

## DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO PARA A DETERMINAÇÃO DE Br E I EM CAMARÕES

**CARLA DE ANDRADE HARTWIG<sup>1</sup>; GLAUCO RASMUSSEN BETEMPS<sup>1</sup>; ÍSIS GONÇALVES TORALLES<sup>1</sup>; ALINE LIMA HERMES MÜLLER<sup>2</sup>; FÁBIO ANDREI DUARTE<sup>3</sup>; MÁRCIA FOSTER MESKO<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Laboratório de Controle de Contaminantes em Biomateriais, Universidade Federal de Pelotas

<sup>2</sup>Laboratório de Análises Químicas, Industriais e Ambientais, Universidade Federal de Santa Maria

<sup>3</sup>Laboratório de Análise de Compostos Orgânicos e Metais, Fundação Universidade Federal do Rio Grande

carlahartwig@yahoo.com.br; marcia.mesko@pq.cnpq.br

### 1. INTRODUÇÃO

O monitoramento das concentrações de elementos traço nos alimentos contribui para a manutenção da dieta nutricional humana, visto que alguns destes elementos, que podem ser danosos ao organismo quando presentes em altas concentrações, também são essenciais ao metabolismo humano (CRESSEY, 2003).

O iodo (I) é um exemplo de elemento traço essencial à saúde, cuja função no metabolismo encontra-se diretamente relacionada com os hormônios da tireóide. Os efeitos da deficiência deste elemento no crescimento e desenvolvimento humano são denotados pelo termo distúrbios de deficiência de iodo (IDD). Entretanto, este mesmo elemento, estando presente em excesso, pode também ocasionar doenças relacionadas ao desequilíbrio da tireóide. A ingestão média de I recomendada para adultos é de 150  $\mu\text{g dia}^{-1}$  (WHO, 1996).

O bromo (Br), por sua vez, possui essencialidade duvidosa e mecanismo de ação ainda considerado desconhecido (ROMARÍS–HORTAS et al., 2011). Entretanto, sua deficiência no organismo humano, vem sendo relacionada a problemas de retardo de crescimento e insônia, enquanto que sua ingestão em excesso pode causar dores de cabeça, distúrbios gastrointestinais, fadiga, entre outros (KOHLMEIER, 2003). A ingestão média diária de 8 mg de Br é considerada adequada para adultos (VAN DOKKUM et al. 1989).

As fontes alimentares de Br e I perfazem uma considerável lista de produtos, que incluem os peixes marinhos e os frutos do mar (KOHLMEIER, 2003; MOREDA-PIÑEIRO; ROMARÍS-HORTAS; BERNEJO-BARRERA, 2011).

A determinação de halogênios, como o Br e o I, sempre foi considerada um desafio, principalmente devido à elevada volatilidade destes elementos e possibilidade de contaminação (ANTES et al., 2010). Sob este aspecto, diferentes procedimentos de preparo de amostras tem sido avaliados com o intuito de promover recuperações quantitativas de halogênios, como por exemplo, o uso de reagentes fortemente alcalinos ou através dos métodos de combustão (NÓBREGA et al., 2006; FLORES et al., 2004).

Em se tratando das formas de determinação dos halogênios, várias técnicas podem ser utilizadas, dependendo do tipo de amostra e nível de concentração do analito que se queira determinar (VARGA, 2007). Neste sentido, a espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) vem sendo empregada na determinação de halogênios ao nível de traço, devido às suas características de seletividade e baixos limites de detecção (SCHRAMEL, HASSE, 1994).

Assim, devido a pouca informação sobre os teores de Br e I em crustáceos, e a deficiência de métodos mais exatos com menor consumo de reagentes e geração de

resíduos, o presente trabalho teve por objetivo o desenvolvimento e avaliação de métodos eficientes e seguros para a determinação destes halogênios em camarão, através da técnica de ICP-MS.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Amostras de camarão da espécie *Litopenaeus vannamei*, foram adquiridas no comércio local, lavadas com água ultrapura, e separadas em dois lotes: camarões inteiros, e camarões sem os resíduos de casca, cabeça e patas.

Um dos procedimentos de preparo das amostras avaliados foi a combustão iniciada por micro-ondas (MIC), proposta por Flores et al. (2004). Neste procedimento, as amostras foram trituradas em processador doméstico, secas em estufa (85 °C/24 h) e cominuídas em moinho criogênico (Spex Certi Prep<sup>®</sup>, modelo 6750, Metuchen, EUA). Posteriormente, as amostras preparadas na forma de comprimidos com massa de 500 mg, foram levadas à decomposição em forno micro-ondas (Multiwave 3000<sup>®</sup>, Anton Paar<sup>®</sup>, Áustria), equipado com suportes de quartzo próprios para o procedimento de combustão. Solução de NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> 6 mol l<sup>-1</sup> (50 µl) foi utilizada como iniciador de combustão, enquanto que 6 ml solução de NH<sub>4</sub>OH 50 mmol l<sup>-1</sup> foram empregados para a absorção dos analitos. O sistema foi pressurizado com 20 bar de O<sub>2</sub>, e irradiado por 5 min (1400 W), ao que se seguiram 20 min de resfriamento.

