedimento utilizando TMAH 25% (m/v), foram adicionados 750 μL deste reagente em todas as amostras reais, deixando-as em repouso por aproximadamente 3 horas. Para os CRM's, um volume maior foi necessário (cerca de 2,5 mL), uma vez que o volume de TMAH é adicionado em proporção a massa de amostra seca. Ao final todas as soluções foram aferidas a 10 mL com água deionizada.

Para o procedimento utilizando HCOOH 98% (v/v), adicionou-se 6,0 mL para todas as amostras, mas diferentemente do procedimento anterior o tempo de solubilização foi dado de um dia para outro, aferindo a solução com 10 mL com água deionizada. Para as CRM's adicionou-se 20 mL do ácido, aferindo as soluções a 30 mL.

Para o procedimento utilizando o sistema de dedo-frio, a mesma quantidade de massa descrita anteriormente foi pesada diretamente em tubos de bloco digestor, adicionando posteriormente 2 mL de HNO_3 65% e levando a amostra a um aquecimento no bloco digestor com temperatura de 220°C por 1 hora, possibilitando uma total mineralização das amostras. Ao final, as amostras também foram aferidas a 10 mL com água deionizada.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para uma melhor resposta analítica, fez-se otimizações de temperaturas ideias para as etapas de pirólise e atomização dentro de um programa de temperatura, conforme mostrado na Tabela 1. Além disso, também se fez necessário o uso de modificador químico para que se pudesse obter uma nuvem atômica mais densa na etapa de atomização, ou seja, obtendo temperaturas mais elevadas para etapas de remoção da matriz e conseqüentemente obter um sinal livre de interferências na etapa de atomização. Para isso, foi utilizado então uma mistura

composta por 5 µg de Pd + 3 µg de Mg (modificador universal) para as respectivas análises.

Tabela 1 – Programa de Temperatura empregado para Cd e Pb.

Estágio	Temperatura (°C)	Modo de aquecimento	Tempo (s)	Fluxo de Gás (L/min)
Secagem*	120	Rampa	20	0,1
Secagem*	250	Rampa	10	0,1
Pirólise*	300 ^{a,b}	Step	10	0,1
Pirólise	800 ^a ; 1100 ^b	Step	10	0,1
Atomização	1600 ^a ; 2100 ^b	Step	5	0
Limpeza	2200 ^a ; 2500 ^b	Step	3	1,0

* Estágios recomendados pelo fabricante do equipamento;
^aCd; ^bPb.

As figuras de mérito para os três diferentes preparos de amostra estão apresentados na Tabela 2, onde (a) é o coeficiente de correlação angular da curva, (LD) é o limite de detecção, (LQ) é o limite de quantificação e (R) é o coeficiente de correlação linear.

Tabela 2 - Figuras de mérito para a determinação de Cd e Pb.

Analito	Faixa Linear (µg L ⁻¹)	HNO ₃				TMAH				HCOOH			
		a (L µg ⁻¹)	LD (µg L ⁻¹)	LQ (µg L ⁻¹)	R	a (L µg ⁻¹)	LD (µg L ⁻¹)	LQ (µg L ⁻¹)	R	a (L µg ⁻¹)	LD (µg L ⁻¹)	LQ (µg L ⁻¹)	R
Cd	0,25 – 1,0	0,1342	0,03	0,10	0,999	0,0804	0,05	0,17	0,998	0,1026	0,04	0,13	0,995
Pb	5,0 – 30,0	0,0042	0,82	2,73	0,995	0,0028	1,12	3,73	0,999	0,0037	0,89	2,97	0,998

É possível observar através da Tabela 2 que se obteve uma boa linearidade para todos os analitos estudados (R > 0,99), independente do método utilizado para o preparo das amostras. Em relação à sensibilidade, percebe-se que esse valor foi maior para o meio utilizando HNO₃ como método de preparo de amostras. Além disso, observa-se que o LD para essa metodologia de mineralização ácida é um pouco menor do que os demais procedimentos, apesar de não haver diferenças tão significativas entre os dados apresentados.

Com relação às análises das amostras reais, para todos os meios de preparo das amostras, a concentração de Cd e Pb ficou abaixo do LD, ou seja, a quantidade desses elementos presentes nessas amostras está abaixo do menor valor detectável pela técnica adotada.

