

AVALIAÇÃO DE MÉTODOS PARA A DETERMINAÇÃO DE CLORO EM RAÇÃO PARA PEQUENOS ANIMAIS

CRIZEL, Marcelo Guerreiro; HARTWIG, Carla de Andrade; TORALLES, Ísis Gonçalves; FERREIRA, Lizângela Rosa; SCHIAVON, Fernanda Berndt Borba; MESKO, Márcia Foster

*Laboratório de Controle de Contaminantes em Biomateriais, Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas
necocrizel2008@hotmail.com
marcia.mesko@pq.cnpq.br*

1 INTRODUÇÃO

É crescente o número de pessoas que convivem com animais de estimação, e com isso surge a necessidade de praticidade na alimentação destes animais, culminando no desenvolvimento de produtos alimentícios específicos, pela indústria especializada. Para tanto, faz-se necessária a comprovação da qualidade das rações comercializadas para pequenos animais, garantindo assim a manutenção da saúde dos mesmos.

Algumas pesquisas tem mostrado que a composição mineral da ração pode afetar o equilíbrio ácido-básico e vários aspectos do desempenho do animal (MURAKAMI, 2000). A conservação deste equilíbrio no organismo tem grande importância fisiológica e bioquímica, visto que as atividades das enzimas celulares, trocas eletrolíticas e manutenção do estado estrutural das proteínas dos organismos são influenciadas por pequenas alterações no pH sanguíneo (MACARI; FURLAN; GONZALEZ, 1994).

Enquanto dietas enriquecidas com sódio e potássio tendem a causar alcalemia (elevação de pH) do sangue, dietas aniônicas, ricas em cloretos, sulfatos e fosfatos, tendem a causar acidemia sanguínea (redução do pH) (CARCIOFI, 2007). Dentre os ânions capazes de reduzir o pH sanguíneo, o cloreto é o ânion mais abundante nos fluidos celulares e, segundo Butolo (2002), auxilia na manutenção da homeostase eletroquímica. Entretanto, em caso de acidemia, provocada pelo excesso destes ânions, o organismo é mantido pela reabsorção renal de bicarbonato e pela eliminação renal de íons hidrogênio, o que resulta na redução do pH urinário. A acidemia por sua vez, pode ocasionar a urolitíase, que consiste na mais comum doença obstrutiva do trato urinário em cães e gatos (CARCIOFI, 2007). Isto evidencia a importância do controle da concentração destes elementos nos alimentos destinados a estes animais.

A determinação da concentração de cloro (Cl) nas mais diferentes amostras merece especial atenção devido a possibilidade de perdas de analito por volatilização e/ou contaminações, durante a etapa de decomposição. Nesse sentido, os métodos de preparo envolvendo a combustão das amostras em sistemas fechados, tem se mostrado bastante eficientes para a determinação de halogênios (MESKO, 2008). Um exemplo de método de combustão que pode ser aplicado visando a posterior determinação destes elementos é a combustão iniciada por micro-ondas (MIC), a qual envolve a decomposição de amostras orgânicas em frascos fechados pressurizados com oxigênio, sendo a etapa de ignição promovida pelo uso de radiação micro-ondas (FLORES et al., 2007). Neste método, os analitos são absorvidos em solução apropriada e podem ser determinados posteriormente por diferentes técnicas, como por exemplo, a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES).

O ânion cloreto também pode ser determinado por métodos volumétricos, potenciométricos e colorimétricos. Os métodos volumétricos de Mohr e de Volhard são

amplamente utilizados na determinação de cloretos e foram desenvolvidos no século XVII, diferindo na forma de determinação do ânion, que pode ser direta (Mohr), ou indireta (Volhard) (JEFFERY et al., 1992). Outra técnica de determinação de cloro bastante conhecida é a potenciometria, por meio de eletrodos íon-seletivos (ISE), os quais respondem preferencialmente a um determinado tipo de íon em solução, através de uma diferença de potencial em sua membrana. Esta técnica constitui uma alternativa aos métodos clássicos volumétricos de precipitação, já consolidados em Química Analítica para a determinação de cloretos (HARRIS, C. D, 2001). Cabe destacar que para todas as técnicas de detecção de Cl é necessário um procedimento adequado de preparo de amostras, que leve em consideração as possibilidades de perdas e contaminação e que resulte em digeridos compatíveis com a técnica de determinação que será utilizada.

