

AVALIAÇÃO DE NUTRIENTES E ALGUNS CONTAMINANTES EM ALGUMAS AMOSTRAS DE ALGAS COMESTÍVEIS, COMERCIALIZADAS NA CIDADE DE SÃO PAULO

► Resumo

No presente trabalho, foi desenvolvido um método analítico para a determinação de elementos essenciais à nutrição humana (Ca, Mg, Na, K, S, Fe, P, Zn, Cu, Mn, Se, Cr, Al e Co), bem como de alguns elementos contaminantes (Pb, Cd e As) em amostras de algas comestíveis encontradas no comércio da cidade de São Paulo. A digestão da amostra foi efetuada em forno de microondas focalizadas com ácido nítrico em cinco minutos. A determinação dos elementos e C residual foi feita utilizando um espectrômetro de emissão óptica acoplado a plasma induzido (ICP-OES) sequencial com visão radial. Foi necessário o uso de geração de hidretos acoplada ao ICP-OES para a determinação de Se. A determinação de C residual e recuperação dos elementos foram usados para o estabelecimento do protocolo analítico.

Palavras-chave: Algas comestíveis, nutrientes, contaminantes, ICP-OES, geração de hidretos

► Summary

In this work an analytic method for the determination of essential elements to human nutrition (Ca, Mg, Na, K, S, Fe, P, Zn, Cu, Mn, Se, Cr, Al and Co), as well as some contaminant elements (Pb, Cd and As), in algae foodstuffs purchase in the commerce of São Paulo City was developed. The sample digestion was made in a focused microwave oven using nitric acid in 5 minutes. The determination of the elements and residual C was performed using an inductively coupled plasma optical emission spectrometer (ICP-OES) with radial view. It was necessary to use hydride generation coupled to the ICP-OES for the determination of Se. The determination of residual C and recovery of the elements were used for the analytic protocol establishment.

■ Introdução

O termo Alga engloba diversos grupos de vegetais fotossintetizantes, pertencentes a reinos distintos, mas tendo em comum o fato de serem desprovidos de raízes, caules, folhas, flores e frutos. São plantas avasculares, ou seja, não possuem mecanismos específicos de transporte e circulação de fluidos, água, sais minerais e outros nutrientes, como ocorre com as plantas mais evoluídas. Não possuem seiva. São, portanto, organismos com estrutura e organização simples e primitiva.

As algas podem ser encontradas em ambientes muito variados. Crescem em águas doces, salobras ou salgadas e se desenvolvem em lugares úmidos como o solo, os muros, as escarpas e a casca das árvores.

A importância das algas sob o ponto de vista ecológico é devido ao fato de que as algas do fitoplâncton (superfície do mar), ao consumirem o oxigênio da água liberam o gás oxigênio na atmosfera na sua respiração, sendo conside-

radas o “pulmão do planeta”, fornecendo cerca de 70% à 90% de todo o oxigênio. Servem também de base à cadeia alimentar marinha.

A aplicação industrial apresenta vários segmentos, assim, diatomito tem aplicação em lixas para polimentos finos, creme dental, cosméticos, filtros de piscinas; agar, carragenina e caminavina em remédios (laxante) e chocolate; alginato, em cobertura de bolas, consistência de sorvetes.

As algas, portanto, estão cada vez mais presentes no cotidiano da população, porém são um dos produtos mais desconhecidos a título de informações nutricionais, riscos de contaminação, etc. E, aliado ao fato de que são estabelecidos níveis máximos de contaminantes inorgânicos que constituam riscos à saúde humana, presentes nos alimentos, a avaliação da presença de elementos nutrientes e contaminantes torna-se um dos principais interesse no estudo de algas comestíveis (1).

*Kalil Hussein Charanek
Elisabeth de Oliveira**

Universidade
de São Paulo
Instituto de Química

* Autor para
correspondência
Caixa Postal 26077
Cep: 05508-900.
São Paulo. SP
E-mail:
edolivei@quim.iq.usp.br

Experimental

Amostras e Reagentes

As amostras analisadas (num total de oito) foram de algas comestíveis coletadas no comércio da cidade de São Paulo.

