

Otimização de método para decomposição de amostras de méis de abelha com ácido diluído visando avaliação dos teores de cobre e zinco

Victor Miranda Amazonas¹, Priscila Caroso da Rocha¹ e Cleber Galvão Novaes¹

Resumo:

Neste trabalho o foco foi avaliar a disponibilidade de cobre e zinco em mel de abelha. Antes da análise no espectrômetro de absorção atômica com chamas o FAAS, as amostras precisaram passar por um procedimento de digestão ácida buscando diminuir a interferência causada pela matriz orgânica presente na amostra. Para a digestão foi adotado um planejamento de mistura com três restrições sendo elas, água deionizada, peróxido de hidrogênio e ácido nítrico diluído buscando otimizar a digestão das amostras. As amostras foram em frascos de PTFE e colocados em um cilindro de aço (bombas de digestão) e levadas à estufa, onde foi mantida por 4 horas a uma temperatura de 120 ± 10 °C. Após a otimização, três amostras de mel de abelhas, adquiridos com produtores das cidades de Jequié, Jitaúna e Maracás cidades do sudoeste baiano, foram analisadas, em triplicata. Os elementos cobre e zinco apresentaram-se como dentro dos padrões estabelecidos pela EMBRAPA. A disponibilidade do cobre variou de 2,21 e 4,26 µg/g. Uma amostra de cada mel foi submetida ao processo de digestão total usando ácido nítrico diluído e peróxido de hidrogênio para estimar o teor total dos elementos presentes na matriz. Nessa análise identificou-se que o ferro foi o metal presente em maiores concentrações, de 88,98 a 137,49 µg/g, enquanto que o manganês esteve presente em menores concentrações, de 34,84 e 53,60 µg/g. A concentração do cobre variou de < LQa 0,1192 µg/g e o zinco 0,0545 a 0,2761 µg/g.

Palavra-chave: Planejamento de mistura; Disponibilidade de metais; Mel de abelha.

Abstracts:

In this work the focus was to evaluate the availability of copper and zinc in bee honey. Before analysis by flame atomic absorption spectrometer (FAAS), the samples had to go through an acid digestion procedure in order to reduce the interference caused by the organic matrix present in the sample. For the digestion, a mixture design with three restrictions was adopted, which were deionized water, hydrogen peroxide and diluted nitric acid, seeking to optimize sample digestion. The samples were placed in PTFE bottles and placed in a steel cylinder (digestion pumps) and taken to the oven, where they were kept for 4 hours at a temperature of 120 ± 10 °C. After optimization, three samples of honey acquired from producers in the cities of Jequié, Jitaúna, and

1 - Departamento de Ciências e Tecnologias - DCT
Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - UESB, 45208-091, Jequié-BA, Brazil.

Maracás, cities in southwestern Bahia, were analyzed in triplicate. The elements copper and zinc were within the standards established by EMBRAPA. The availability of copper varied from 2.21 and 4.26 $\mu\text{g/g}$. A sample of each honey was submitted to a total digestion process using diluted nitric acid and hydrogen peroxide to estimate the total content of elements present in the matrix. In this analysis it was identified that iron was the metal present in higher concentrations, from 88.98 to 137.49 $\mu\text{g/g}$, while manganese was present in lower concentrations, from 34.84 and 53.60 $\mu\text{g/g}$. The concentration of copper ranged from $< \text{LQa } 0.1192 \mu\text{g/g}$ and zinc 0.0545 to 0.2761 $\mu\text{g/g}$.

Keyword: Mixture planning; Availability of metals; Honey bee.

Introdução:

Segundo Pedroso (2018), a apicultura é umas das criações de animais mais antigas e importantes para o mundo, prestando grande contribuição ao homem através da produção do mel, da geleia real, da própolis, da apitoxina, da cera e do pólen apícola, além dos recursos de polinização que melhoram a produtividade na agricultura e a manutenção da biodiversidade.

De acordo com Mendes e colaboradores (2006), o mel não pode ser considerado um alimento completo pelos padrões nutricionais humanos, mas oferece potencial como suplemento dietético, sendo recomendado por ser um alimento de fácil digestão, podendo ser ingerido diretamente ou utilizado como adoçante em uma variedade de produtos.

