

AVALIAÇÃO DE PROCEDIMENTO DE EXTRAÇÃO ASSISTIDO POR ULTRASSOM PARA PREPARO DE AMOSTRAS DE FARINHA DE LINHAÇA VISANDO QUANTIFICAÇÃO DE Cu, Fe, Mn e Zn POR ICP OES

Andresa S. Sampaio¹; Aníbal F. S. Júnior²; Caio S. A. Felix¹; Maria G. A. Korn¹.

¹ Universidade Federal da Bahia (UFBA), Instituto de Química, Departamento de Química Analítica, Rua Barão de Jeremoabo, 147, Ondina, Salvador - BA, 40170-115.

² Universidade do Estado da Bahia (UNEB), Departamento de Ciências da Vida (DCV), Rua Silveira Martins, 2555, Cabula, Salvador - BA, 41150-000.

Palavras-Chave: microelementos, análise de alimentos, química verde

Introdução

A farinha de linhaça é um alimento rico em fibras e ômega 3 e é consumida por quem busca uma alimentação saudável devido aos seus benefícios como auxílio na perda de peso e propriedades antioxidante (Carvalho, 2024). Dessa forma, é de interesse da química estudar esse alimento quanto aos elementos presentes em sua composição.

Os nutrientes são classificados em macroelementos e microelementos. Os macroelementos são aqueles que o organismo humano necessita em grandes quantidades, enquanto os microelementos são aqueles dos quais o organismo necessita em baixas quantidades, embora a ingestão de ambos seja essencial para uma dieta saudável. Cobre, ferro, manganês e zinco são microelementos presentes em enzimas, proteínas e hormônios necessários para o metabolismo, sendo então essenciais para o organismo, mas que, se ingeridos em excesso podem causar prejuízos a saúde, de modo que seja fundamental estudar a quantidade desses nutrientes nos alimentos (Jhonson, 2023).

Com relação aos métodos de preparo de amostras orgânicas sólidas, como é o caso dos alimentos, os mais empregados são aqueles que utilizam a decomposição por via úmida na presença de um ácido inorgânico fortemente oxidante e aquecimento em altas temperaturas (Krug, 2016). No entanto, este tipo de preparo apresenta como desvantagem o fato de se utilizar o ácido na forma concentrada na maioria das vezes, gerando um maior gasto de reagente e expondo quem está manuseando ao perigo.

Desta forma, o objetivo desse trabalho é avaliar métodos sustentáveis para quantificação de cobre, ferro, manganês e zinco em amostras de farinha de linhaça dourada empregando Espectrometria de Emissão Atômica por Plasma Acoplado Indutivamente (ICP OES). O método de preparo de amostras a ser estudado é a extração assistida por ultrassom porque este método vem sendo empregado em diversas matrizes e mostrou-se como uma alternativa rápida e de baixo custo para o preparo de amostras (Krug, 2016). Além disso, foi feito um levantamento bibliográfico onde notou-se que nos últimos cinco anos foram encontradas apenas duas publicações nas quais empregou-se esse método como preparo de amostra de farinhas nutritivas.

Material e Métodos

Três farinhas de linhaça dourada foram obtidas em mercado local da cidade de Salvador, Bahia. O procedimento da extração assistida por ultrassom foi baseado no descrito por Gamela, Costa e Pereira-Filho (2020) e consistiu na pesagem de cerca de 0,12g da farinha em balança analítica com a adição de solução de ácido nítrico a diversas concentrações e em seguida sonicação variando o tempo e a temperatura do banho ultrassônico, conforme mostra o planejamento experimental descrito na Tabela 1. O banho ultrassônico utilizado foi da marca VWR modelo 75D 13710 e as medições foram feitas por ICP OES utilizando um espectrômetro de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado modelo iCAP PRO, da Thermo Scientific e os analitos estudado foram Cu, Fe, Mn e Zn.

Tabela 1. Matriz de planejamento experimental para extração assistida por ultrassom

Experimento	Temperatura (°C)	Tempo de sonicação (min)	Concentração HNO ₃ (mol L ⁻¹)
1	30	5	1
2	60	5	1
3	30	15	1
4	60	15	1
5	30	5	2
6	60	5	2
7	30	15	2
8	60	15	2
9	45	10	1,5
10	45	10	1,5
11	45	10	1,5

