

COMPARAÇÃO DE PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS PARA PREPARO DE AMOSTRAS PARA DETERMINAÇÃO DE CÁLCIO E MAGNÉSIO EM LEITE

Resumo

Este trabalho apresenta uma breve comparação sobre procedimentos analíticos para preparo de amostras de leite *in natura*, dando ênfase à determinação de cálcio e magnésio por espectrometria de absorção atômica por chama. Os procedimentos utilizados foram baseados no emprego da técnica por radiação de microondas e amostragem direta de suspensões. Tais procedimentos foram comparados com o método convencional e estudos de recuperação foram efetuados. As vantagens e limitações de cada procedimento são apresentadas e discutidas.

Palavras-chave: leite, microondas, suspensão

Summary

This work presents a brief comparison of analytical procedures for sample preparation of *in natura* milk, regarded from determination of calcium and magnesium by flame atomic absorption spectrometry. Procedures were based about the use of microwaves irradiation and slurry sampling. These procedures were compared with conventional method and studies of recovery also were made. Vantages and limitations are presented and discussed.

Keywords: milk, microwaves, slurry

Introdução

Uma das operações preliminares de uma análise química consiste em submeter uma alíquota representativa da amostra a um tratamento adequado visando sua preparação para os passos subseqüentes. Esses procedimentos dependem da natureza da amostra, dos analitos a serem determinados e sua concentração, do método de análise e da precisão e exatidão desejadas.

Nos métodos convencionais de análise, as amostras são analisadas na forma de solução (1,2). Tradicionalmente, a amostra é preparada por meio de técnicas de digestão, tais como, fusão ou dissolução ácida, sendo que as mesmas levam a uma diluição da concentração do analito na amostra (em sua forma final), ocasionando perda em sensibilidade no procedimento analítico; além de induzir riscos de contaminação quando não são utilizados reagentes químicos de alta pureza.

Dentre todas as operações analíticas, a etapa de pré-tratamento das amostras é a mais crítica. Em geral, é nessa etapa que se cometem mais erros, que se consome mais tempo e de maior custo. Idealmente, um procedimento de digestão de uma amostra deve apresentar simplicidade, rapidez, utilizar pequenos volumes de ácidos, permitir a dissolução de grande número de amostras e finalmente, produzir resultados precisos e exatos.

O preparo de amostras assistido por microondas atende em grande parte a essas necessidades (3). Existem dois tipos de fornos de microondas que são empregados em laboratório para preparo de amostras: os que utilizam frascos fechados a pressões elevadas e os de frascos abertos a pressão atmosférica. Nos sistemas

de frascos fechados a energia das microondas é dispersa por toda a cavidade, enquanto que nos sistemas abertos a energia é focalizada na parte do frasco de decomposição contendo a amostra (4, 5). Em ambos os sistemas, o tempo de decomposição e os riscos ao operador são bastante minimizados. Abu-Samra e colaboradores (6) foram os primeiros a descrever o uso de um forno de microondas para dissolução de amostras. Desde então, vários trabalhos foram publicados envolvendo o uso da radiação das microondas como fonte de energia para promover a dissolução ácida de vários tipos de amostras (7-10). As vantagens oferecidas pela decomposição de amostras com fornos de microondas são amplamente demonstradas e muitos métodos são descritos (11-13).

Outra alternativa para o preparo de amostras é através da técnica de amostragem direta de suspensões, na qual a determinação do analito é realizada diretamente. Esta técnica, originalmente empregada por Brady e colaboradores (14, 15), oferece algumas vantagens quando comparada às técnicas convencionais de solubilização de amostras (16, 17). As principais vantagens são minimização dos riscos de contaminações e/ou perdas do analito durante o preparo da amostra, e menores quantidades de reagentes são empregados tornando a análise mais rápida. Por isso, a técnica das suspensões tem sido usada com sucesso para a análise de vários materiais, principalmente para amostras de gêneros alimentícios (18-20).

Este trabalho apresenta uma comparação de procedimentos analíticos para preparo de amostras de leite visando a determinação

Mauro José Alves Dutra¹
Daniele Minholo dos Santos²
Nívia Maria Melo Coelho^{2*}

¹Departamento de Química,
Universidade Estadual de
Minas Gerais.