Devido às suas aplicações, valores nutricionais e avaliação ambiental o mel de abelha torna-se uma ótima amostra para pesquisa. Dentre esses estudos, diversas pesquisas buscam determinar espécies inorgânicas presentes nas amostras de méis. Santos e colaboradores (2008) e Mendes e colaboradores (2006), trazem em seus estudos a utilização de métodos analíticos associados a análises quimiométricas afim de determinar macro e micronutrientes.

Devido à complexidade da matriz orgânica encontrada nas amostras de méis, há a necessidade de submeter previamente as amostras a uma digestão ácida, neste caso utilizando ácido nítrico diluído na presença de peróxido de hidrogênio. Um planejamento de mistura foi aplicado como recurso para otimizar as proporções dos reagentes utilizados na digestão. As absorvâncias para o cobre e zinco, bem como a resposta múltipla (RM) foram avaliadas como respostas no tratamento de dados. Após a etapa de digestão, as amostras foram analisadas utilizando a espectrometria de absorção atômica com chama (FAAS) a fim de quantificar as concentrações dos metais.

Material e métodos:

Visando a determinação dos metais cobre e zinco utilizando um espectrômetro de absorção atômica utilizando ar/acetileno como composição da chama, fez-se necessário o preparo da curva de calibração utilizando soluções padrões multielementares preparadas a partir de soluções estoque de Cu e Zn. A fonte de radiação utilizada foi uma lâmpada de cátodo oco para cada metal são 324,8 e 213,8 nm, respectivamente.

Para otimizar de forma multivariada as quantidades ideais desses três componentes presentes na mistura reacional, as proporções dos mesmos foram definidas com base na aplicação de um planejamento de mistura com restrição (Figura 1).

FIGURA 1: Região experimental do planejamento de mistura com restrição.

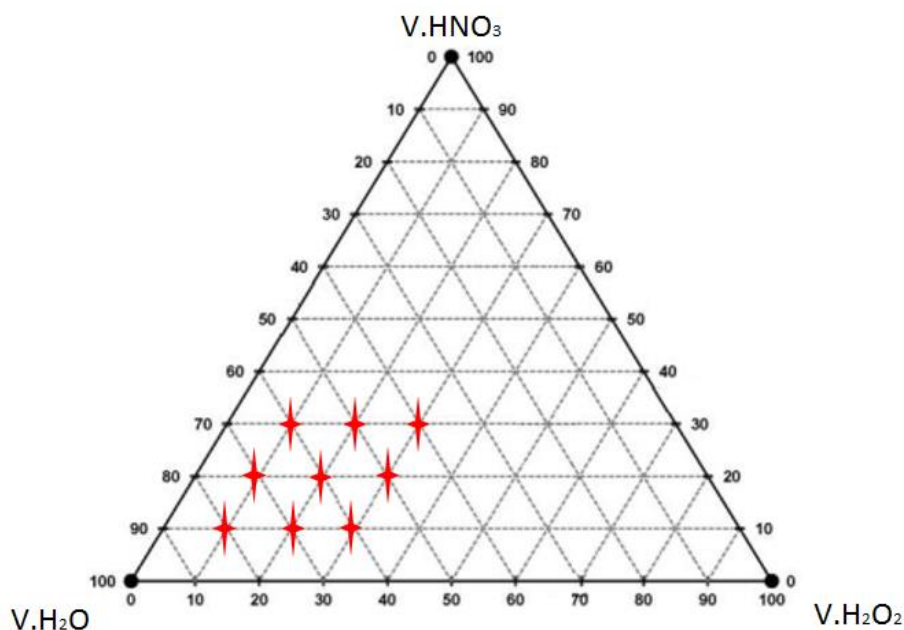


Tabela 1: Matriz e resultados do planejamento de mistura.

Experimentos	Volume de ácido HNO ₃ (mL)	Volume de água (mL)	Volume de H ₂ O ₂ (mL)	Respostas		
				*Cu	*Zn	RM
1	1,2	2,4	0,4	0,005	0,026	1,12
2	1,2	2,0	0,8	0,003	0,012	0,59
3	1,2	1,6	1,2	0,003	0,024	0,87
4	0,8	2,8	0,4	0,010	0,042	2,00
5.1 (PC)	0,8	2,4	0,8	0,003	0,011	0,56
5.2 (PC)	0,8	2,4	0,8	0,002	0,015	0,56
5.3 (PC)	0,8	2,4	0,8	0,003	0,016	0,68
5.4 (PC)	0,8	2,4	0,8	0,002	0,014	0,53
6	0,8	2,0	1,2	0,003	0,026	0,92
7	0,4	3,2	0,4	0,003	0,017	0,70
8	0,4	2,8	0,8	0,002	0,010	0,44
9	0,4	2,4	1,2	0,002	0,009	0,41

*Respostas medidas como absorvância; RM: Resposta Múltipla.

