

DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO PARA A DETERMINAÇÃO DE HALOGÊNIO E ENXOFRE EM CHÁS

LARISSA, C. A. COSTA¹; JULIA M. OUTEIRO²; HELENA G. DOMINGUES²
JENIFER H. CERQUEIRA²; THAUANA HEBERLE²; MARCIA F. MESKO³

¹Universidade Federal de Pelotas – cristine.andradec@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – juliamouteiro@gmail.com;
helenagoncalvesdomingues@gmail.com; jenyferheller@hotmail.com;
thauana.heberle@hotmail.com.

³Universidade Federal de Pelotas – marciamesko@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

Por volta de 200 a.C. eram mencionados os efeitos desintoxicantes das plantas utilizadas para o preparo de chás, assim surgiu a designação de plantas medicinais. Devido a popularização do chá e suas propriedades medicinais, o seu consumo foi aumentando, tornando-se a segunda bebida não alcoólica mais consumida do mundo (PAN et al. 2022).

As plantas possuem diversos compostos em sua composição, sendo a maioria desconhecidos. Os halogênios e o enxofre, podem estar presentes nas plantas de maneira natural, e permanecer durante o desenvolvimento e da planta até ela ser ingerida na forma de infusão. Esses elementos, quando em concentrações inadequadas, podem ocasionar complicações à saúde humana (CAO et al. 2005).

Dentre as técnicas analíticas comumente utilizadas para a determinação da concentração de halogênios e enxofre nas mais variadas amostras, pode-se citar a cromatografia de íons utilizando detecção por condutividade (IC-CD) (MESKO, 2020). Entretanto, anterior à etapa de determinação, é necessário que seja realizado o preparo da amostra para transformá-la em uma solução compatível com a técnica de determinação (KRUG et al. 2019). Essa etapa é considerada a mais crítica dentro da sequência analítica, pois é nessa etapa em que ocorrem os principais erros analíticos.

Vale destacar que quando se trata da determinação de halogênios, viabilizar um método de análise que contemple todas as especificidades destes elementos é um grande desafio, pois pode ocorrer perda por volatilização durante o preparo da amostra (MATUSIEWICZ, 2003; MELLO et al. 2013). A Associação Oficial de Químicos Analíticos (AOAC) recomenda os métodos oficiais: 915.01 para a determinação de cloro em plantas por titulometria; 923.01 para a determinação de enxofre em plantas por gravimetria e; 975.04 (HORWITZ, W., LATIMER, G. W, 2005) para a determinação de flúor em plantas por potenciometria. Esses métodos têm como vantagem o uso de equipamentos simples de laboratório, e como desvantagens o longo tempo de execução, o uso de muitas combinações de reagentes, elevada geração de resíduo. Além de serem realizados com técnicas monoelementares. Todavia, não há métodos oficiais recomendados para a determinação bromo e iodo em chás ou folhas de plantas.

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi propor um método para a determinação de halogênios e enxofre visando contornar as desvantagens dos métodos oficiais seguindo os princípios da química verde. Para isso, foi avaliada a combustão iniciada por micro-ondas (MIC) como método de preparo de amostra e a cromatografia de íons (IC) como técnica de determinação. O método proposto foi comparado com a execução dos métodos oficiais recomendados pela AOAC para a avaliação da exatidão do método.

2. METODOLOGIA

Neste estudo, foram avaliadas amostras comerciais de chás, comercializadas na forma de sachês. As espécies utilizadas foram *Camellia sinensis* (chá preto e chá verde), *Cymbopogon citratus* Stapf. (chá de capim cidreira), *Peumus boldus* (chá de boldo) e *Mentha arvensis* L. (chá de hortelã) adquiridas no comércio local da cidade de Pelotas/RS. Inicialmente, foram feitas infusões das amostras em água ultrapura, seguindo as instruções do rótulo dos produtos. Em seguida, essas soluções foram diluídas e analisadas por IC-CD, a fim de identificar qual destas espécies de chá apresentava a maior concentração dos elementos disponível em sua composição. A partir dessa informação, foi selecionada a amostra de chá preto para o desenvolvimento do método.