Amostras de camarão, trituradas, secas e cominuídas, foram submetidas também ao procedimento de extração alcalina assistida por radiação micro-ondas. Neste procedimento 500 mg de amostra foram extraídos com 6 ml de NH<sub>4</sub>OH 50 mmol l<sup>-1</sup> ou TMAH 0,11 mol l<sup>-1</sup>, em micro-ondas (Multiwave 3000<sup>®</sup>, Anton Paar<sup>®</sup>, Áustria). O programa de irradiação incluiu uma rampa de aquecimento de 10 min, irradiação de 1400 W por 50 min, e 20 min de resfriamento. A temperatura máxima atingida foi de 90 °C, a fim de que não houvesse degradação do TMAH.

Um terceiro procedimento de preparo de amostras avaliado foi a dissolução com TMAH sob aquecimento em banho-maria. Neste caso, foram utilizadas massas de 1 g de amostra *in natura* (apenas lavada e triturada), sendo avaliados diferentes volumes (0,5 ou 1 ml) de TMAH 25% (v/v), aquecidos a temperaturas de 60 e 90 °C, em tempos de 30 min, 1 h e 2 h. Após, as amostras foram centrifugadas (International Equipment Co<sup>®</sup>) por 15 min, e diluídas a 10 ml.

Foram determinados ainda, a relação massa corpórea/resíduos (casca, cabeça, patas), o peso médio, conforme adaptação da metodologia proposta pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008), e o teor de umidade, segundo método da Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1999).

Devido à ausência de um material de referência certificado (CRM) mais apropriado, a exatidão dos procedimentos foi avaliada através da utilização do NIST 8414 (*Bovine muscle*), além da realização de ensaios de recuperação, e comparação dos resultados obtidos por diferentes métodos de preparo de amostra.

A determinação de Br e I nas soluções provenientes de todos os procedimentos de preparo das amostras avaliados foi feita em um ICP-MS (ELAN DRC II, PerkinElmer Sciex, Canadá).

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Neste experimento foram utilizados camarões com massa média de 10 g, dos quais 55% correspondem à massa corpórea, ficando a massa restante relativa aos resíduos de casca, cabeça e patas.

O teor de umidade obtido para as amostras de camarões inteiros e camarões sem casca foi de 80 e 85%, respectivamente. Estes resultados foram de grande valia para calcular as concentrações dos analitos nas determinações realizadas após a dissolução com TMAH, quando se utilizou amostras *in natura*.

Os resultados obtidos para Br ( $1,18 \pm 0,09 \mu\text{g g}^{-1}$ ) e I ( $0,041 \pm 0,003 \mu\text{g g}^{-1}$ ) no CRM decomposto por MIC mostraram boas concordâncias com os valores certificados (Br:  $1,1 \pm 0,5 \mu\text{g g}^{-1}$ ; I:  $0,035 \pm 0,012 \mu\text{g g}^{-1}$ ), comprovando a exatidão dos resultados obtidos através desta metodologia. Assim, os demais métodos tiveram sua exatidão avaliada por comparação com os resultados obtidos após MIC, e pela realização de ensaios de recuperação.

Os resultados (base seca) obtidos para Br e I nas amostras avaliadas, encontram-se na Tabela 1. Cabe ressaltar que no preparo de amostras por dissolução alcalina com aquecimento em banho-maria estão apresentados somente os resultados obtidos com as melhores condições avaliadas (1 ml de TMAH, por 30 min, a 90 °C). Salienta-se ainda, que para fins nutricionais, estes resultados devem ser recalculados levando em consideração o teor de umidade das amostras.