Neste contexto, devido a relevância do problema e a necessidade de controle das concentrações de Cl em ração para pequenos animais, é de fundamental importância que se desenvolvam novos métodos e que se avalie aqueles já existentes, visando a determinação das concentrações de cloro presentes nas rações. Assim, este trabalho tem por objetivo o estudo de três diferentes métodos de determinação de cloro, aplicados à amostra de ração para pequenos animais.

2 MATERIAL E MÉTODOS

A amostra, adquirida no comércio local, foi homogeneizada, moída em processador doméstico (MDR 301[®], Cadence) e seca em estufa por 12 h, a 50 °C.

Uma parte da amostra foi então submetida a decomposição por combustão iniciada por micro-ondas (MIC), sendo preparada na forma de comprimidos, com massa de 300 mg. O procedimento de combustão foi feito em um forno de micro-ondas Multiwave 3000[®] (Microwave Sample Preparation System, Anton Paar, Graz, Áustria), equipado com 8 frascos de quartzo (80 ml, 80 bar e 280 °C). Foi utilizado NH₄NO₃ (50 µl, 6 mol l⁻¹) como iniciador de combustão e 6 ml de NH₄OH (50 mmol l⁻¹) como solução absorvedora (FLORES et al., 2007). A pressão inicial de O₂ foi de 20 bar e o programa de aquecimento foi de 5 min de irradiação a 1400 W, seguido de 20 min de resfriamento. Após a decomposição, o cloro foi determinado por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES).

Outra fração de amostra foi preparada segundo o método 943.01 recomendado pela Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 2011). Neste procedimento, foi pesada uma massa de 3 g de amostra, a qual foi adicionada de 50 ml de Fe₂(SO₄)₃.12H₂O, sob agitação, para evitar a aglomeração da amostra e facilitar a solubilização do cloro. Após, adicionou-se 100 ml de NH₄OH (1:19), mantendo a agitação, e após deixou-se repousar por 10 min. Promoveu-se, então, a filtração em papel-filtro previamente descontaminado com HNO₃ 10% (v/v), recolhendo-se alíquotas de 10 ml do filtrado para a titulação. As alíquotas foram adicionadas de 10 ml de HNO₃ (6 mol l⁻¹), 10 ml de indicador Fe₂(SO₄)₃.12H₂O, 20 ml de H₂O ultra-pura e 500 µl de KSCN. A titulação desta amostra foi feita com AgNO₃ (0,1 mol l⁻¹) até o desaparecimento da cor avermelhada, adicionando-se ligeiro excesso do titulante. Em seguida, promoveu-se a completa precipitação do cloreto, por aquecimento a 90 °C. Deixou-se esfriar, e titulou-se com KSCN (0,1 mol l⁻¹), até primeira cor avermelhada persistente por 15 segundos.

Outra parte desta amostra, preparada segundo o método da AOAC, teve o ânion cloreto determinado também pela técnica potenciométrica de ISE (modelo HI 3221, Hanna Instruments, Brasil), a qual foi denominada de método AOAC modificado.

Outra fração da amostra foi preparada conforme método oficial recomendado pelo Instituto Adolfo Lutz, para a determinação de Cl em alimentos (028/IV), o qual será denominado método IAL. Para tanto, uma massa de 5 g de amostra foi carbonizada em cápsula de porcelana, a 160 °C, por 2 h e, após, foi levada ao forno mufla na temperatura de 550 °C, por 3 h. Após esfriar, foi feita uma extração com água quente (80 ml, 80 °C) durante 5min. Após, a solução final foi avolumada a 100 ml em balão volumétrico. Posteriormente, foi retirada uma alíquota de 10 ml e o pH foi ajustado entre 6,5 e 9,0 com NaOH (0,1 mol l⁻¹). A seguir, foram adicionadas 2 gotas de indicador K₂CrO₄. A titulação foi feita com AgNO₃ (0,1 mol l⁻¹) até o aparecimento de coloração vermelho-tijolo (IAL, 2008).

Em todos os métodos descritos foi utilizada água ultra-pura (18.3 MΩ/cm, MEGApurity, Billerica, USA), e a exatidão foi avaliada por meio de ensaios de recuperação, adicionando-se concentrações conhecidas de analito às amostras.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos para Cl em amostra de ração após os diferentes métodos avaliados estão apresentados na Tab. 1.

Tabela 1. Concentração de Cl em ração determinado por diferentes métodos (n=3).