A amostra selecionada foi seca em estufa a 60° C por 24 h, até peso constante. Em seguida foi moída em gral de porcelana, com pistilo, e armazenada em frascos de polipropileno. Na MIC, inicialmente foi estudada de que forma seria realizada a inserção da amostra no sistema (invólucros ou comprimidos), e a massa máxima que pode ser eficientemente decomposta. No interior dos invólucros, foram avaliadas massas de 100 a 200 mg. A amostra foi envolvida em filmes de polietileno (PE), selados com uma fonte de aquecimento e o excesso de filme removido. Para as amostras comprimidas, foram avaliadas massas de 500 a 1000 mg, utilizando-se uma prensa hidráulica (60 kN) para o preparo.

Os invólucros, assim como os comprimidos, foram dispostos sobre suportes de quartzo, com disco de papel filtro previamente umedecido com 50 µL da solução ignitora (NH_4NO_3 6 mol L⁻¹), os quais foram introduzidos em frascos de quartzo contendo 6 mL de solução absorvedora. Os frascos foram fechados, fixados ao rotor, pressurizados com 20 bar de O₂, inseridos no forno micro-ondas (Multiwave 3000®, Anton Paar, Áustria) e submetidos ao seguinte programa de irradiação: i) 1400 W por 50s (etapa de ignição e combustão), ii) 0 W por 3 min (etapa de combustão), iii) 1400 W por 5 min (etapa de refluxo) e iv) 0 W por 20 min (etapa de resfriamento).

Para a definição da solução absorvedora, foram preparadas soluções de diferentes concentrações (água ultrapura, 25, 50, 100 e 150 mmol L⁻¹ de NH_4OH). A escolha da concentração mais adequada foi realizada com base em ensaios de recuperação, adicionando uma solução padrão contendo o equivalente a 100% da concentração dos analitos presentes na amostra em forma de comprimido. Para esta avaliação, adicionou-se à amostra previamente a compressão, uma solução padrão com concentração conhecida dos analitos em volume correspondente a 70 µL.

Para a avaliação da exatidão do método foi utilizado um material de referência certificado (CRM) de planta aquática (BCR, 060) por meio de ensaios de adição e recuperação dos analitos. Para a avaliação desta etapa, foi necessária a adição de concentrações conhecidas de bromo e iodo (100 mg kg⁻¹), pois a concentração informada para bromo deste CRM é abaixo do limite de quantificação (LOQ) do método desenvolvido de 42 mg kg⁻¹. Além disso, não há concentração informada para iodo, tornando-se necessária a adição de concentração deste elemento. As concentrações obtidas no método desenvolvido foram comparadas com as concentrações obtidas nos métodos oficiais da AOAC. Para isso, foram realizados os métodos oficiais da AOAC 915.01, 975.04 e 923.01 para a determinação de cloro, flúor e enxofre em plantas, respectivamente. Vale mencionar que não há métodos oficiais para a determinação de bromo e iodo em plantas. As soluções obtidas na MIC foram aferidas a 25 mL e armazenadas até a posterior determinação, utilizado um cromatógrafo de íons (ICS-5000,

Dionex/Thermo Fisher Scientific, EUA). As condições operacionais foram realizadas de acordo com o recomendado pelo fabricante e o reportado em trabalho prévio do grupo (MESKO, et al. 2019).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na avaliação da forma de introdução da amostra no sistema de decomposição por MIC, foi observado que para as amostras inseridas na forma de invólucro, quando usadas massas superiores a 100 mg o processo de combustão ocasionava danos à tampa de vedação dos frascos. Em contrapartida, quando as amostras foram prensadas na forma de comprimidos foi possível queimar satisfatoriamente, (sem danos aos frascos e sem formação de fuligem – combustão completa) massas de até 900 mg. Para massas de amostra de 500 mg foi observado um tempo de combustão de 87 s, 120 s (700 mg) e 180 s (900 mg), e o tempo de ignição para todas as massas foi sempre entre 6 e 10 s. Assim, considerando o tempo de combustão para a massa de 900 mg, foi otimizado o programa de irradiação anteriormente citado.