Para o procedimento de digestão foi pesada uma massa aproximada de 0,5000 g da amostra de mel, diretamente em frascos de PTFE (KHAMMAS et al. 2012). Aos frascos foram adicionados solução de ácido nítrico 4,0 mol/L, água ultrapura e de peróxido de hidrogênio 30%. Os frascos de PTFE foram colocados em um cilindro de aço (bombas de digestão) e levadas à estufa, onde foi mantida por 4 horas a uma temperatura de 120 ± 10 °C.

Resultados e Discussão:

A otimização multivariada é um recurso utilizado quando pretende-se definir as melhores condições de um processo, neste caso uma melhor digestão. Esse modo de otimização permite estudar vários fatores simultaneamente, e as condições ótimas são encontradas através de recursos matemáticos e estatísticos. A otimização multivariada foi realizada através do planejamento de mistura com restrição. A restrição neste caso está relacionada ao fato do procedimento exigir obrigatoriamente uma mínima

quantidade de ácido para ocorrer uma digestão ácida. Para o estabelecimento do planejamento foram avaliados os volumes de três componentes que estão presentes no meio reacional (ácido nítrico 4,0 mol/L, água ultrapura e peróxido de hidrogênio 30%), conforme apresentado na Figura 1. O volume total da solução final em todos os ensaios foi de 4,0 mL. Para o planejamento foi utilizada uma amostra real de mel da cidade de Jequié-BA.

No planejamento, foram utilizadas como respostas as absorvâncias dos elementos cobre e zinco bem como a resposta múltipla obtida a partir do somatório das absorvâncias individuais após normalização dos dados (BEZERRA et al. 2019). O processo de normalização foi realizado aplicando a seguinte equação:

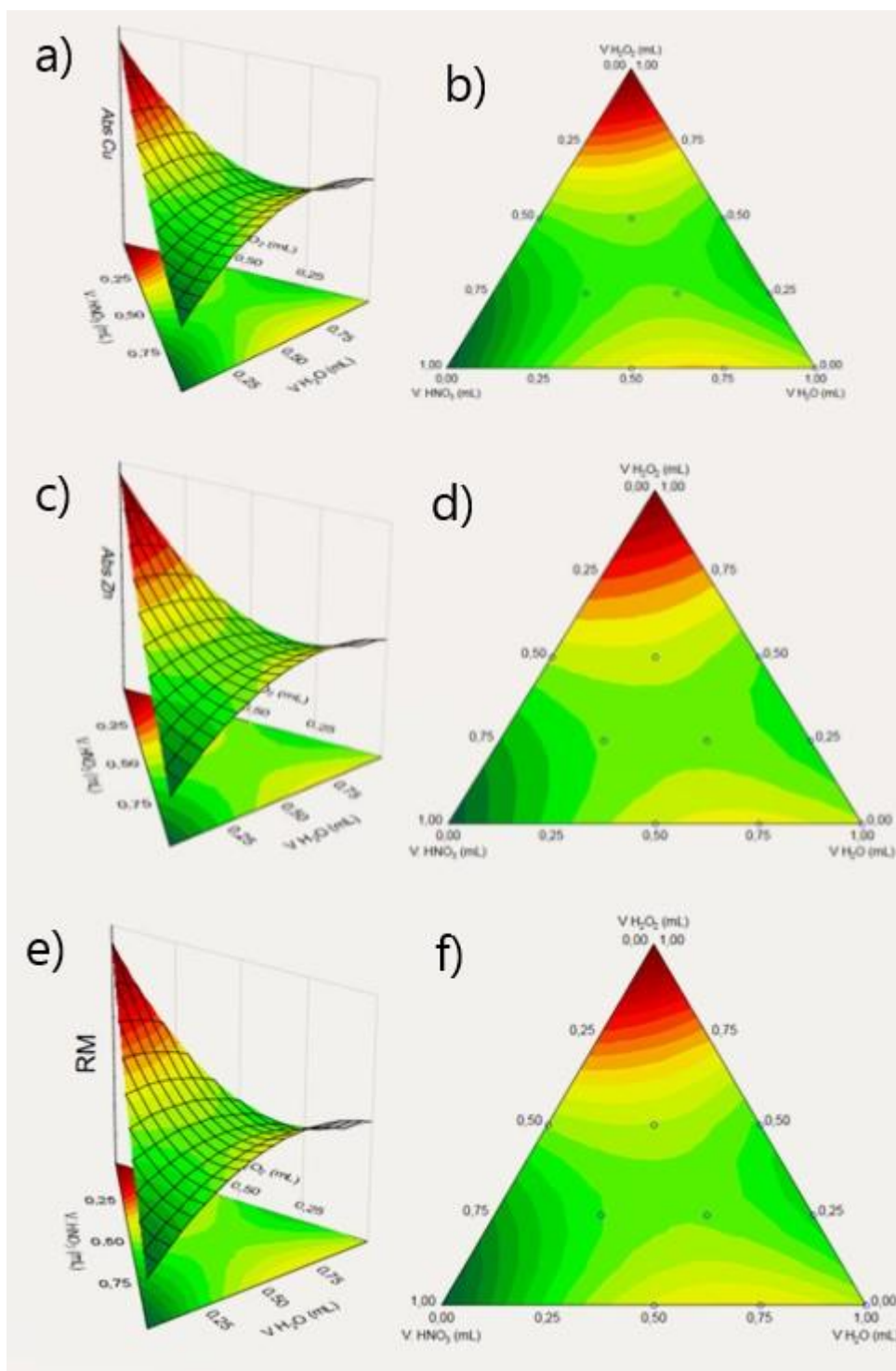
$$RM = (\text{absorvância do Cu no ensaio} / \text{maior absorvância do Cu no conjunto de dados}) + (\text{absorvância do Zn no ensaio} / \text{maior absorvância do Zn no conjunto de dados})$$