As digestões das amostras e a preparação das soluções analíticas de referência foram efetuadas com reagentes de grau analítico, HNO_3 (Merck, Alemanha). Todas as soluções foram preparadas utilizando água destilada e deionizada usando o sistema permuton (Permutation, Brasil) e Milli-Q (Millipore, EUA).

Instrumentação

Neste trabalho foi utilizado um forno assistido por micro-ondas focalizadas da SPEX (*Rapid Digestion System*), constituído de um frasco de digestão de 30cm de comprimento por 4cm de largura, posicionado na cavidade do forno. Este não apresenta sensor de temperatura nem visor que permita o acompanhamento da reação.

As determinações dos elementos contaminantes, nutrientes e C residual foram feitas por espectrometria de emissão óptica com plasma induzido (Spectroflame Modula da Spectro Co) com detecção sequencial e configuração radial. A calibração foi efetuada com soluções analíticas multielementares.

Os comprimentos de onda escolhidos não apresentaram interferências espectrais e de matriz (Tabela 1). Os parâmetros instrumentais utilizados estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 1. Comprimentos de onda e limites de quantificação para os elementos estudados

Elemento	Comprimento de onda (nm)	Limite de detecção ($\mu\text{g L}^{-1}$)*
Al	309,271	230
As	188,979	3
Ca	422,673	35
Cd	226,502	1
Co	238,892	4
Cr	284,325	20
Cu	324,754	56
Fe	259,940	98
K	766,491	4
Mg	285,313	3
Mn	257,610	0.1
Na	588,995	12
P	178,290	2
Pb	182,200	12
S	182,040	188
Se	206,279	99
Zn	334,502	30

* Limite de detecção instrumental calculado como 3 vezes o desvio do branco expresso em concentração.

Tabela 2. Parâmetros instrumentais do ICP-OES

Potência do plasma	Altura de observação	Fluxo de gás refrigerante	Fluxo de gás auxiliar	Fluxo do nebulizador
1200 W	12 mm	12 L min^{-1}	1,2 L min^{-1}	1,0 mL min^{-1}

O sistema utilizado para a geração do hidreto (2,3,4,5) de Se, envolveu a redução do metal utilizando borohidreto de sódio (6), sendo utilizado um separador de fases, descrito em Oliveira et al (7). As condições instrumentais usadas no acoplamento gerador de hidretos-ICP-OES, estão apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3. Parâmetros instrumentais do sistema: gerador de hidretos- ICP-OES

Espectrômetro	Spectroflame Modula
Potência	1,2 KW
Tempo de Integração	5 s
Fluxo do gás refrigerante Ar	12,0 L min^{-1}
Fluxo do gás carreador Ar	0,6 L min^{-1}
Fluxo do gás auxiliar Ar	1,2 L min^{-1}
Vazão de introdução (via Bomba Peristáltica)	1,5 mL min^{-1} (vazão da amostra) 2,5 mL min^{-1} (vazão NaBH_4)
Altura de observação	12 mm
Comprimento de onda	196,020 nm
Limite de detecção instrumental	4,8 $\mu\text{g L}^{-1}$

Procedimentos

Preparo das soluções de referência para as curvas analíticas e geração do hidreto de Se

Para a determinação de carbono residual foram preparadas as soluções de referência de 0,5%, 0,5%, 1,0% e 2,5 % de C, a partir de uma solução estoque do sal dissódico do ácido etilenodiaminotetracético.

As soluções analíticas de referência multielementares foram preparadas por diluição adequada de soluções-padrão de 1000mg L^{-1} Titrisol (Merck, Alemanha). As concentrações destas soluções foram de 0,10, 1,0, 10 e 100mg L^{-1} . Para evitar perda dos íons por hidrólise ou adsorção, as soluções analíticas de referência foram preparadas em solução 1% v/v de HNO_3 , a qual foi também utilizada como branco analítico.

A solução de NaBH_4 1% (Merck, Alemanha) utilizada, foi estabilizada pelo seu preparo em meio alcalino (NaOH 0,1 M, Merck, Alemanha) devido à hidrólise, de acordo com Lanujen (8).