Método	Concentração de Cl (µg g ⁻¹)
MIC/ICP OES	5531 ± 50
AOAC	6290 ± 276
AOAC modificado	5572 ± 247
IAL	2289 ± 82

Como pode ser observado na Tab. 1, os resultados obtidos para Cl nas amostras preparadas segundo o método AOAC oficial e o modificado, apresentaram diferença significativa entre si (teste *t* de Student com 95% de confiança). Menores valores foram encontrados pela técnica de determinação potenciométrica, se comparada à utilização da titulometria. Isto pode ser explicado pelo fato de o ISE detectar apenas os íons livres em solução, não sendo possível a determinação destes quando combinados na forma de complexos (HARRIS, C. D, 2001).

Por sua vez, os resultados obtidos mediante o emprego do método oficial da AOAC, com determinação titulométrica do analito, foram concordantes em 101% com o valor informado no rótulo da embalagem (6200 µg g⁻¹). Entretanto, acredita-se que estes resultados possam estar superestimados, visto que a titulometria pode sofrer interferências, pela presença de outros íons em solução. Além disso, não há informações sobre o método de análise empregado pelo fabricante da ração para assegurar a concentração de Cl na mesma, de forma que sua exatidão é desconhecida.

Ao contrário disto, os procedimentos que envolvem o preparo das amostras por MIC e determinação por técnicas espectrométricas, tem se mostrado bastante eficientes e confiáveis na determinação de Cl em diversos tipos de amostras (FLORES et al., 2007). Estas características se devem, principalmente, as vantagens associadas ao método, que incluem a utilização de frascos fechados e soluções absorvedoras adequadas, contribuindo assim para a redução dos riscos de contaminação e perda dos analitos (MESKO, 2008). Isto confere credibilidade aos resultados obtidos pela metodologia que

emprega MIC/ICP OES, ainda que seja concordante em 89 % com o valor informado. Entretanto, cabe ressaltar que embora os estudos ainda estejam em andamento, pode-se verificar que todos os métodos avaliados, tiveram concordância mínima de 90% com o valor informado pelo fabricante, com exceção do recomendado pelo IAL, que apresentou concordância de apenas 37%. Isto pode ser explicado pelo fato de a metodologia do IAL fazer referência a um procedimento realizado em sistema aberto, e que utiliza elevadas temperaturas, podendo levar a perda do analito por volatilização dependendo das características da matriz da amostra.

4 CONCLUSÕES

A partir dos diferentes resultados obtidos com as metodologias empregadas, pode-se concluir que é necessária a continuidade dos estudos visando a determinação de Cl em amostras de ração, de forma eficiente e confiável.

Embora o procedimento de preparo das amostras por MIC, associado à determinação do analito por ICP OES possa ser considerado um método bastante confiável, o método oficial recomendado pela AOAC deve ser priorizado em estudos posteriores, visto que se trata de um procedimento de menor custo, que fornece resultados confiáveis, apesar de requerer um maior tempo do analista.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BUTOLO, J. E. **Qualidade de Ingredientes na Alimentação Animal**. Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 430p, 2002.
- CARCIOFI, A.C. Métodos para estudo das respostas metabólicas de cães e gatos a diferentes alimentos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.36, suplemento especial, p. 235-249, 2007.
- FLORES, E.M.M; BARIN, J. S.; MESKO, M.F.; KNAPP, G. Sample preparation techniques based on combustion reactions in closed vessels — A brief overview and recent applications. **Spectrochimica Acta**, Amsterdam, v.62, n.9, p.1051-1064, 2007.
- HARRIS, C. D. **Análise Química Quantitativa**. Rio de Janeiro: LTC. 2001.
- Instituto Adolfo Lutz, **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo, p.112, 2008.
- JEFFERY, G.H.; BASSETT, J.; MENDHAM, J.; DENNEY, R.C. **Vogel: Análise Química Quantitativa**. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992.
- MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALEZ, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista, 1994.
- MESKO, M. F. **Determinação de halogênios em carvão, coque petroquímico e alimentos após combustão iniciada por microondas**. 2008. 156f. Tese (Doutorado em Química) – Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 14/03/2008.
- MURAKAMI, A.E. Balanço eletrolítico da dieta e sua influência sobre o desenvolvimento dos ossos de frangos. In: **CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLA**, 2000, Campinas. p.33-61.
- WORWITZ, W.; LATIMER, G. W. **Official Methods of Analysis of AOAC International** Gaithersburg: AOAC International, 2011.