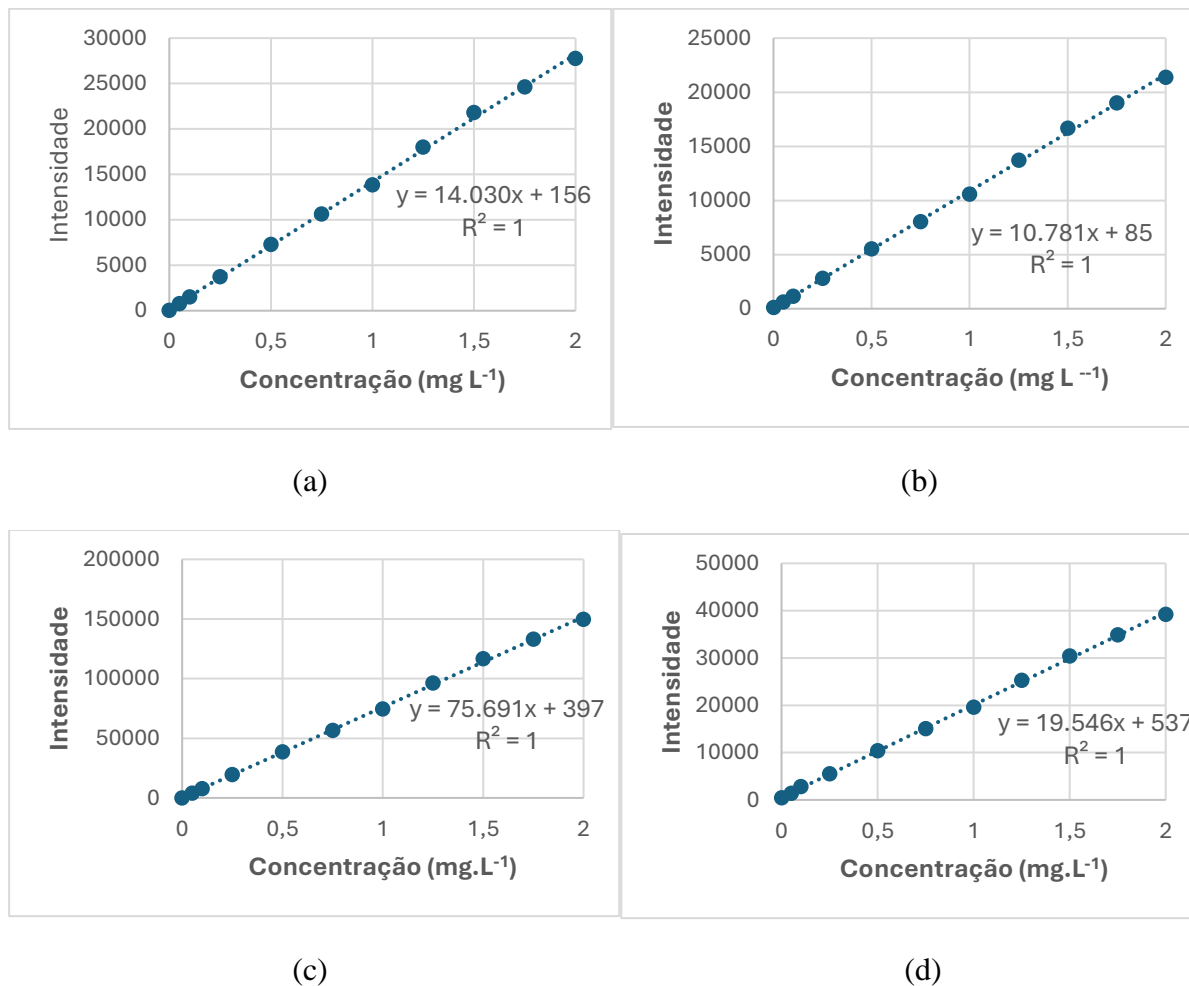
Fonte: autoria própria (2024)

O método de referência utilizado para avaliação dos resultados foi descrito por Carvalho *et.al.* (2022), com modificações. Pesou-se em frascos de PTFE, utilizando uma balança analítica, aproximadamente 0,25 gramas de farinha de linhaça dourada. Adicionou-se 2,0 mL de água ultrapura, 2,0 mL de ácido nítrico e 1,0 mL de peróxido de hidrogênio. Fechou-se os frascos e aqueceu-se em bloco digestor fechado à 180°C por 1 hora. Em seguida transferiu-se o conteúdo dos frascos para tubo Falcon de 50 mL e avolumou-se para 20 mL utilizando água ultrapura. O procedimento foi feito em triplicata para cada farinha estudada. As medições foram feitas por ICP OES utilizando um espectrômetro de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado modelo iCAP PRO, da Thermo Scientific e os analitos estudados foram Cu, Fe, Mn e Zn.

Resultados e Discussão

Foram construídas curvas analíticas de calibração para cobre, ferro, manganês e zinco e os gráficos obtidos são representados pelas Figuras 1 (a), (b), (c) e (d).

Figura 1. Curvas analíticas de calibração para determinação de cobre, ferro, manganês e zinco por ICP OES



1(a): cobre, linha de emissão 324,754 nm; 1(b): ferro, linha de emissão 259,940 nm; 1(c): manganês, linha de emissão 257,610 nm; 1(d): zinco, linha de emissão 202,548 nm.