²Instituto de Química,
Universidade Federal de
Uberlândia

*Autor para correspondência:
Universidade Federal de
Uberlândia
Instituto de Química
Av. João Naves de Ávila, 2160
CEP 38408-100. Uberlândia. MG
Fone: (34) 3239-4143
Fax: (34) 3239-4208
E-mail: nmmcoelho@ufu.br

Tabela 1. Comparação de procedimentos para determinação de cálcio e magnésio em amostras de leite

Amostras de Leite	Convencional (mg L ⁻¹)		Microondas (mg L ⁻¹)		Suspensão (mg L ⁻¹)	
	Ca	Mg	Ca	Mg	Ca	Mg
Calú						
Parmalat	700,0±5,0	65,2±4,9	885,3±2,0	87,0±1,7	862,1±2,2	81,5±1,5
Italac	687,5±5,6	61,2±1,9	877,3±2,0	82,0±1,5	734,5±2,0	80,4±1,5
Centenário	668,8±6,5	71,0±1,8	864,0±2,9	91,5±1,7	841,4±2,2	85,9±1,9
Frutalat	662,5±6,0	60,4±6,7	866,7±2,9	85,0±1,7	848,3±2,2	82,1±1,5
Letícia	652,3±4,4	62,0±1,3	842,7±2,8	83,1±1,6	710,3±2,0	80,8±1,5
	693,8±4,1	66,1±2,3	882,7±2,0	85,5±1,7	851,7±2,2	84,3±1,9

de cálcio e magnésio por espectrometria de absorção atômica por chama. Os procedimentos utilizados foram baseados no emprego da técnica por radiação de microondas e amostragem direta de suspensões e foram comparados com o procedimento convencional.

Experimental

Amostras, reagentes e soluções

As amostras analisadas foram de leite *in natura* obtidas no comércio da cidade de Uberlândia/MG.

Os reagentes químicos; HCl (Synth), HNO₃ (Nuclear), H₂O₂ (Vetec), utilizados para as digestões das amostras foram reagentes de grau analítico. A solução de monoetanolamina (MEA) 6,0mol L⁻¹ em ácido cítrico 0,2mol L⁻¹ foi preparada dissolvendo 1,92g de ácido cítrico (Vetec) em 18,0mL de MEA (Nuclear) e o volume completado a 50,0mL com água desionizada. As soluções analíticas de referência foram preparadas por diluição adequada de soluções padrão de 1000mg L⁻¹ (Carlo Erba). As concentrações destas soluções foram de 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 e 5,0mg L⁻¹ para cálcio e de 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 e 0,5mg L⁻¹ para magnésio. Estas soluções foram preparadas em ácido nítrico e cloreto de lantânio, de concentração final de 0,01mol L⁻¹ e 1,0% m/v (de La), respectivamente. A solução de HNO₃ 0,01mol L⁻¹ e La 1,0% m/v também foi utilizada como branco analítico. Todas as soluções foram preparadas utilizando água desionizada com resistividade de 18,0MWcm.

Instrumentação

Neste trabalho foi utilizado um forno fechado assistido por microondas da Provecto (Campinas. SP) Modelo DGT-100. Este forno tem a capacidade para 12 frascos de digestão posicionados na cavidade do forno. Os frascos de digestão utilizados são de Teflon e medem 12cm de comprimento por 4cm de largura. O forno não apresenta sensor de temperatura nem visor que permita o acompanhamento da reação.

As determinações de cálcio e magnésio foram feitas por espectrometria de absorção atômica por chama (FAAS) utilizando o equipamento da Varian Modelo SpectrAA-220 (Victoria, Austrália). Os parâmetros instrumentais utilizados foram recomendados pelo fabricante ($\lambda = 317,9\text{nm}$ para cálcio e $\lambda = 280,3\text{nm}$ para magnésio).

Procedimentos

Para a digestão das amostras em forno assistido por microondas, foi utilizado o seguinte programa de aquecimento: para o volume de 0,5mL de leite, foram adicionados 2,0mL de HNO₃ e 1,0mL de H₂O₂ e aplicou-se as potências de 250W (dois minutos), 0W (um minuto), 450W (dois minutos) e 650W (dois minutos). Após o resfriamento, as soluções límpidas foram avolumadas a 250,0mL com lantânio a concentração final 1,0% m/v. As soluções foram armazenadas em frascos de polietileno. A Figura 1 mostra o fluxograma do procedimento usado para o preparo das amostras utilizando a técnica por radiação de microondas.