A matriz experimental contendo as respostas obtidas (absorvâncias individuais e RM) estão apresentadas na Figura 1.

Visualmente, a digestão realizada aplicando o planejamento experimental mostrou-se eficiente para todos os experimentos, exceto para o ensaio 7. Em todos os experimentos foi observado o clareamento da amostra de âmbar para incolor e a diminuição da viscosidade das amostras, porém a amostra 7 permaneceu com a viscosidade e a coloração âmbar bem como a presença de resíduos sólidos não digeridos.

Os dados experimentais para absorvância e RM foram tratados no programa Statistica 12 e geraram as superfícies de resposta, apresentadas nas Figuras 2.

FIGURA 2: Planejamento de mistura usando cobre como resposta. (a) Superfície de resposta e (b) Superfície de contorno, usando zinco como resposta. (c) Superfície de resposta e (d) Superfície de contorno e a usando RM como resposta. (e) Superfície de resposta e (f) Superfície de contorno.



O modelo quadrático obtido para ambas as respostas (Absorvâncias e RM) apresentou superfícies muito semelhantes em relação ao aspecto visual e às condições ideais. Isso demonstra que a digestão acontece numa mesma tendência para ambos os elementos estudados. Neste caso, a RM mostrou-se muito útil para uma avaliação global do sistema, visto que o comportamento individual dos elementos é mantido mesmo quando se usa a resposta global.

A figura 2 apresenta uma superfície que possui um ponto crítico representado pelo ponto máximo e, portanto, as coordenadas desse ponto são as proporções adequadas para obter uma resposta maior. O ponto máximo é identificado na cor vermelha nas figuras. Os pontos críticos são obtidos pela aplicação do critério de Lagrange, que é baseado no determinante Hessiano (CAMPAÑA et al. 1997).

Após o processo de otimização e conseqüentemente definição das condições ótimas dos volumes dos reagentes estabelecidas com o planejamento de mistura, foi realizada a digestão de três amostras de mel coletadas nas cidades de Jequié, Jitaúna e Maracás.

Para correlacionar os valores de absorvância com os valores de concentração, foi realizado uma etapa de calibração instrumental, com intuito de gerar um modelo matemático linear. (MENDES et al. 2006 e SANTOS et al. 2008) ressaltam a importância da calibração em análises quantitativas, pois esse processo indica que a resposta dada pelo sistema de medida a ser utilizado está diretamente relacionada às concentrações dos padrões preparados.

Após a calibração instrumental, a análise das amostras de méis de abelha foi realizada e os cálculos foram realizados com base nas equações estabelecidas para os elementos. A tabela 1 traz os resultados das concentrações em mg/L e em µg/g. Os sinais de absorvâncias obtidos para as amostras apresentaram-se dentro da faixa analítica atribuída nas curvas de calibração.