Preparação das amostras

Para a digestão das amostras, foi utilizado o seguinte programa de aquecimento: para uma massa de cerca de 0,5g (pesadas em balança analítica), foram adicionados 7ml de HNO₃ e aplicou-se potência de 90W por cinco minutos. As soluções límpidas foram avolumadas a 25mL com água destilada e deionizada e armazenadas em frascos de polietileno.

O fluxograma da metodologia usada para o preparo das amostras para análise por geração de hidretos acoplada ao ICP-OES está apresentado na figura 1.

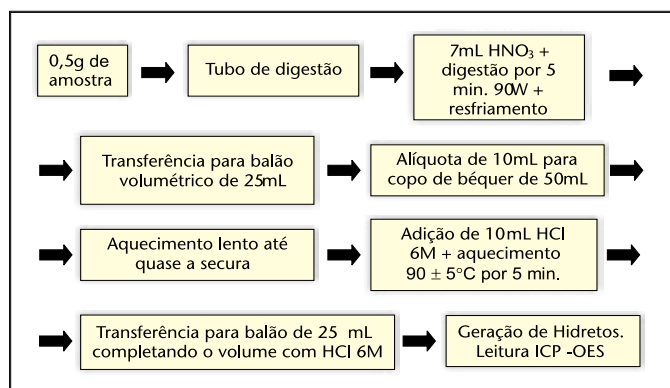


Figura 1. Fluxograma da abertura das amostras pelo método da geração de hidretos

Resultados e Discussão

Os resultados obtidos para o C residual, entre 0,20% e 0,25 %, e as recuperações obtidas com adição de analitos entre 80% e 120 %, para todos os elementos estudados, evidenciam a eficiência do método de digestão, para solubilização de amostras de algas comestíveis.

Na tabela 4, estão apresentados os valores obtidos para os 17 elementos determinados em oito amostras de algas comestíveis.

Os valores obtidos para os elementos estudados, permitiram classificar como macronutrientes (teor > 0,01%): Na, K, Ca, Mg, P e S, e como micronutrientes (teor < 0,01%): Cu, Mn e Zn. O Al apresentou teor de micronutriente em sete amostras e de macronutriente em uma amostra. O Fe apresentou teor de micronutriente para seis amostras e de macronutriente para duas amostras.

A comparação dos valores da tabela 4, com valores rotulados de algumas algas mostrou que:

- Na- faixa obtida: 4 – 41 mg g⁻¹, valores de rótulo: 29 – 45 mg g⁻¹;
- Ca- faixa obtida: 1,4 – 10,4 mg g⁻¹, valor de rótulo: 7,6 mg g⁻¹;
- Fe- faixa obtida: 0,020 – 0,142 mg g⁻¹, valor de rótulo: 20-40 mg g⁻¹.

Tabela 4. Média e desvios padrões para os 17 elementos inorgânicos determinados nas 8 amostras de algas comestíveis, n=2