Além disso, a respeito da avaliação da solução absorvedora, quando utilizada a água ultrapura as recuperações para flúor foram de cerca de 40%. C comportamento similar foi observado para as soluções de 25 e 50 mmol L⁻¹ de NH₄OH (recuperações de cerca de 40 e 80%, respectivamente). Os pH destas soluções foram de 2 para água ultrapura, e 3 para as soluções absorvedoras de 25 e 50 mmol L⁻¹ de NH₄OH. A baixa recuperação obtida pode estar relacionada com a formação de espécies voláteis em meio ácido (MELLO, et al. 2013), resultando em perda do analito. Para os demais analitos as recuperações foram consideradas adequadas e ficaram compreendidas entre 95 e 105%. Para as soluções absorvedoras de 100 e 150 mmol L⁻¹ de NH₄OH as recuperações foram adequadas para todos os analitos e ficaram compreendidas entre 95 e 108% para 100 mmol L⁻¹ e de 101 a 109% para 150 mmol L⁻¹.

Para a avaliação da exatidão por meio do CRM e comparação dos métodos proposto e oficial, foram obtidas concordâncias de 101 a 107% para todos os analitos. Adicionalmente, quando comparados os métodos proposto e oficial, o método proposto apresentou concordâncias de 95 a 105% para cloro, flúor e enxofre, conforme demonstrado na Tabela 1. A respeito de bromo e iodo, vale ressaltar que não há métodos oficiais reportados em literatura.

Tabela 1. Concentrações obtidas (mg kg⁻¹) para halogênios no CRM BCR 060, método proposto e método oficial, e concordâncias obtidas para o CRM e método oficial, com o método proposto. (média ± desvio padrão (desvio padrão relativo), n=3).

Analitos	Valores de CRM (mg kg ⁻¹)			Comparação de Métodos (mg kg ⁻¹)		
	Informado	Obtido	Concordância	Oficial	Proposto	Concordância
Br	120*	122 ± 3 (3%)	101%	-	-	-
Cl	10.000	10.710 ± 169 (2%)	107%	547 ± 21 (4%)	575 ± 22 (4%)	105%
F	24	25 ± 0.20 (1%)	104%	822 ± 16 (2%)	815 ± 9 (1%)	99%
S	5.200	5.289 ± 154 (3%)	101%	2.542 ± 76 (3%)	2.419 ± 129 (4%)	95%
I	100*	106 ± 9 (4%)	106%	-	-	-

*valor adicionado

4. CONCLUSÕES

Os resultados apresentaram exatidão e precisão adequados. Foi observada a necessidade de inserir a amostra no sistema na forma de comprimidos, possibilitando uma reação de combustão mais controlada e de uma maior massa de amostra. Além disso, o tempo de combustão foi aproximadamente proporcional ao incremento de massa de amostra, foi necessária uma alteração na etapa de irradiação com micro-ondas, aumentando o tempo de combustão, visando possibilitar a total combustão da amostra. Além disso, o método proposto é um método mais amigável ao meio ambiente, por utilizar soluções diluídas, pequenas massas de amostra e menor geração de resíduos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CAO, J., et al. Dental and early-stage skeletal fluorosis in children induced by fluoride in brick-tea. **Fluoride**, v. 38, n. 1, p. 44 – 47, 2005
- HORWITZ, W., LATIMER, G. W., **Official Methods of Analysis of Association of Official Agricultural Chemists International**. 18.ed. USA: AOAC, 2005. 17 - 23 p.
- KRUG, F. J.; ROCHA, F. R. P., **Métodos de preparo de amostras para análise elementar**. Piracicaba: Edit SBQ, p. 3-16, 2019.
- MATUSIEWICZ, H., Wet digestion methods. In: MESTER, Z., STURGEON, R., Sample preparation for trace elements analysis, vol XLI. **Elsevier, Amsterdam**, p. 193–233, 2003.
- 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.
- MESKO, M. F., BALBINOT, F. P., SCAGLIONI, P. T., NASCIMENTO, M. S., PICOLOTTO, R. S., COSTA, V. C., Determination of halogens and sulfur in honey: a green analytical method using single analysis. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 412, 6475 – 6484, 2020.
- MESKO, M. F.; PEREIRA, R. M.; SCAGLIONI, P. T.; NOVO, D. L. R. Single analysis of human hair for determining halogens and sulfur after sample preparation based on combustion reaction. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 411, n. 19, p. 4873–4881, 2019
- PAN, S. Y., NIE, Q., TAI, H. C. et al. Tea and tea drinking: China's outstanding contributions to the mankind. **Chinese Medicine** v. 17, n. 27, 2022.