Para o preparo das amostras por amostragem direta de suspensões, foi utilizado o seguinte procedimento: para o volume de 0,5mL de leite, foram adicionados 10,0mL de mistura de MEA 6,0mol L⁻¹ e ácido cítrico 0,2mol L⁻¹, seguida de agitação por três a cinco minutos e o volume completado a 100,0mL com água desionizada. As soluções foram armazenadas em frascos de polietileno. A Figura 2 mostra o fluxograma do procedimento usado para o preparo das amostras utilizando a amostragem direta de suspensões.

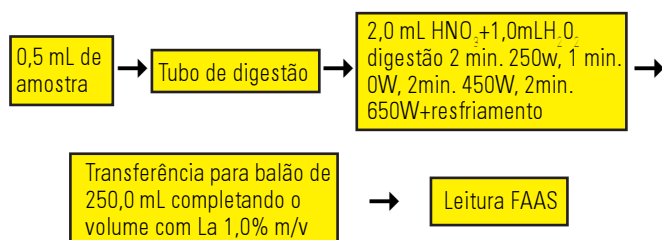
O preparo das amostras pelo método convencional foi o recomendado pelas Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (21). Neste procedimento, 20,0mL de amostra de leite foram aquecidos em banho-maria até a *secura*, em seguida, o resíduo foi calcinado em mufla a 500° C por uma hora. As cinzas foram solubilizadas em 3,0mL de HCl concentrado e o volume completado a 250,0mL com água desionizada. Esta solução foi diluída na razão de 1:10 com ácido nítrico e lantânio, na concentração final de 0,01mol L⁻¹ e 1,0% m/v, respectivamente,

Tabela 2. Estudos de recuperação para determinação de cálcio em leite

Amostra	Convencional		Microondas		Suspensão	
		Recup.	Encontr.	Recup.	Encontr.	Recup.
Am. + 0,50 mg de Ca	0,50	100 %	0,50	100 %	0,50	100 %
Am. + 1,00 mg de Ca	0,93	93 %	1,00	100 %	1,00	100 %

Tabela 3. Estudos de recuperação para determinação de magnésio em leite

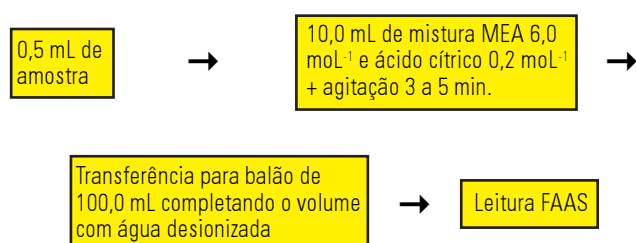
Amostra	Convencional		Microondas		Suspensão	
	Encontr.	Recup.	Encontr.	Recup.	Encontr.	Recup.
Am. + 0,05 mg de Mg	0,04	80 %	0,05	100 %	0,05	100 %
Am. + 0,10 mg de Mg	0,08	80 %	0,09	90 %	0,10	100 %

**Figura 1. Fluxograma do preparo das amostras por radiação de microondas**

para determinação de magnésio. Para determinação de cálcio, a solução foi diluída na razão de 1:25 com ácido nítrico e lantânio, na concentração final de $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ e 1,0% m/v, respectivamente. A Figura 3 mostra o fluxograma do procedimento usado para o preparo das amostras utilizando o método convencional.

Resultados e Discussões

Neste trabalho foram feitas comparações dos resultados obtidos utilizando o procedimento convencional de preparo de amostras de leite e os procedimentos que utilizam as técnicas por radiação de microondas e análise direta por suspensões visando a determinação de cálcio e magnésio por espectrometria de absorção atômica por chama. Na Tabela 1, estão apresentados os valores obtidos para os elementos determinados em cinco amostras de leite utilizando os procedimentos propostos. Os

**Figura 2. Fluxograma do preparo das amostras por amostragem direta por suspensões**

resultados são os valores médios obtidos e os respectivos limites de confiança de três medidas independentes com 95% de grau de confiança. A quantidade de cálcio e de magnésio presente nas amostras investigadas apresentou intervalos bastante amplos, variando de 656,3 a 885,3 mg L^{-1} para o cálcio e de 60,4 a 91,5 mg L^{-1} para o magnésio. Analisando os dados, podemos notar que os valores de cálcio e magnésio foram menores para todas as amostras analisadas quando o procedimento convencional foi empregado. Foram observados também os valores do branco analítico para cálcio e magnésio de 23,8 mg L^{-1} e 3,6 mg L^{-1} , respectivamente. Neste procedimento, as amostras são decompostas por calcinação após secagem por 12 horas em banho-maria.