	A	B	C	D	E	F	G	H
Al	21,8 ± 2,5	18,6 ± 0,2	14,5 ± 1,2	92,3 ± 7,7	96,0 ± 4,3	96,2 ± 1,1	177 ± 2	88,7 ± 1,3
As	16,6 ± 0,8	24,5 ± 0,1	19,8 ± 0,6	11,5 ± 0,1	20,2 ± 1,3	45,0 ± 0,9	60,3 ± 2,3	19,2 ± 1,4
Ca	10,4 ± 0,1	2,77 ± 0,23	7,34 ± 0,79	1,38 ± 0,25	2,50 ± 0,17	4,85 ± 0,54	4,88 ± 0,58	1,94 ± 0,08
Cd	-	-	-	-	1,13 ± 0,05	-	1,12 ± 0,12	-
Co	-	-	-	-	-	-	-	-
Cr	-	-	-	-	-	-	-	-
Cu	-	-	-	7,27 ± 0,21	5,79 ± 0,09	1,44 ± 0,02	1,68 ± 0,03	3,78 ± 0,32
Fe	43,7 ± 2,2	107 ± 2	19,7 ± 1,1	62,3 ± 0,9	82,6 ± 3,8	20,2 ± 0,5	142 ± 3	65,9 ± 2,7
K	116 ± 5	18,1 ± 0,8	79,1 ± 9,6	13,0 ± 1,9	11,4 ± 1,6	26,0 ± 1,0	25,0 ± 7,4	13,0 ± 0,5
Mg	7,99 ± 0,50	4,33 ± 0,06	4,88 ± 0,48	2,12 ± 0,10	2,65 ± 0,15	4,36 ± 0,70	4,13 ± 0,18	2,39 ± 0,06
Mn	-	18,2 ± 0,1	-	13,4 ± 1,1	30,0 ± 1,6	2,83 ± 0,11	11,0 ± 1,0	17,3 ± 0,8
Na	40,8 ± 2,2	9,26 ± 0,50	23,1 ± 1,8	17,7 ± 0,3	3,76 ± 0,23	13,7 ± 0,1	14,2 ± 0,9	13,3 ± 0,9
P	1,74 ± 0,26	5,34 ± 0,10	1,56 ± 0,11	2,83 ± 0,13	3,46 ± 0,07	3,02 ± 0,17	2,13 ± 0,47	2,86 ± 0,11
Pb	1,48 ± 0,07	-	0,893 ± 0,083	11,1 ± 1,7	13,0 ± 1,9	9,82 ± 0,50	10,4 ± 0,4	12,0 ± 0,5
S	4,25 ± 0,10	22,1 ± 0,9	3,21 ± 0,11	16,2 ± 1,2	17,4 ± 1,8	3,92 ± 0,52	3,68 ± 0,35	15,8 ± 0,6
Se	1,10 ± 0,10	1,30 ± 0,10	1,80 ± 0,10	1,50 ± 0,30	1,20 ± 0,10	1,30 ± 0,10	1,90 ± 0,30	1,60 ± 0,10
Zn	26,5 ± 0,7	35,6 ± 0,6	18,9 ± 1,0	18,4 ± 1,8	31,2 ± 1,8	34,5 ± 0,6	22,1 ± 0,9	28,9 ± 0,9

- = não encontrado no nível do LOD instrumental

mg g⁻¹ = Ca, K, Mg, Na, P e S

µg g⁻¹ = Al, As, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Pb, Se e Zn

Assim, o método desenvolvido no presente trabalho, o qual apresentou recuperação adequada dos elementos de interesse, também apresentou valores comparáveis aos de rótulos, quando apresentado. Com relação ao Fe, os valores obtidos foram bem inferiores em relação aos rotulados, porém concordam com os valores obtidos por Xiaolin Hou et al (8), que obtiveram para Fe valores entre 0,090 e 6,209 mg g⁻¹. Os elementos Co, Cr e Se apresentaram valores abaixo dos valores de detecção pelo ICP-OES (Tabela 1).

O elemento Cd apareceu em duas amostras de algas com concentrações de 1,13 ± 0,05 µg g⁻¹ e 1,12 ± 0,12 µg g⁻¹, estando os mesmos, próximos do valor de controle pela Legislação Brasileira de 1 µg g⁻¹. Para os outros elementos controlados nos alimentos pelo Ministério da Saúde, todas as amostras apresentaram valores para As bem maiores do que 1 µg g⁻¹, que é o valor máximo permitido pela Legislação Brasileira. O trabalho de Xiaolin Hou et al (8), apresentou valores entre 6 e 230 µg g⁻¹ para As, de acordo com os valores encontrados no presente trabalho.

Para o Pb, que apresenta o limite de 1 µg g⁻¹ pela Legislação Brasileira, o valor foi ultrapassado em seis amostras, ficando entre 1,48 µg g⁻¹ e 13,0 µg g⁻¹. Estes valores estão de acordo com o trabalho de Hsu YM et al, no qual em uma das amostras o valor encontrado foi de 15 µg g⁻¹ de Pb (9).

Não foi possível a determinação do selênio utilizando apenas o ICP-OES. Assim, foi proposto o acoplamento do espectrômetro (ICP-OES) a um sistema de geração de hidretos, com a finalidade de se abaixar o limite de detecção do mesmo, uma vez que, dependendo do teor encontrado nas amostras, ele pode ser considerado nutriente ou contaminante.