Para validação do procedimento empregado, fez-se as determinações desses elementos em CRM's, obtendo os resultados observados na Tabela 3, comprovando a exatidão das metodologias empregadas.

Tabela 3 - concentração encontradas de Cd e Pb em CRM's.

Amostras	Valor Cert. mg Kg ⁻¹ (x ± SD)	Valor Encontrado, x ± SD (RSD) mg Kg ⁻¹ (%)		
		HNO ₃	TMAH	HCOOH
Determinação de Cd				
TORT-2	26,7 ± 0,6	26,4 ± 0,1 (0,4)	25,8 ± 0,5 (1,9)	27,8 ± 0,7 (2,5)
DORM-3	0,290 ± 0,020	0,305 ± 0,006 (2,0)	0,270 ± 0,011 (4,1)	0,288 ± 0,020 (6,9)
DOLT-4	24,3 ± 0,8	24,2 ± 1,9 (7,8)	23,8 ± 1,3 (5,5)	25,5 ± 2,0 (7,8)
8414	0,013 ± 0,011	0,009 ± 0,001 (11,1)	0,013 ± 0,001 (7,7)	0,015 ± 0,004 (26,7)
2976	0,82 ± 0,16	0,86 ± 0,09 (10,5)	0,84 ± 0,04 (4,8)	0,66 ± 0,03 (4,5)
1577C*	97,0 ± 1,4	97,4 ± 3,4 (3,5)	95,8 ± 4,4 (4,6)	98,4 ± 7,1 (7,2)

	Determinação de Pb			
TORT-2	0,35 ± 0,13	0,41 ± 0,02 (4,9)	0,33 ± 0,01 (3,0)	0,34 ± 0,02 (5,9)
DORM-3	0,395 ± 0,050	0,405 ± 0,028 (6,9)	0,383 ± 0,004 (1,0)	0,342 ± 0,027 (7,9)
DOLT-4	0,16 ± 0,04	0,19 ± 0,01 (5,3)	0,15 ± 0,01 (6,7)	0,14 ± 0,01 (7,1)
8414	0,38 ± 0,24	0,48 ± 0,02 (4,2)	0,30 ± 0,02 (6,7)	0,32 ± 0,02 (6,2)
2976	1,19 ± 0,18	1,12 ± 0,06 (5,4)	1,19 ± 0,03 (2,5)	1,28 ± 0,05 (3,9)
1577C*	62,8 ± 1,0	64,0 ± 5,6 (8,8)	65,6 ± 2,2 (3,4)	59,3 ± 4,6 (7,8)

4 CONCLUSÃO

Conclui-se que o sistema de dedo-frio, mostra-se eficiente para a mineralização de amostras biológicas, pois é um sistema barato e de fácil manuseio, além de reproduzir resultados melhores, comparados com os resultados obtidos pelos outros procedimentos de preparo das amostras.

Para as amostras analisadas, não foi encontrado concentrações desses elementos. Estudos dessa natureza são extremamente importantes, pois assim é possível obter confiabilidade nos alimentos que são ingeridos diariamente.

5 AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) pelo apoio financeiro e bolsas concedidas.

6 REFERÊNCIAS

- 1- Instrução normativa nº 14 da secretaria de defesa agropecuária do ministério da agricultura, pecuária e abastecimento. Anexo 1 – Plano nacional de controle de resíduos em produtos de origem animal. Maio de 2009.
- 2- FILHO, A. L. Produção de carne bovina no Brasil: qualidade, quantidade ou ambas? In: *Simpósio sobre desafios e novas tecnologias na bovinocultura de corte*, Brasília, Brasil, 10 p, 2006.
- 3- ZUKOWSKA, J.; BIZIUK, M.; *Journal of Food Science*, v., R1-R9, 2008.
- 4- ORESTE, E.Q.; *et al.* New design of cold finger for sample preparation in open system: Determination of Hg in biological samples by CV-AAS. *Microchemical Journal (Print)*. 2012, doi:10.1016/j.microc.2012.05.034.
- 5- WELZ, B.; SPERLING, M. *Atomic Absorption Spectrometry*. 3ªed. Wiley-VCH, Weinheim, 1999.