

# QUANTIFICAÇÃO DE NBA'S PROVENIENTES DA DIGESTÃO ÁCIDA DE MATERIAIS BIOLÓGICOS ASSISTIDA POR RADIAÇÃO MICRO-ONDAS

Mário H. Gonzalez<sup>1</sup> (PG)\*, Regina V. Oliveira<sup>2</sup> (PQ), Edenir R. Pereira Filho<sup>1</sup> (PQ), Joaquim A. Nóbrega<sup>1</sup> (PQ), Ana Rita A. Nogueira<sup>3</sup> (PQ)

1 – Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos- SP, 2 – Grupo de Síntese Orgânica e CLAE, Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos- SP. 3 – Grupo de Análise Instrumental Aplicada, Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos- SP \*mahenrique@dq.ufscar.br

Palavras Chave: Isômeros do ácido nitrobenzóico (NBA's), digestão ácida, HPLC.

## Introdução

O emprego de ácidos diluídos é uma alternativa viável para solubilização de materiais biológicos utilizando digestão assistida por radiação micro-ondas para a análise elementar por técnicas espectroanalíticas<sup>1</sup>. Como produtos de decomposição, vários compostos orgânicos foram descritos na literatura, sendo que os isômeros do ácido nitrobenzóico (NBA) são os mais citados quando amostras com elevados teores de proteína são digeridas<sup>2</sup>. Os mecanismos de digestão podem ser propostos através da predominância de um ou outro isômero. O ácido nitrobenzóico (NBA) é um nitroaromático e possui 3 isômeros de posição, sendo estes: *o*-, *m*-, *p*-NBA<sup>3</sup>. O objetivo deste trabalho foi investigar as variáveis significativas durante a etapa de extração desses 3 isômeros em amostras digeridas com diferentes concentrações ácidas e diferentes composições químicas, para posterior quantificação por métodos cromatográficos.

## Resultados e Discussão

Massas de 0,200 g de amostras de músculo, sangue e vísceras bovino, grãos de soja e *Paspalum* (gramínea) foram decompostas em forno de micro-ondas com cavidade usando 2,0 mL de solução de HNO<sub>3</sub> nas concentrações 2,0, 7,0 e 14,0 mol L<sup>-1</sup> e 1,0 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30% v/v). Estudos para a separação de isômeros de ácidos nitrobenzóicos foram realizados por HPLC-UV empregando cromatografia de fase reversa com fase estacionária C<sub>18</sub> e fase móvel H<sub>2</sub>O:acetonitrila:metanol (75:20:5 v/v/v) + 0,05 % v/v de TFA. Um planejamento fatorial fracionário 2<sup>4-1</sup> (8 experimentos) foi empregado para avaliação das extrações. No planejamento experimental foram estudadas concentrações de padrão interno (1 e 5 mg L<sup>-1</sup>) e do ácido (2 e 14 mol L<sup>-1</sup>), tempo de agitação (1 e 2 min) e forma de extração (única e contínua). Na execução dos experimentos foram utilizados soluções dos brancos analíticos de 2 e 14 mol L<sup>-1</sup>. Soluções dos três isômeros *o*-, *m*- e *p*-NBA na concentração de 5 mg L<sup>-1</sup> foram adicionadas nessas soluções. A partir do planejamento fatorial foi possível observar que as variáveis que se mostraram significativas com 95% de confiança foram as concentrações de padrão interno e da solução ácida.

Após esses testes foram efetuadas as extrações nos digeridos das amostras (Tabela 1).

**Tabela 1-** Concentrações dos isômeros em cada digestão.

		orto	meta	para
		mg/mL		
<b>Músculo</b>	14 mol L <sup>-1</sup>	183,0	347,0	113,0
	7 mol L <sup>-1</sup>	38,5	127,8	39,4
	2 mol L <sup>-1</sup>	3,4	32,6	5,0
<b>Sangue</b>	14 mol L <sup>-1</sup>	418,3	606,4	671,4
	7 mol L <sup>-1</sup>	26,0	143,1	27,7
	2 mol L <sup>-1</sup>	4,0	33,5	12,5
<b>Grãos de Soja</b>	14 mol L <sup>-1</sup>	211,6	409,6	120,8
	7 mol L <sup>-1</sup>	20,4	96,7	28,4
	2 mol L <sup>-1</sup>	7,1	40,1	6,3
<b>Paspalum</b>	14 mol L <sup>-1</sup>	36,4	79,4	28,6
	7 mol L <sup>-1</sup>	10,0	28,1	10,4
	2 mol L <sup>-1</sup>	2,0	10,0	3,6
<b>Vísceras</b>	14 mol L <sup>-1</sup>	21,0	51,2	13,6
	7 mol L <sup>-1</sup>	5,8	26,3	5,7
	2 mol L <sup>-1</sup>	0,0	0,0	0,0

## Conclusões

Verificou-se pela análise quantitativa das amostras feita por HPLC que houve uma predominância do isômero *m*-NBA. Essa preponderância de um isômero foi anteriormente verificada para amostras contendo fenilalanina<sup>2</sup>. Para vísceras, com 60% de gordura em sua estrutura, foi possível observar que soluções diluídas não apresentaram eficiência na decomposição, observado visivelmente pelos extratos digeridos com coloração amarelo escuro e sólidos não dissolvidos. Na maioria dos casos, solução 7 mol/L apresentou menores valores de carbono residual e boa recuperação de minerais<sup>1</sup>.

## Agradecimentos

Os autores agradecem aos órgãos de fomento FAPESP pelo financiamento e bolsa concedidas.

<sup>1</sup> Gonzalez, M. H. et al., *Talanta* 79 (2009), 396.

<sup>2</sup> Pratt, K.W. et. al, *Anal. Chem.* 60 (1988), 2024.

<sup>3</sup> Lide, D.R., ed., *Handbook of Chemistry and Physics*. 89<sup>th</sup> Ed., Boca Raton, CRC Press, 2008-2009.