Os valores obtidos para Se (Tabela 4) pelo método de geração de hidretos ultrapassaram o nível máximo permitido pela legislação, que é de 0,3 µg g⁻¹. Os valores de Se obtidos por Xiaolin Hou et al (8) ficaram entre 0,330 e 0,865 µg g⁻¹, também acima do permitido pela Legislação Brasileira.

Com os valores obtidos para 15 elementos determinados (não foram considerados Co e Cr, cujos teores encontram-se abaixo do limite de detecção instrumental) em oito amostras de algas comestíveis, foi corrido o programa SPSS (1) (figuras 2 e 3), para verificação da distribuição hierárquica das amostras em relação à concentração dos elementos.

As amostras A, C e F apresentaram comportamento diferenciado, tendo 75% de correlação com as demais; as amos-

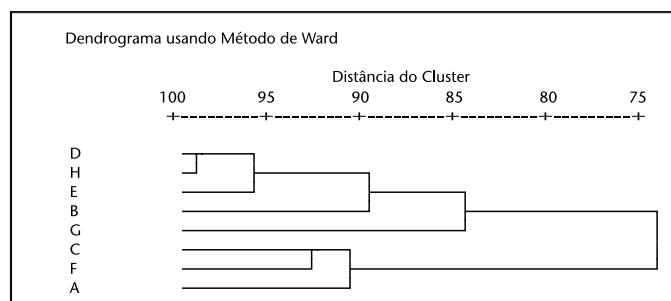


Figura 2. Dendrograma dos clusters das amostras

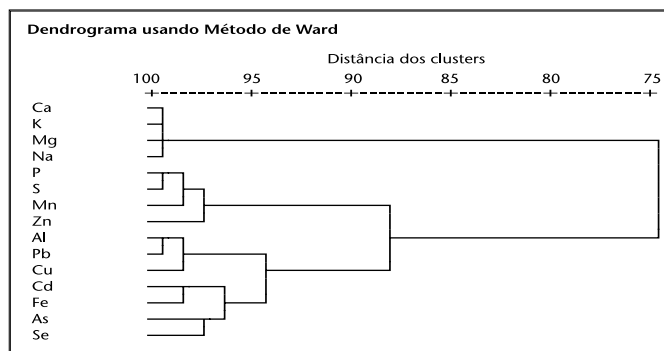


Figura 3. Dendrograma dos clusters dos elementos

tras B, D, E e H apresentaram comportamento semelhante entre si (correlação maior ou igual a 90%) e correlação de 85% com a amostra G (figura 2).

Como a separação se dá por conta da concentração dos elementos presentes nas amostras, os elementos majoritários e nutrientes Na, K, Ca e Mg estão separados dos demais com correlação de $\geq 75\%$; os elementos Mn, P, S e Zn, também nutrientes, apresentaram correlação de $\geq 90\%$ com os grupos constituídos por Al, Cu e Pb e por Fe, Cd, As e Se, os quais entre si apresentaram correlação próxima de 95%, sendo estes dois grupos constituídos por nutrientes e contaminantes com teores acima dos valores permitidos pela Legislação Brasileira, (figura 3).

Estas considerações foram corroboradas pelo gráfico das componentes principais (figura 4), onde os elementos se distribuíram em quatro grupos, estando o grupo Na, K, Ca e Mg, isolado dos demais. Os grupos constituídos por Al, Cu e Pb; As, Cd e Se; Fe, Mn, P, S e Zn, apresentaram como diferença a presença de Fe no grupo de nutrientes e não dos contaminantes, o que é viável em função da concentração e, também, por ser o Fe um micronutriente.

Considerando os dendogramas das figuras 2 e 3, as algas estudadas apresentam valores de nutrientes e contaminantes diferenciados, que as separam em três conjuntos com até 90% de correlação dentro deles e inferior a este valor entre eles: B, D, E e H; G; A, C e F.