**Tabela 1** – Concentrações de Br e I, por ICP-MS, após diferentes procedimentos de preparo de amostra (n=3).

Preparo da amostra	Concentração de analito ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )			
	Camarão inteiro		Camarão sem casca	
	Br	I	Br	I
MIC ( $\text{NH}_4\text{OH}$ )	$182,4 \pm 4,2$	$11,3 \pm 0,9$	$17,5 \pm 0,1$	$0,28 \pm 0,01$
Ext. assistida por micro-ondas ( $\text{NH}_4\text{OH}$ )	$119,4 \pm 1,5$	$10,2 \pm 0,3$	$17,8 \pm 0,2$	$0,22 \pm 0,02$
Ext. assistida por micro-ondas (TMAH)	$116,2 \pm 2,1$	$10,9 \pm 0,2$	$17,9 \pm 0,5$	$0,22 \pm 0,02$
Dissolução com aquecimento em banho-maria (TMAH)	$176,1 \pm 17,7$	$12,5 \pm 0,6$	< LOD*	< LOD*

\*LOD: limite de detecção

Como pode ser observado na Tabela 1, independentemente da metodologia utilizada, resultados bastante superiores para ambos os analitos foram encontrados nas amostras de camarões inteiros, o que permite estimar que maiores concentrações de Br e I estejam ligadas aos resíduos destes crustáceos.

A extração alcalina assistida por radiação micro-ondas, em ambas as soluções avaliadas, apresentou boas concordâncias com os valores obtidos após MIC, apenas para I nas amostras de camarão inteiro, e Br em camarão sem casca. Assim, o método não se mostrou adequado para a determinação eficaz das baixas concentrações de I, verificadas no camarão sem casca. Além disso, provavelmente as soluções extratoras não foram utilizadas em concentrações adequadas para promover a extração de elevados teores de Br em matrizes complexas, como no caso dos camarões inteiros.

O procedimento de dissolução alcalina com aquecimento em banho-maria forneceu resultados bastante próximos àqueles encontrados por MIC, nas amostras de camarões inteiros. Entretanto, exigiu sucessivas diluições da solução de amostra

antes da determinação por ICP-MS, devido a utilização de solução concentrada de TMAH, com elevado teor de carbono. Assim, resultados inferiores ao LOD do método foram obtidos para as amostras em que os analitos encontravam-se em menor concentração.

#### 4. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos, pode-se concluir que, a MIC associada ao ICP-MS constitui um método bastante confiável e seguro para a determinação de Br e I em amostras de camarão, pois além das vantagens associadas, como eficiência de decomposição, segurança, rapidez e minimização de perdas e/ou contaminações, teve sua exatidão comprovada pela utilização de CRM. Além disso, foi o único dos procedimentos de preparo de amostras avaliados que, aliado a determinação por ICP-MS, forneceu uma condição de compromisso para ambos os analitos investigados, independente de suas concentrações.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANTES, F. G.; DUARTE, F. A.; FLORES, E. L. M.; PANIZ, J. N. G.; FLORES, E. M. M.; DRESSLER, V. L.; Preparo de amostras de combustíveis fósseis por piroidrólise para a determinação de flúor e cloro, **Química Nova**. São Paulo, v.33, n.5, p.1130, 2010.
- CRESSEY, P. J.; Iodine content of New Zealand dairy products. **Journal of Food Composition and Analysis**, França, v.16, p.25-36, 2003.
- FLORES, E. M. M.; BARIN, J. S.; PANIZ, J. N. G.; MEDEIROS, J. A.; KNAPP, G. Microwave-assisted sample combustion: a technique for sample preparation in trace element determination. **Analytical Chemistry**, Washington, 76, p.3526-3529, 2004.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos**. São Paulo: 2008.
- KOHLMEIER, M. **Nutrient metabolism**. Amsterdam: Academic press, 2003.
- MOREDA-PIÑEIRO, A.; ROMARÍS-HORTAS, V.; BERNEJO-BARRERA, P. A review on iodine speciation for environmental, biological and nutrition fields. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**. Cambridge, v.26, p. 2107-2152, 2011.
- 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.
- ROMARÍS-HORTAS, V.; GARCÍA-SARTAL, C.; BARCIELA-ALONSO, M. C.; DOMÍNGUEZ-GONZÁLEZ, R.; MOREDA-PIÑEIRO, A.; BERMEJO-BARRERA, P. Bioavailability study using an in-vitro method of iodine and bromine in edible seaweed. **Food Chemistry**. Espanha, 124, p. 1747-1752, 2011.
- SCHRAMMEL, P.; HASSE, S. Iodine determination in biological-materials by ICP-MS, **Mikrochimica Acta**, Vienna, v.116, p. 205-209, 1994.
- VAN DOKKUM, W.; DE VOS, R. H.; MUYS, TH.; WESSTRA, J.A. Minerals and trace elements in total diets in The Netherlands. **British Journal of Nutrition**, v. 61, Inglaterra, p. 7-15, 1989.
- VARGA, I. Iodine determination in dietary supplement products by TXRF and ICP-AES spectrometry. **Microchemical Journal**. Lake Charles, v.85, p. 127-131, 2007.
- World Health Organization. **Trace elements in human nutrition and health**. Geneva, p. 130-146, 1996.
- WORWITZ, W.; LATIMER, G. W. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. Gaithersburg: AOAC International, 2011.