Devido ao tempo excessivo para decomposição e por se tratar de um sistema aberto, estas etapas podem induzir riscos de contaminações e perdas do analito por adsorção e/ou volatilização. Em se tratando do procedimento por radiação de microondas, no qual as amostras são decompostas em frascos fechados, espera-se uma redução no tempo da mineralização e nos problemas associados a perdas do analito e contaminação da amostra. A quantidade de reagentes empregada é pequena (3,0 mL no total) e o tempo para a decomposição é menor (oito minutos). Para amostragem direta por suspensão, o preparo da amostra consiste simplesmente em misturar 0,5 mL de leite com a solução MEA/ácido cítrico, seguida de agitação por três a cinco minutos. O tempo de preparo é reduzido e os riscos ao operador são significativamente minimizados. Não foram obtidos valores analíticos para os brancos para determinação de cálcio e magnésio utilizando os procedimentos por radiação de microondas e amostragem direta de suspensões. Uma avaliação estatística para os procedimentos por radiação de microondas e a amostragem direta das suspensões mostrou que não existe diferença significativa nos valores de desvio padrão comparados ao nível de 95%.

Os resultados obtidos dos testes de recuperações com adição de 0,50 mg e 1,00 mg de cálcio e 0,05 mg e 0,10 mg de magnésio nas amostras analisadas evidenciam a eficiência dos métodos de digestão para solubilização das amostras de leite (Tabelas 2 e 3). Exceto os valores de recuperação para magnésio empregando o procedimento convencional (recuperação de 80%), todos valores obtidos empregando os procedimentos apresentaram recuperações adequadas aos elementos estudados.

Tabela 4. Parâmetros de comparação utilizando os procedimentos analíticos

Parâmetro	Convencional	Microondas	Suspensão
Volume de Amostra (mL)	20,0	0,5	0,5
Volume de Reagente (mL)	3,0 mL HCl	2,0 mL HNO ₃ /1,0 mL H ₂ O ₂	10 mL MEA/ácido cítrico
Tempo de preparo	24 horas	8 minutos	5 minutos
Precisão (d.p.r.)	8,0 % Ca 6,5 % Mg	2,4 % Ca 2,3 % Mg	2,1 % Ca 2,9 % Mg

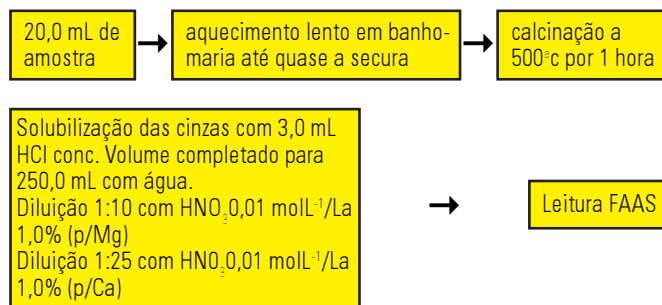


Figura 3. Fluxograma do preparo das amostras utilizando o método convencional

Os benefícios da análise direta de suspensões incluem: diminuição do tempo de preparo das amostras, menor possibilidade de contaminação, menor possibilidade de perda do analito devido à retenção por resíduos insolúveis ou volatilização, menor uso de reagentes, menor produção de resíduos e diminuição dos custos analíticos. Adicionalmente, a análise direta de suspensões por espectrometria de absorção atômica com chama pode ser implementada sem grandes dificuldades para amostras com partículas diminutas (por exemplo: amostras de leite) uma vez que não foi observado o entupimento do capilar que conduz a amostra à câmara de nebulização. As medidas puderam ser efetuadas sem problemas causados por impregnação de partículas de gordura no nebulizador ou na câmara de nebulização, mesmo após uma sessão ininterrupta de trabalho de oito horas, usando-se água para limpeza. A análise direta de suspensões apresenta ainda a vantagem de se utilizar a curva analítica empregando soluções padrão aquosas do analito.