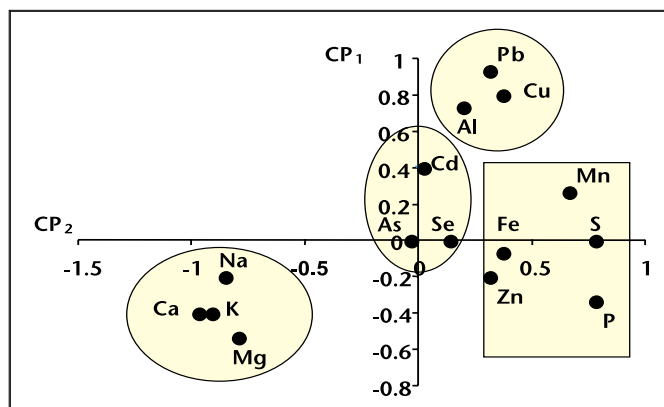


Figura 4. Componentes Principais 1 e 2, correspondentes ao dendrograma da figura 3

O grupo A, C e F é constituído por algas desidratadas, todas oriundas do mesmo país. O grupo G é constituído por alga natural. O grupo B, D, E, e H é de algas processadas oriundas de diferentes países. Este resultado evidenciou a variação da concentração metálica em função do produto final comercializado.

Conclusões

Foi estabelecido um método adequado para a solubilização das amostras para a determinação de alguns elementos, nutrientes e contaminantes, em amostras de algas comestíveis, uma vez que a recuperação dos elementos ficou dentro da faixa adequada de 80% a 120%.

Quanto ao Se, o acoplamento do gerador de hidretos ao espectrômetro de emissão atômica possibilitou a redução do limite de detecção instrumental e, portanto, a sua quantificação.

Os elementos nutrientes: Na, K, Ca, Mg, Mn, P, S e Zn foram determinados nas amostras de algas. Co e Cr ficaram abaixo do limite de detecção instrumental. O Cu é elemento essencial e deve estar em uma dieta em cerca de 2 a 3mg/dia; nas algas, apresentou-se em baixa concentração (11). O Al, possível elemento essencial (12), apareceu como micro ou macronutriente, dependendo da amostra.

Os valores de Se, Pb e As foram maiores do que o permitido pela Legislação Brasileira, em quase todas as amostras; os de Cd ficaram próximos ao permitido e os do Fe abaixo do rotulado. Contudo, estes resultados foram compatíveis com os de outros autores.

As algas analisadas puderam ser divididas em três classes: desidratadas, natural e processadas, em função do conteúdo dos elementos em níveis de macronutriente, micronutrientes e contaminantes.

Agradecimentos

Os autores agradecem a FAPESP – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – pelo suporte financeiro.

Referências

1. Codex Alimentarius Commission, 24th Session, Geneva, 2-7 July 2001.
2. Vogel AI. *Química Analítica Qualitativa*, Ed. Mestre Jou, São Paulo, SP, 252-256, 1981.
3. Thompson KC, Thomerson DR. *Analyst*, 99, 595-601, 1974.
4. Pahlavanpour B, Thompson M, Thorne L. *Analyst*, 105, 756-761, 1980.
5. Nygaard DD, Lowry JH. *Analytical Chemistry*, 59, 1470-1471, 1987.
6. Lanujan LH. *Spectrochemical Analysis by Atomic Absorption and Emission*, Royal Society of Chemistry, 117-125, England, 1992.
7. Oliveira E, McLaren JW, Berman SS. *Analytical Chemistry*, 55 (13), p.2047-2050, 1983.
8. Hou X, Yan X. *The Science of the Total Environment*, 222, (1998), 141-156.
9. Hsu YM, Hwang JM, Yeh TR. *Journal of Food and Drug Analysis*, 9;(3), 178-182.
10. Norusis NJ. *SPSS for windows, professional statistics, release 6.0*, SPSS-INC, USA, 1993.
11. Pedro NAR. *Determinação de Nutrientes Minerais em Alguns Alimentos por ICP-OES*, Tese de Doutorado, IQ-USP, 133p., 1998.
12. Fennema OR. *Food Chemistry*, Food Science and Technology, Third Edition, 1069p., 1996.