Fonte: autoria própria (2024)

A partir das equações de reta de cada curva e dos valores de intensidade da radiação emitida determinou-se a concentração em micrograma por grama dos elementos nas três farinhas analisadas. Na Tabela 2 estão os valores para as amostras decompostas por digestão em bloco digestor fechado e na Tabela 3 os resultados do planejamento experimental empregando extração por ultrassom em porcentagem de recuperação.

Tabela 2. Concentração de Cu, Fe, Mn e Zn, em $\mu\text{g g}^{-1}$, nas amostras de farinha de linhaça dourada decompostas em bloco digestor fechado.

Amostra/ elemento ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Cu	Fe	Mn	Zn
Farinha A	11,4 \pm 0,1	60,0 \pm 2,8	23,9 \pm 0,5	39,7 \pm 0,4
Farinha B	13,7 \pm 0,2	66,9 \pm 0,2	43,9 \pm 0,6	48,5 \pm 0,9
Farinha C	13,5 \pm 0,1	67,2 \pm 2,3	46,0 \pm 0,1	47,2 \pm 0,5

Fonte: autoria própria (2024)

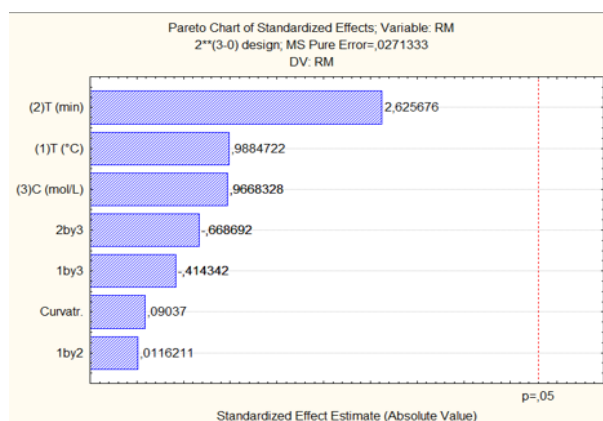
Tabela 3. Resultados em porcentagem de recuperação do planejamento experimental para extração assistida por ultrassom para a farinha A

Experimento	% de recuperação			
	Zn	Fe	Cu	Mn
1	83,4	70,6	85,8	81,9
2	92,3	85,8	103,1	89,8
3	105,4	96,1	102,3	93,4
4	94,7	105,0	96,9	92,3
5	100,0	96,6	95,6	88,4
6	88,0	86,6	92,9	90,2
7	95,1	97,2	97,1	88,2
8	95,3	113,7	108,8	95,4
9	87,2	92,7	91,8	86,2
10	90,8	101,9	97,6	90,7
11	96,2	108,3	101,7	91,8

Fonte: autoria própria (2024)

Para saber a melhor condição foi feito um estudo no programa Statística, no qual foi possível obter o gráfico de Pareto, como mostra a Figura 2. Como é possível observar, nenhuma variável foi significativa. No entanto, apesar de as variáveis não terem sido significativas, devido a melhor homogeneidade da suspensão final e com base nos resultados de porcentagem de recuperação optou-se por trabalhar com a condição 8, na qual a concentração de HNO_3 foi 2 mol L^{-1} , o tempo de sonicação 15 minutos e a temperatura do banho 60°C .

Figura 2. Gráfico de Pareto para o planejamento experimental da extração assistida por ultrassom



Fonte: autoria própria (2024)

A partir dos valores de intensidade de emissão de 10 brancos calculou-se os limites de detecção e de quantificação para o método da extração assistida por ultrassom. Os resultados estão na Tabela 4.

Tabela 4. Limites de detecção e limites de quantificação para os elementos ferro, manganês e zinco

Parâmetro/ elemento ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Fe	Mn	Zn
Limite de Detecção	$3,0 \times 10^{-5}$	$3,5 \times 10^{-6}$	$9,9 \times 10^{-6}$
Limite de Quantificação	$9,1 \times 10^{-5}$	$1,1 \times 10^{-5}$	$3,0 \times 10^{-5}$

Fonte: autoria própria (2024)

Assim, em novos experimentos foi possível quantificar ferro, manganês e zinco em farinhas de linhaça de 3 fornecedores diferentes. Os resultados estão descritos na Tabela 5 em porcentagem de recuperação.

Tabela 5. Resultados da determinação de ferro, manganês e zinco em amostras de farinha utilizando o planejamento proposto

% recuperação	Fe	CV (%)	Mn	CV (%)	Zn	CV (%)
Farinha A	80,5	5,8	119,4	3,2	104,2	4,4
Farinha B	96,8	6,2	89,5	3,7	96,3	3,6
Farinha C	94,5	6,6	88,3	0,5	95,5	5,6

Fonte: autoria própria (2024)

A validação do método foi feita somente para ferro, manganês e zinco, porque os resultados para cobre apresentaram altas porcentagens de recuperação, indicando que há alguma fonte de contaminação de cobre no procedimento, que deve ser estudada e corrigida posteriormente para que o método possa ser validado para este analito.