A Tabela 4 mostra alguns parâmetros de comparação utilizando

os procedimentos propostos. A precisão, dada pelo desvio padrão relativo (d.p.r.), é maior para o procedimento convencional tanto para determinação de cálcio quanto de magnésio. Para os procedimentos envolvendo radiação de microondas e amostragem direta por suspensão, os desvios padrão foram de 2,4% e 2,1% para cálcio, respectivamente, e de 2,3% e 2,9% para magnésio, respectivamente. Observa-se que o volume de amostra é menor para os procedimentos envolvendo radiação de microondas e amostragem direta por suspensão, portanto evitando ou minimizando problemas ambientais.

Conclusão

Dos procedimentos estabelecidos para a solubilização das amostras de leite para determinação de cálcio e magnésio, conclui-se que a amostragem direta por suspensões pode ser recomendada para diminuir o tempo gasto no preparo de amostras em procedimentos analíticos; além de apresentar outras vantagens inerentes a etapa de pré-tratamento de amostras. A técnica por radiação de microondas também apresentou simplicidade, precisão, custo e facilidade de operação. Estes procedimentos podem ser facilmente implementados em análises de rotina e a escolha deve considerar os equipamentos disponíveis no laboratório e a experiência do analista. Esses procedimentos são mais atrativos, mais rápidos e geram resultados mais confiáveis que a digestão via seca, que ainda é adotada em laboratórios de controle de qualidade de produção industrial.

Agradecimentos

Os autores agradecem a FAPEMIG – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – pelo suporte financeiro.

Referências

- Sulcek Z, Povondra P. *Methods of Decomposition in Inorganic Analysis*, CRC Press, Boca Raton - Florida, 1989, 325p.
- Bock R, *A Handbook of Decomposition Methods in Analytical Chemistry*, International Texbook, Glasgow, 1979, 444p.
- Arruda MAS, Santelli RE. *Química Nova*, 1997, 20, 638
- Mingorance MD, Pérez-Vazquez ML, Lachica M. *J. Anal. At. Spectrom.*, 1993, 8, 853
- Krushevska A, Barnes RM, Amarasiriwardena C. *Analyst*, 1993, 118, 1175
- Abu-Samra A, Morris JS, Koirtiyohann SR. *Anal. Chem.*; 1975, 47, 1475
- Jin Q, Liang F, Zhang H, Zhao L, Huan Y, Song D. *Trends in Analytical Chemistry*, 1999, 18, 479
- Silvestre MD, Lagarda MJ, Farré R, Martinez-Costa C, Brines J. *Food Chem.*, 2000, 68, 95
- Ikem A, Wankwoala A, Oduyngbo S, Nyavor K, Egiebor N. *Food Chem.*, 2002, 77, 439
- Warpelhorst O, Kuhnn I, Heindenreich H, Market B. *Nutrition*, 2002, 18, 316
- Silva FV, Lopes GS, Nóbrega JA, Souza GB, Nogueira, A. R. A.; *Spectrochim. Acta.*, 2001, 56, 1909
- Knapp G, Maichin B, Fecher P, Hasse S, Schramel P. *Fres. J. Anal. Chem.*, 1998, 362, 508
- Quaresma MCB, Cassella RJ, de la Guardia M, Santelli RE. *Talanta*, 2004, 62, 807
- Brady DV, Montalvo JG, Jung J, Curran RA. *At. Absorpt. Newsl.*, 1974, 13, 118
- Brady DV, Montalvo JG. *Anal. Chim. Acta*, 1974, 70, 448
- Arruda MAS, Gallego M, Valcárcel M. *Quím. Anal.*, 1995, 14, 17
- Magalhães CEC, Arruda MAS. *Química Nova*, 1998, 21, 459
- Viñas P, Campillo N, García IL, Córdoba MH. *Anal. Chim. Acta*, 1993, 283, 393
- Stalikas CD. *Trends in Analytical Chemistry*, 2002, 21, 343.
- Cava-Montesimos P, Ródemas-Torralba E, Morales-Rubio A, Cervera ML, de la Guardia M. *Anal. Chim. Acta*, 2004, 506, 145
- Pregnotatto W, Pregnotatto NP. *Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz*, São Paulo, 1985, 212p.