

DIGESTÃO ÁCIDA DE MATERIAIS BIOLÓGICOS ASSISTIDA POR RADIAÇÃO MICROONDAS: EMPREGO DE RMN ¹H PARA INVESTIGAÇÃO DOS PRODUTOS REACIONAIS

Mario H. Gonzalez^{1,2*}(PG), Lucimara Forato³(PQ), Joaquim A. Nobrega⁴(PQ), Ana R. A. Nogueira¹(PQ)

1. Grupo de Análise Instrumental Aplicada, Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos SP anarita@cnpq.br

2. Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos SP

3. Embrapa Instrumentação Agropecuária, São Carlos SP

4. Grupo de Análise Instrumental Aplicada, Departamento de Química, UFSCar, São Carlos SP

Palavras Chave: preparo de amostras, ácidos diluídos, RMN ¹H, produtos reacionais, radiação microondas

Introdução

O emprego de fornos de radiação microondas para a digestão de amostras por via úmida já é uma técnica estabelecida e uma alternativa eficiente no tocante à solubilização de elementos minerais para determinação por técnicas espectroscópicas. Apresenta uma série de vantagens, entre as quais a redução do tempo de preparo das amostras, a minimização do uso de reagentes e um maior controle das condições de digestão, facilitando o controle de temperatura e a medida da pressão resultante. Em função das características do forno com radiação microondas, o emprego de ácidos diluídos é alternativa bastante efetiva para a digestão de amostras, diminuição da quantidade de resíduos gerados, redução de custos, obtenção de brancos analíticos e desvios padrão menores¹. Além disso, propicia digeridos mais apropriados para introdução por nebulizadores pneumáticos em análises espectroscópicas. No entanto, a eficiência desse procedimento depende das características originais da amostra. Neste trabalho, soluções diluídas de HNO₃ foram empregadas para a digestão de amostras com altos teores de proteína e gordura. Foram avaliadas a eficiência de digestão, a recuperação de minerais e a identificação preliminar dos principais produtos de reação por RMN de ¹H para posterior separação e caracterização por técnicas cromatográficas.

Resultados e Discussão

Amostras de sangue, vísceras e músculo de bovinos e amostras de forrageira e soja em grãos foram submetidas à digestão assistida por radiação microondas, empregando-se 2,0 mL de HNO₃ 14, 7 e 2 mol L⁻¹ + 1,0 mL de H₂O₂ 30% v/v. Os digeridos foram analisados por ICP OES para caracterização multielementar e determinação do carbono residual. Para a separação dos compostos residuais foram realizadas extrações líquido-líquido com o emprego de clorofórmio e éter etílico. Os extratos foram rotaevaporados e reconstituídos em solventes deuterados para análise por RMN de ¹H. Os espectros foram obtidos em 256 transientes, com

pulso $\pi/2$ de 10 μ s, tempo de repetição de 2 s e tempo de aquisição de 1 s. Na Tabela 1 estão representados os deslocamentos químicos e a região típica de alguns compostos encontrados para as diferentes amostras estudadas¹.

Tabela 1. Deslocamento Químico e Regiões Típicas dos Principais Produtos Reacionais em Amostras Biológicas¹.

Deslocamento Químico (ppm)	Região Típica
δ 0,5-3,0	alifáticos
δ 4,0-4,7	hidrogênios carbinólicos
δ 7,0-10,5	aromáticos e nitrocompostos

Em concentrações de HNO₃ 14 e 7 mol L⁻¹ os espectros mostraram-se mais complexos, ou seja, com maior número de compostos formados após a digestão, sendo que soluções HNO₃ 2 mol L⁻¹ resultaram em redução na quantidade de sinais nos espectros de RMN de ¹H. Por outro lado, solução HNO₃ 7 mol L⁻¹ propiciou a obtenção de menores desvios padrão e melhor recuperação de analitos quando comparado com HNO₃ 14 mol L⁻¹.

Conclusões

Soluções mais concentradas geram uma maior variedade de compostos orgânicos, tais como nitrocompostos, compostos alifáticos e aromáticos quando comparadas às soluções menos concentradas, tendo como possível explicação o alto poder oxidante dessas misturas sob altas pressão e temperatura, gerando dessa forma uma quantidade maior de resíduos orgânicos. A eficiência da digestão em meio de ácido nítrico diluído provavelmente está relacionada com a oxidação do NO gerado a NO₂, reabsorção desse óxido em solução seguida de reação de desproporcionamento que regeneraria o ácido nítrico. Tal ciclo ocorreria enquanto houvesse oxigênio gasoso na atmosfera do frasco reacional.

Agradecimentos

À FAPESP pela bolsa concedida

Sociedade Brasileira de Química (SBQ)

¹Araújo, G.C.L., Gonzalez, M.H., Ferreira, A.G., Nogueira, A.R.A.,
Nóbrega, J.A., Spect. Acta B, 57(2002)2121-2132.