A linearidade foi avaliada com base nas curvas analíticas de calibração apresentadas nas Figuras 1 (b), (c) e (d), nas quais é possível observar que o R^2 é igual a 1, o que indica boa correlação entre a concentração e a intensidade do sinal da radiação emitida. Além disso, trabalhou-se com concentrações até 2 mg L^{-1} pois as concentrações dos analitos obtidas a partir da equação da reta para todos os elementos foram em torno de 1 mg L^{-1} .

A sensibilidade foi avaliada por meio do coeficiente angular das curvas analíticas de calibração. Optou-se por trabalhar com os comprimentos de onda que forneceram maior

coeficiente angular para maior sensibilidade, de modo que para pequenas variações de concentração houvesse uma grande variação na intensidade emitida. Como é possível observar nas Figuras 1 (b), (c) e (d), as curvas apresentaram boa inclinação, indicando que o método é sensível.

Os Limites de detecção (LD) e Limites de quantificação (LQ) foram calculados a partir da reta de calibração e para os analitos trabalhados foram valores baixos, o que é bom pois significa que as menores concentrações que podem ser detectadas e quantificadas pelo método são baixas.

A exatidão foi avaliada por meio dos ensaios de recuperação, que devem ser de 80 a 110% (AOAC International, 2016). Analisando a Tabela 5 é possível observar que para ferro e zinco nas três farinhas analisadas a exatidão ficou dentro da faixa permitida. No entanto, para manganês na farinha A a porcentagem foi maior, obteve-se o valor de 119,4% e coeficiente de variação de 3,2%, de modo que mesmo considerando o desvio a porcentagem ainda não se encaixa na faixa permitida. Entretanto nas farinhas B e C as porcentagens de recuperação foram dentro do permitido, podendo indicar alguma contaminação com manganês nos experimentos realizados com a farinha A.

A precisão foi avaliada por meio do desvio padrão relativo, que para os analitos estudados e para cada farinha foram menores que 7%, indicando boa precisão.

Conclusões

Com base nos experimentos realizados e expostos neste trabalho é possível afirmar que foi possível validar o método para a determinação dos analitos ferro, manganês e zinco em amostras de farinha de linhaça dourada com boa linearidade na faixa de trabalho escolhida, boa sensibilidade, boa precisão e baixos limites de detecção e de quantificação. Entretanto, para a aplicação do método na quantificação de cobre novos estudos devem ser realizados.

Ademais, o método de preparo de amostras proposto apresenta as vantagens do baixo custo, rapidez de execução, menor geração de resíduos, economia de energia, uma vez que é utilizada uma menor temperatura e por um curto tempo de aquecimento e menor concentração ácida, o que contribui para a química verde.

Agradecimentos

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Referências

AOAC International. Official Methods of Analysis of AOAC International, 20 ed. Rockville, 2016.

CARVALHO, P. Linhaça: conheça os benefícios e saiba como consumir. CNN Brasil, 2024. Disponível em: <https://www.cnnbrasil.com.br/saude/linhaça-conheça-os-benefícios-e-saiba-como-consumir/>. Acesso em: 01 julho. 2024

DE CARVALHO, W. C. et. al. Effect of losartan potassium, metformin hydrochloride, and simvastatin on in vitro bioaccessibility of Cu, Fe, Mn, and Zn in oat flour from Brazil. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, v. 73, 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0946672X22001122?via%3Dihub>. Acesso em: 4 mar. 2024.

GAMELA, R. R.; COSTA, V. C.; PEREIRA-FILHO, E. R. Multivariate Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction Procedure for the Determination of Ca, Fe, K, Mg, Mn, P, and Zn in Pepper Samples by ICP OES. *Food*



63º Congresso Brasileiro de Química
05 a 08 de novembro de 2024
Salvador - BA

Analytical Methods, v. 13, p. 69-77, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12161-019-01524-5>. Acesso em: 26 fev. 2024.

JHONSON, L. E. Considerações gerais sobre minerais. Manual MSD: Versão Saúde para a Família, 2023. Disponível em: <https://www.msmanuals.com/pt-br/casa/distúrbios-nutricionais/minerais/considerações-gerais-sobre-minerais>. Acesso em: 27 fev. 2024.

KRUG, Francisco José. Métodos de preparo de amostras para análise elementar, editado por Francisco José Krug; Fábio Rodrigo Piovezani Rocha. São Paulo: EditSBQ – Sociedade Brasileira de Química, 2016.