TABELA 2: Resultado das análises (em duplicata) para cobre e zinco nas amostras de mel de abelhas obtidos após a digestão.

Amostra	Concentração			
	mg/L		µg/g	
	Cu	Zn	Cu	Zn
Jequié (Europa)	< LQ	0,0281	< LQ	0,0545
	< LQ	0,0333	< LQ	0,0634
Jitaúna (Europa)	0,0589	0,1365	0,1192	0,2761
	< LQ	0,0814	< LQ	0,1631
Maracás (Europa)	< LQ	0,0901	< LQ	0,1821
	< LQ	0,0913	< LQ	0,1848

LQ: Limite de quantificação da técnica.

Nos resultados apresentados na tabela 1, pode-se notar que só foi possível a quantificação de cobre para a amostra de mel coletada em Jitaúna. Isso ocorre devido à baixa concentração de cobre presente nas amostras, e nesses casos a quantidade é menor do que o limite de quantificação da técnica para o elemento cobre. A concentração de cobre encontrada não difere tanto dos valores encontrados por Santos e colaboradores (2008), porém não condizem com os valores de concentração encontrados por Mendes e colaboradores (2006).

Para o elemento zinco foi possível a quantificação em todas as três amostras. As concentrações encontradas variaram de 0,545 a 0,2761 µg/g (0,0281 a 0,1365 mg/L). O estudo feito por Santos e colaboradores (2008), trazem valores de concentração similares, porém, os valores de concentração encontrados por Mendes e colaboradores (2006) são mais altos do que os valores encontrados nesta pesquisa. A amostra de Jitaúna apresentou a maior concentração tanto para cobre quanto para zinco.

As faixas de concentração de cobre e zinco encontradas para o mel está de acordo com o estudo realizado por Santos e colaboradores (2008). As variações observadas podem ser atribuídas às dimensões, vegetação, variabilidade genética das espécies e condições climáticas da região sudoeste do estado da Bahia.

Conclusões:

Conclui-se que a digestão utilizando ácido nítrico diluído com a presença de peróxido de hidrogênio mostrou ser uma alternativa eficaz para a preparação de uma amostra complexa como o mel. Adicionalmente, o uso de ácido diluído é uma alternativa que contribui para a Química Verde. O planejamento de mistura aplicado apresentou características favoráveis visando a otimização do método de digestão.

Agradecimentos:

Agradecimentos a agência fomentadora da bolsa, a Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB.

Referências Bibliográficas:

1. BEZERRA, Marcos Almeida et al. Otimização simultânea de respostas múltiplas e sua aplicação em química analítica – uma revisão. *Talanta*, v. 194, p. 941-959, 2019.
2. CAMPAÑA, A.M.G.; RODRIGUEZ, L.C.; GONZÁLEZ, A.L.; BARRERO, F.A.; CEBA, M.R. Sequential response surface methodology for multioptimization in analytical chemistry with three-variable Doehlert designs. *Analytica Chimica Acta* 348, 237-246, 1997.
3. INMETRO DOQ-CGCRE-008: Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos, 2003.
4. KHAMMAS, ZUHAIR AA; GHALI, AZHAR A.; KADHIM, KASIM H. Combined point cloud extraction and spectrophotometric detection of lead and cadmium in honey samples using a new ligand. *Int J Chem Sei*, v. 10, n. 3, pág. 1185-1204, 2012.
5. MENDES, Teresa MFF; BACCAN, S. Nivaldo; CADORE, Solange. Procedimentos de tratamento de amostras para a determinação de constituintes minerais em mel por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado. *Jornal da Sociedade Brasileira de Química*, v. 17, p. 168-176, 2006.
6. PEDROSO, C.G.S.J. A apicultura como prática educacional de conservação, sustentabilidade e fonte de renda no campo. APACAME – Associação Paulista de Apicultores Criadores de Abelhas Melíferas Europeias, 2018.
7. SANTOS, José Soares dos et al. Classificação do mel nas zonas semi-árida, Mata Atlântica e Floresta de Transição na Bahia, Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Química*, v. 19, n. 3, pág. 502-508, 2008.

8. Krug, F.J.; Rocha, F.R.P. Métodos de Preparo de Amostras Para Análise Elementar. São Paulo: EditSBQ – Sociedade Brasileira de Química, 2016.